

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第10期

Vol.39 No.10

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国典型城市环境大气挥发性有机物特征比值	王鸣, 陈文泰, 陆思华, 邵敏 (4393)
2015年北京大气 VOCs 时空分布及反应活性特征	张博韬, 安欣欣, 王琴, 闫贺, 刘保献, 张大伟 (4400)
北京市建筑类涂料 VOCs 排放清单编制技术方法及应用	邓子钰, 高美平, 王庆玮, 聂磊 (4408)
基于实测的建筑类涂料挥发性有机物 (VOCs) 含量水平及组分特征	高美平, 邓子钰, 聂磊, 邵霞, 安小栓 (4414)
2014~2016年京津冀沿山城市空气质量首要污染物特征分析	王晓彦, 王帅, 朱莉莉, 许荣, 李健军 (4422)
北京市大气环境 PM _{2.5} 和 PM ₁ 及其碳质组分季节变化特征及来源分析	樊啸辰, 郎建奎, 程水源, 王晓琦, 吕喆 (4430)
南京春季北郊地区大气 PM _{2.5} 中主要化学组分及碳同位素特征	周一鸣, 韩珣, 王瑾瑾, 陈善莉, 沈潇雨, 章炎麟, 朱彬, 郭照冰 (4439)
热脱附法快速分析大气细颗粒物中非极性有机物	马英歌, 吴霞, 彭梦梦, 冯加良, 郁建珍, 乔利平, 周敏, 朱书慧, 李莉 (4446)
杭州市空气细颗粒物浓度与哮喘就诊人次的关系	王安旭, 陈曦, 宋从波, 应颂敏, 李倩, 吴琳, 毛洪钧 (4457)
基于远程通讯技术的混动公交车 SCR 系统运行及 NO _x 排放特征	杨强, 胡馨遥, 黄成, 陈昀, 刘佳栋, 李莉, 熊忠亮, 唐伟 (4463)
基于环境风险排序的流域优先污染物筛选	李奇峰, 吕永龙, 王佩, 张悦清 (4472)
重庆远郊丰都雪玉洞流域大气无机氮湿沉降变化特征与来源分析	段世辉, 蒋勇军, 张远瞩, 胡刘婵, 曾泽, 吕现福 (4479)
黑龙江凉水国家级自然保护区大气氮沉降特征	宋蕾, 田鹏, 张金波, 金光泽 (4490)
脱甲河水系 N ₂ O 关键产生过程及氮素来源探讨	赵强, 吕成文, 秦晓波, 吴红宝, 万运帆, 廖育林, 鲁艳红, 李健陵 (4497)
生物炭添加对曝气人工湿地脱氮及氧化亚氮释放的影响	王宁, 黄磊, 罗星, 梁岩, 王燕, 陈玉成 (4505)
黑麦草对水体中镉-壬基酚复合污染的生理响应及修复	史广宇, 李中义, 张路, 程媛媛, 陈宏伟, 施维林 (4512)
城市黑臭水体的吸收特性分析	丁潇蕾, 李云梅, 吕恒, 朱利, 温爽, 雷少华 (4519)
岷江上游水体中 DOM 光谱特征的季节变化	范诗雨, 秦纪洪, 刘堰杨, 孙辉 (4530)
防渗型生物滞留中试系统降雨径流水质与三维荧光特征	林修咏, 王书敏, 李强, 谢云成 (4539)
基于δ ¹⁵ N和δ ¹⁸ O的农业区地下河硝酸盐污染来源	盛婷, 杨平恒, 谢国文, 洪爱花, 曹聪, 谢世友, 时伟宇 (4547)
垃圾填埋场地下水溶解性有机物光谱特征	彭莉, 虞敏达, 何小松, 刘思佳, 张鹏 (4556)
铅负载颗粒沸石改良底泥对水中磷酸盐的吸附行为	梁舒静, 林建伟, 詹艳慧, 汪振华, 李雅灵, 何思琪, 陈海洋, 唐凤霞, 李志强 (4565)
基于紫外光谱分析的腐殖质混凝控制	张北辰, 张晓蕾, 秦兰兰, 黄海鸥 (4576)
AAO 工艺联合臭氧削减污水中微量有机污染物及遗传毒性	李默, 汪震哲, 陈志强, 温沁雪 (4584)
抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除	李奥林, 陈吕军, 张衍, 代天娇, 田金平, 刘锐, 温东辉 (4593)
磁性壳聚糖凝胶球固定厌氧铁氨氧化菌对废水氨氮去除的影响	刘志文, 陈琛, 彭晓春, 谢武明, 黄镇扬, 韩庆吉 (4601)
海藻糖强化厌氧氨氧化耦合反硝化工艺处理高盐废水的脱氮除碳效能	杨振琳, 于德爽, 李津, 王晓霞, 冯莉 (4612)
低温下 A ² /O-BAF 反硝化除磷脱氮特性	黄剑明, 赵智超, 郑隆举, 邵兆伟, 安芳娇, 陈永志 (4621)
O ₃ -BAC 深度处理石化废水厂尾水的特性及菌群结构分析	张超, 单明皓, 许丹宁, 古明哲, 代蓓蓓, 纪轩, 孙井梅 (4628)
基于 MBR 不同种泥短程硝化启动的微生物群落结构分析	吴鹏, 陈亚, 张婷, 沈耀良, 徐乐中 (4636)
3 种不同工艺切换下活性污泥菌群结构及代谢产物对污泥沉降性能的影响	温丹丹, 袁林江, 陈希, 王洋, 申童童, 刘小博 (4644)
硫酸盐还原菌活性污泥胞外聚合物对环丙沙星的吸附机制	张会群, 贾妍艳, 方荷婷, 阴琳婉, 吕慧 (4653)
包埋活性污泥反硝化性能的快速提高及群落分析	杨宏, 徐富, 孟琛, 苏姗, 袁星 (4661)
中国粮食主产区耕地土壤重金属时空变化与污染源分析	尚二萍, 许尔琪, 张红旗, 黄彩红 (4670)
典型区土壤重金属空间插值方法与污染评价	马宏宏, 余涛, 杨忠芳, 侯青叶, 曾庆良, 王锐 (4684)
秸秆与化肥减量配施对菜地土壤温室气体排放的影响	黄容, 高明, 黎嘉成, 徐国鑫, 吕盛, 罗梅 (4694)
不同肥料施用对设施蔬菜地 NH ₃ 挥发和 N ₂ O 排放的影响	山楠, 韩圣慧, 刘继培, 陈清, 袁玉玲, 王立刚, 李虎 (4705)
施肥类型和水热变化对农田土壤氮素矿化及可溶性有机氮动态变化的影响	田飞飞, 纪鸿飞, 王乐云, 郑西来, 辛佳, 能惠 (4717)
长期不同施肥量对全程氨氧化细菌丰度的影响	王梅, 王智慧, 石孝均, 蒋先军 (4727)
典型绿洲不同土壤类型有机碳含量及其稳定碳同位素分布特征	陈新, 贡璐, 李杨梅, 安申群, 赵晶晶 (4735)
凹凸棒石及其改性材料对土壤镉生物有效性的影响与机制	陈展祥, 陈传胜, 陈卫平, 焦文涛 (4744)
天然有机物活化过硫酸盐降解土壤有机污染物效果	刘琼枝, 廖晓勇, 李尤, 龚雪刚, 曹红英, 罗俊鹏 (4752)
水分管理和外源硒对水稻吸收累积铅的影响	万亚男, 刘哲, Aboubacar Younoussa Camara, 余垚, 王琪, 李花粉 (4759)
窖水中微生物降解污染物的关键细菌	杨浩, 杨晓妮, 张国珍, 王宝山, 张翔, 李健 (4766)
砷氧化菌对胡敏酸络合 As(Ⅲ) 的氧化作用	李泽姣, 崔岩山, 尹乃毅, 蔡晓琳, 都慧丽, 王鹏飞 (4778)
海域高温油田 1 株耐高温耐盐硫酸盐还原菌的筛选与生理特性及活性抑制	杨春璐, 苑美玉, 史荣久, 闫鹏举, 赵峰, 韩斯琴, 张颖 (4783)
1 株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 <i>Zobellella</i> sp. B307 的分离及脱氮特性	白洁, 陈琳, 黄潇, 胡春辉, 赵阳国, 李岍然 (4793)
1 株镰刀菌属 KY123915 的分离及其对 17β-雌二醇的降解特性	吴蔓莉, 祝长成, 祁燕云, 时艺馨, 徐会宁, 杨瑾如 (4802)
氟喹诺酮对垂直流人工湿地性能及微生物群落的影响	李新慧, 郑权, 李静, 王晓慧, 海热提 (4809)
林可霉素菌渣堆肥微生物群落多样性分析	任省涛, 郭夏丽, 芦阿度, 张倩倩, 郭笑盈, 王岩, 王连忠, 张宝宝 (4817)
DEP 对蚯蚓抗氧化酶系的影响及 DNA 损伤	平令文, 李现旭, 张翠, 宋佩佩, 王金花, 朱鲁生, 王军 (4825)
生活垃圾焚烧灰灰矿物学特性及重金属分布	李建陶, 曾鸣 (4834)
《环境科学》征订启事 (4429) 《环境科学》征稿简则 (4471) 信息 (4529, 4777, 4816)	

1 株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 *Zobellella* sp. B307 的分离及脱氮特性

白洁^{1,2}, 陈琳¹, 黄潇³, 胡春辉⁴, 赵阳国^{1,2}, 李岩然^{5*}

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100; 3. 哈尔滨工业大学深圳研究生院土木与环境工程学院, 深圳 518055; 4. 青岛农业大学生命科学学院, 青岛 266109; 5. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003)

摘要: 从胶州湾沉积物中分离出 1 株异养硝化-好氧反硝化菌株 B307, 采用 16S rRNA 基因序列分析对该菌株进行鉴定, 采用单因素实验对其进行条件优化和耐盐特性研究, 并在最优条件下考察其在单一和混合氮源中的脱氮效果. 结果表明, 该菌为 *Zobellella* sp., 其最佳碳源为丁二酸钠, 最适 C/N 为 5, 最适初始 pH 为 9, 最适温度为 35~40℃. 该菌株在混合氮源体系中 12 h 对 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 的去除率分别为 98.35% 和 99.75%; 在盐度为 75 g·L⁻¹ (以 NaCl 计) 条件下 24 h 对 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 去除率仍分别保持在 97.67% 和 94.39%. 表明该菌株具有高效的异养硝化-好氧反硝化能力和较强的耐盐特性, 在高盐废水脱氮等领域具有广泛的应用前景.

关键词: 耐盐; 异养硝化; 好氧反硝化; 脱氮; *Zobellella* sp.

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)10-4793-09 DOI: 10.13227/j.hjks.201802022

Isolation and Nitrogen Removal Characteristics of Salt-tolerant Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacteria *Zobellella* sp. B307

BAI Jie^{1,2}, CHEN Lin¹, HUANG Xiao³, HU Chun-hui⁴, ZHAO Yang-guo^{1,2}, LI Kui-ran^{5*}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3. School of Civil and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China; 4. College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 5. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A heterotrophic nitrification and aerobic denitrification strain, B307, was isolated from the sediment of Jiaozhou Bay. The strain was identified by 16S rRNA sequence analysis, and its optimization condition and salt-tolerance characteristics were studied by single factor experiment. The denitrification effect in single or mixed nitrogen sources was investigated under optimum conditions. The results allowed the strain to be identified as *Zobellella* sp., based on 16S rRNA sequence analysis. The best carbon source was sodium succinate, and the optimum C/N was 5, the optimal initial pH was 9, and the optimal temperature was 35~40℃ respectively. After 12 hours, the NH_4^+ -N and the NO_3^- -N removal efficiencies were 98.35% and 99.75% in a mixed nitrogen source system. The removal efficiencies for NH_4^+ -N and NO_3^- -N were 97.67% and 94.39% within 24 hours when salinity was 75 g·L⁻¹. The strain has highly efficient heterotrophic nitrification-aerobic denitrification ability and strong salt tolerance, which demonstrated that the strain has potential for extensive application for nitrogen removal in high salt wastewater.

Key words: salt-tolerance; heterotrophic nitrification; aerobic denitrification; nitrogen removal; *Zobellella* sp.

异养硝化-好氧反硝化 (heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, HN-AD) 菌可以同时进行硝化和反硝化作用, 避免了传统工艺中好氧硝化和缺氧反硝化分离、投入大等缺点, 在城市污水处理应用中具有生长快速、耐有机负荷、脱氮效率高等特点^[1]. 然而, 海水养殖业及海产品加工、石油生产等行业废水不同于传统的城市污水, 其产生的含氮废水的盐度偏高^[2~4], 导致 HN-AD 菌的生长代谢受到抑制, 脱氢酶活性降低, 甚至会导致细菌细胞质壁分离和破裂死亡^[5,6], 显著影响脱氮

效率. 近年来, 国内外开展了大量针对特殊环境脱氮菌株的筛选研究, 为耐盐 HN-AD 菌的筛选奠定了重要基础. 已有研究筛选出耐盐耐冷氨氧化细菌, 能够在高盐低温条件发挥较好的脱氮效能^[7], 也陆续筛选出一些具有耐高氨氮和耐低温特性的

收稿日期: 2018-02-02; 修订日期: 2018-04-01

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2013ZX07202-007)

作者简介: 白洁 (1962~), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋微生物生态及滨海湿地水体污染控制与生态修复, E-mail: baijie@ouc.edu.cn

* 通信作者, E-mail: likr@ouc.edu.cn

HN-AD 菌株^[8,9]。然而,目前所筛选出的 HN-AD 菌少具耐盐特性,导致其在高盐废水中的应用中难以发挥优势,因此筛选能够耐高盐的 HN-AD 菌具有十分重要的意义。

本研究从胶州湾沉积物中分离出 1 株 HN-AD 菌株 B307,对其 16S rRNA 序列进行了分析,探讨了其耐盐特性和不同碳源类型、C/N、初始 pH 以及温度对其生长和脱氮能力的影响,并分析了该菌株在单一和混合氮源条件下的脱氮效果,以期丰富生物脱氮理论和强化高盐废水生物脱氮效率提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 菌株来源和培养基

本研究所用样品来自胶州湾海底沉积物,采用 LB 培养基和 HN-AD 分离培养基对菌株进行富集和分离筛选。

LB 培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 5; 酵母膏 5; 胰蛋白胨 10。

HN-AD 分离培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 5, KH_2PO_4 1.5, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, Na_2HPO_4 7.9, 柠檬酸钠 5.96, NaNO_3 0.426 8, NH_4Cl 0.268 6; 微量元素溶液 2 mL; 去离子水 1 000 mL。

微量元素溶液($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): $\text{ZnSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.2; CaCl_2 5.5; Na_2EDTA 63.70; $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 5.06; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0; $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.57; $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.1; $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.61。

1.2 菌体形态及菌落特征观察

将分离纯化后的菌株接种至固体培养基上,培养 36 h 后观察菌株的菌落特征。挑取单菌落,通过扫描电子显微镜(JSM-7500F 型)观察菌体形态。

1.3 16S rRNA 序列测定及系统发育分析

采用细菌 16S rRNA 通用引物进行 PCR 扩增,上游引物(27F): 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 下游引物(1492R): 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'。PCR 反应体系: 基因组 DNA 0.5 μL , $2\times\text{Pfu Mix}$ 12.5 μL , 上游引物和下游引物各 1 μL , 去离子水补足至 25 μL 。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 5 min, 4℃ 保温。将 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测条带单一、大小正确后,送至上海生工生物工程股份有限公司测序,测序结果递交至 NCBI 数据库进行比对,并将序列提交到 GenBank 数据库,选取

同源性较高的序列,利用 MEGA 5.0 软件,以 Neighbor-joining 法构建系统发育树。

1.4 菌株生长和脱氮能力影响因素研究

以分离培养基为基础,控制单一变量,分别在不同碳源(乙酸钠、丁二酸钠、柠檬酸三钠)、C/N(1、5、8、12、15)、初始 pH(6、7、8、9、10)和温度(25、30、35、40、45℃)条件下培养,将对数增长期的菌液以 5% 接种量接入 150 mL 液体培养基中,初始 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 添加量均为 70 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每隔 2 h 取样,测定培养液中菌体的 D_{600} 及 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 、 NO_2^--N 的质量浓度,选出脱氮性能最佳的碳源、C/N、初始 pH 和温度。

1.5 最适条件下的脱氮能力研究

将处于对数增长期的菌液按 5% 的接种量接入以分离培养基为基础,碳源为丁二酸钠, C/N 为 5, 初始 pH 值为 9, 盐度为 35, 氮源分别为 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 、投加比为 1:1 的混合氮源的脱氮性能培养基中,在 35℃ 下培养,定时取样,测定培养液中 D_{600} 、 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 NO_2^--N 。

1.6 耐盐特性研究

在盐度(以 NaCl 计)为 5、15、25、35、45、55、65、75、85、95 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 初始 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 添加量均为 70 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 其他条件与脱氮能力研究组一致的培养基中,分别按 5% 的接种量接入对数增长期的菌液,在 35℃ 培养 24 h 时后,测定菌体的 D_{600} 及 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 、 NO_2^--N 的质量浓度。

1.7 样品测定

菌体生长量(D_{600})采用分光光度法; NH_4^+-N 采用纳氏试剂分光光度法; NO_3^--N 采用紫外分光光度法; NO_2^--N 采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法。

2 结果与分析

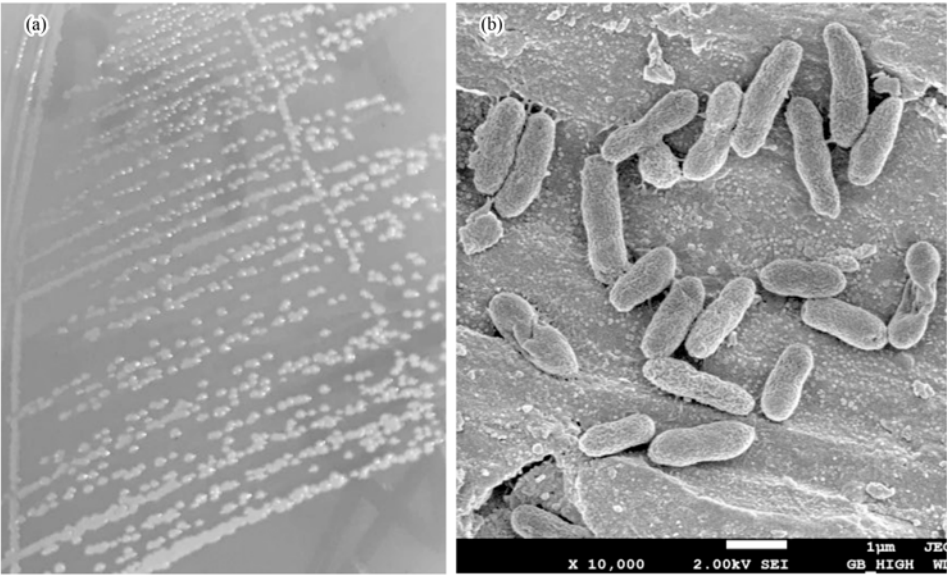
2.1 菌株形态特征

菌株 B307 在固体培养基上培养 36 h 后的菌落如图 1(a)所示,菌落大小约为 0.6~1.0 mm,乳白色,呈圆形或椭圆形,表面光滑,边缘整齐,显黏稠状。扫描电镜下的菌体形态如图 1(b),为无芽孢、无鞭毛杆菌,菌体大小(0.4~0.6 μm) $\times$ (1.2~2.1 μm)。

2.2 16S rRNA 序列及系统发育分析

对菌株 B307 测序获得长度为 1460 bp 的部分 16S rRNA 基因序列,在 GenBank 中的登录号: MF407315。将所得的基因序列提交至 GenBank 中

通过 Blast 检索, 应用 MEGA5.0 软件, 以 Neighbor-joining 法绘制的系统发育树如图 2 所示, 与菌株 *Zobellella denitrificans* ZD1^T (DQ195675) 的相似性达 99% 以上.



(a) 菌株 B307 在固体培养基的菌落形态; (b) 菌株 B307 的扫描电镜

图 1 菌株 B307 的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of B307 strain

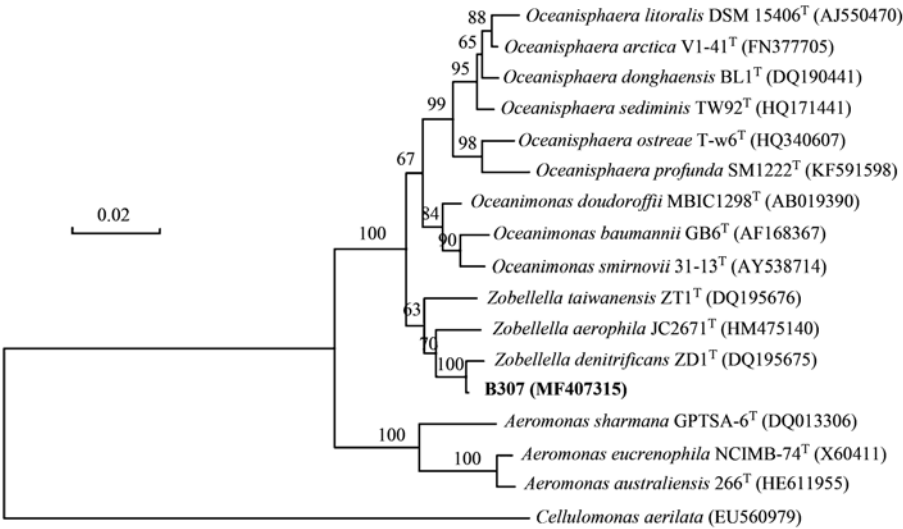


图 2 基于 16S rRNA 基因序列同源性构建的菌株 B307 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain B307 based on the complete sequences of 16Sr RNA gene

2.3 菌株耐盐特性

含盐废水的盐度范围较广, 确定菌株可适应的盐度范围对其应用至关重要. 菌株 B307 在不同盐度下 24 h 的生长及脱氮情况如图 3 所示. 当盐度 (以 NaCl 计) 低于 75 g·L⁻¹ 时, 菌株 B307 生长良好且 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 去除率都在 97% 以上; 盐度为 75 g·L⁻¹ 时, 其 D₆₀₀ 值仍为 1.325, NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 去除率仍分别高达 97.68% 和 94.39%, 只有少量 NO₂⁻-N 积累, 表明该菌株在盐度高达 75 时仍生长良好并保

持高效脱氮; 当盐度高于 75 g·L⁻¹ 时, 高盐度培养基的渗透压升高导致细菌活性降低, 该菌的生长量和脱氮率开始呈现下降趋势, 菌株生长量和 NO₃⁻-N 去除率在盐度为 85 g·L⁻¹ 时只有微量的降低, 但 NH₄⁺-N 去除率降低为 56.22%; 盐度升至 95 g·L⁻¹, 生长量和 NO₃⁻-N 去除率下降为 0.594 和 56.1%, 对于 NH₄⁺-N 的去除率基本为 0. 可见在盐度范围为 5 ~ 75 g·L⁻¹ 时, 菌株 B307 生长良好且脱氮效率较高, 表明该菌株具有较广的盐度适应范围.

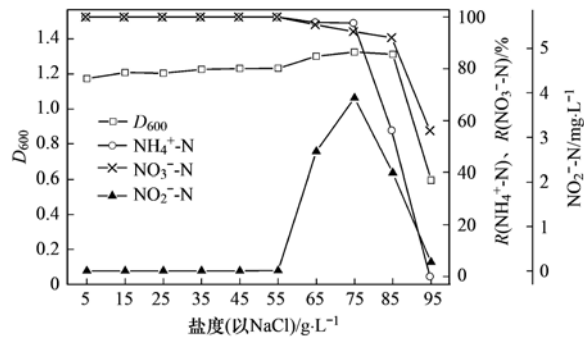


图3 菌株 B307 在不同盐度下的生长量及脱氮效果
Fig. 3 Growth and denitrification ability of strain B307 under different salinities

2.4 菌株生长和脱氮能力的影响因素研究及条件优化

2.4.1 碳源类型

菌株 B307 在不同碳源条件下的生长情况和脱氮能力如图 4 所示. 培养 10h, 该菌株分别以柠檬酸三钠、丁二酸钠、乙酸钠为碳源时, 其 D_{600} 值为 1.202、1.121 和 0.462, 表明其以柠檬酸三钠为碳源时生长效果最好; 其 NH_4^+-N 去除率在以丁二酸钠和柠檬酸三钠为碳源时都较高, 分别为 89.24% 和 86.74%; 其 NO_3^--N 去除率则在丁二酸钠为碳源时达最高, 为 91.39%; NO_2^--N 在反应过程中积累量均低于 $0.075 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 有机碳源可以为菌株的 HN-AD 过程提供能量和电子, 但不同碳源结构及分子

量的差异, 对不同菌株的生长和脱氮效果的影响也不同^[10]. Duan 等^[6]的研究发现 SF16 的最佳碳源为乙酸钠, 王田野等^[11]的研究发现 SQ2 的最佳碳源为丁二酸钠. 本研究中, 菌株 B307 在几种碳源中均能生长和脱氮, 但以柠檬酸三钠为碳源时生长最好, 以丁二酸钠为碳源时脱氮效果最好.

2.4.2 C/N

如图 5 所示, 菌株 B307 在 C/N 为 5 ~ 12 范围内均可快速生长且高效脱氮, 培养 10 h 后的 D_{600} 可达 1.2 以上, NH_4^+-N 和 NO_3^--N 去除率均高于 90%, NO_2^--N 积累量在 $0.01 \sim 0.16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间. 当 C/N 大于 12 或小于 5, 菌株生长量及脱氮率均会出现一定程度的下降. C/N 为 5 时, 该菌的生长量和 NO_3^--N 去除率达到最高, 分别为 1.319 和 97.13%, NH_4^+-N 去除率为 98.98%, 接近最高效率, 基本没有 NO_2^--N 积累, 因此, 从脱氮能力考虑, 该菌培养的最佳 C/N 应为 5. 研究发现, 在一定的碳氮比范围内, 碳源浓度越高, 菌株的脱氮效率越高; 超过一定的范围, 碳源浓度继续增加对菌株的生长和脱氮率没有明显增加^[11,12]. 菌株 B307 在低碳氮比下具有高效脱氮效率, 应用过程中可节约碳源, 降低处理成本.

2.4.3 初始 pH

如图 6 所示, 在初始 pH 6 ~ 10 范围内, 菌株均

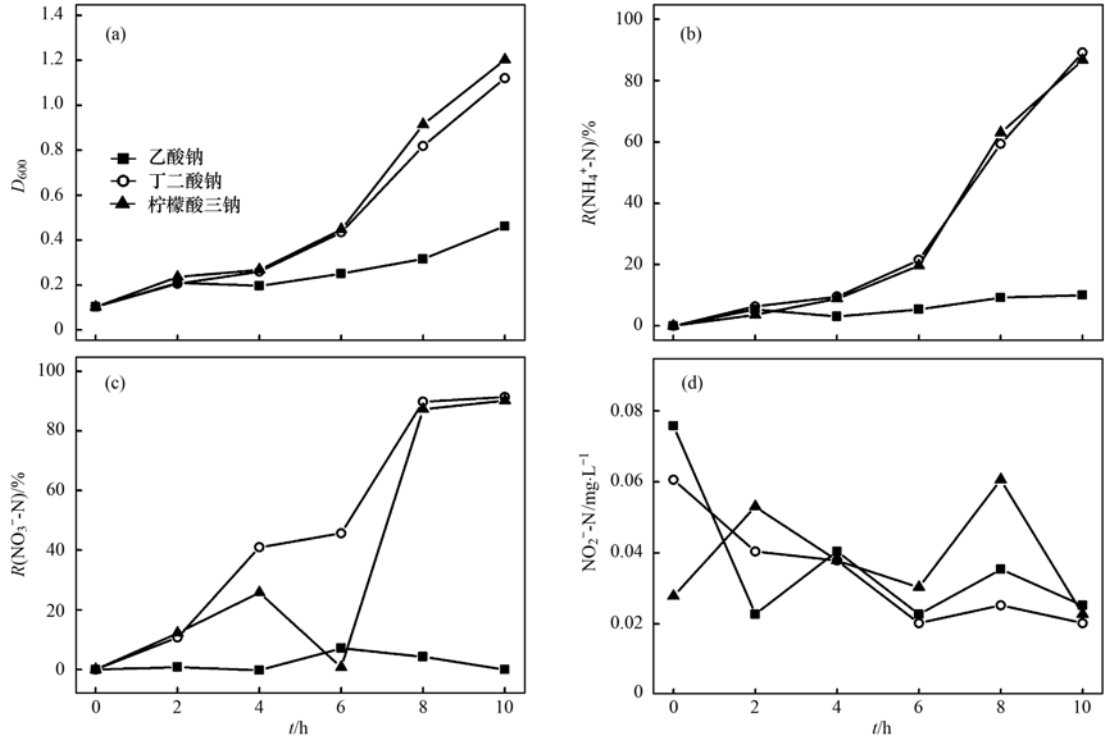
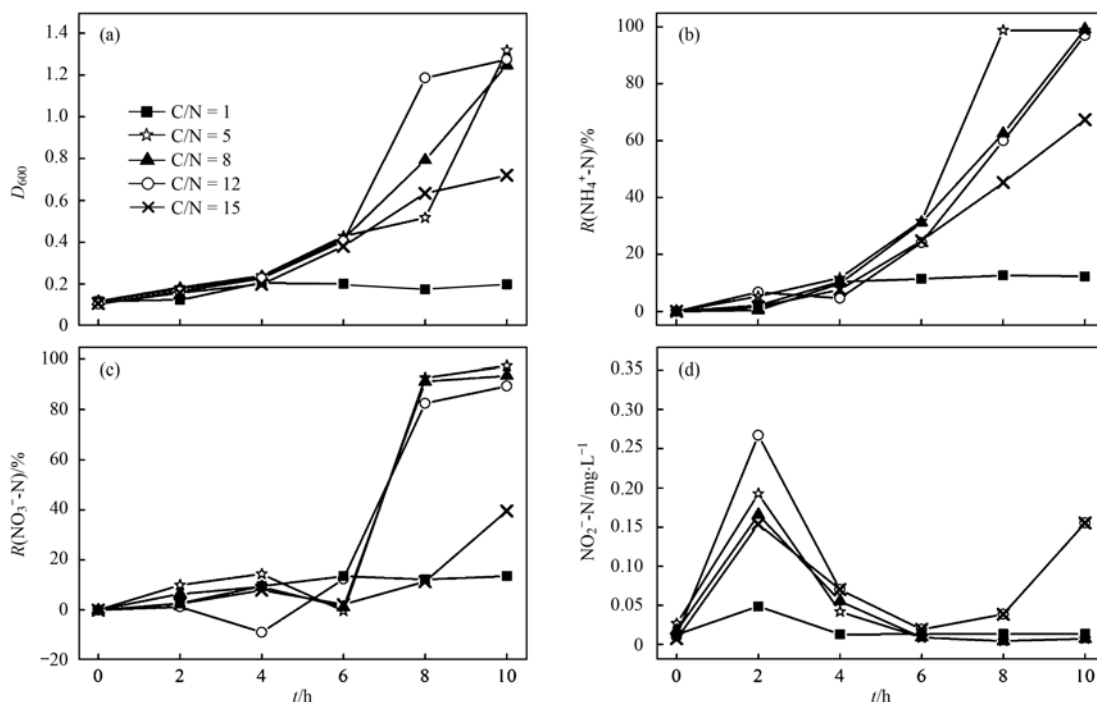


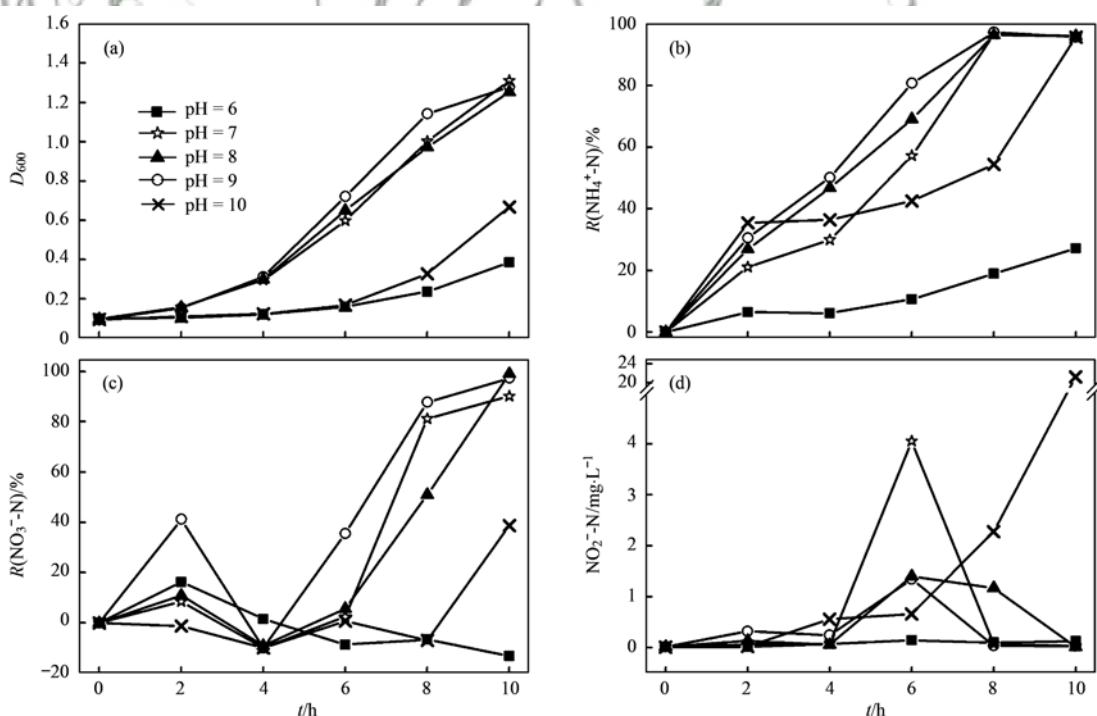
图4 碳源对菌株 B307 生长、 NH_4^+-N 去除率、 NO_3^--N 去除率、 NO_2^--N 积累量的影响

Fig. 4 Influence of carbon resource on the growth and NH_4^+-N removal rate, NO_3^--N removal rate, NO_2^--N cumulants of strain B307

图5 C/N 对菌株 B307 生长、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累量的影响Fig. 5 Influence of C/N ratio on the growth and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ cumulan of strain B307

能生长且具有一定的脱氮能力. 初始 pH 值为 7~9 时, 生长速率和脱氮速率快, 脱氮效率高, 在 10 h 的 D_{600} 值均在 1.2 以上, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率达到 90%, 无 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累. 当 $\text{pH} < 7$ 时, 该菌生长速率变缓, 脱氮效果明显下降. 初始 pH 为 10, 菌

株 B307 在 10 h 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率虽仍为 95.72%, 但在 2~8 h 内的异养硝化和好氧反硝化速率均明显降低, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率降为 38.75%, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 在 10 h 的质量浓度积累达到 $21.27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 菌株 B307 的最适初始 pH 为 9, 在此初始 pH 条件下该菌的生

图6 初始 pH 对菌株 B307 生长、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累量的影响Fig. 6 Influence of initial pH on the growth and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ cumulan of strain B307

长和脱氮速率最快, 在 8 h 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率以及 10 h 的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率分别可达 97.25% 和 97.43%。该菌株在中性或弱碱性环境中同样具有高效脱氮效率, 与菌株 L7^[13] 在初始 pH = 7 脱氮效率较高和 SF16^[6] 的最佳 pH 范围为 7.5 ~ 9.5 研究结果类似。pH 值能够通过影响酶的活性和微生物细胞膜电位的变化来进一步影响微生物摄取营养物质的能力, 过低或过高都会影响菌株的生长效果和脱氮性能^[12]。

2.4.4 培养温度

温度过高或过低均会影响菌体的生长和酶的活

性^[14], 进而影响菌株的脱氮功能。如图 7 所示, 随着温度由 25℃ 升高到 45℃ 时, 菌株生长量和脱氮能力呈现先增加后降低的趋势。脱氮效率在培养温度为 35℃ 和 40℃ 达到最高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别为 98.35% 和 98.76%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率分别为 88.68% 和 90.66%; 当培养温度升至 45℃, 该菌基本失去脱氮能力; 温度为 25℃ 时, 菌株的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率分别降至 55.29% 和 4.09%。菌株 B307 最适培养温度为 35 ~ 40℃, 在 25 ~ 40℃ 范围内都能生长和具有较高的脱氮能力, 宽的温度适应范围有利于其在实际应用中脱氮潜力的发挥。

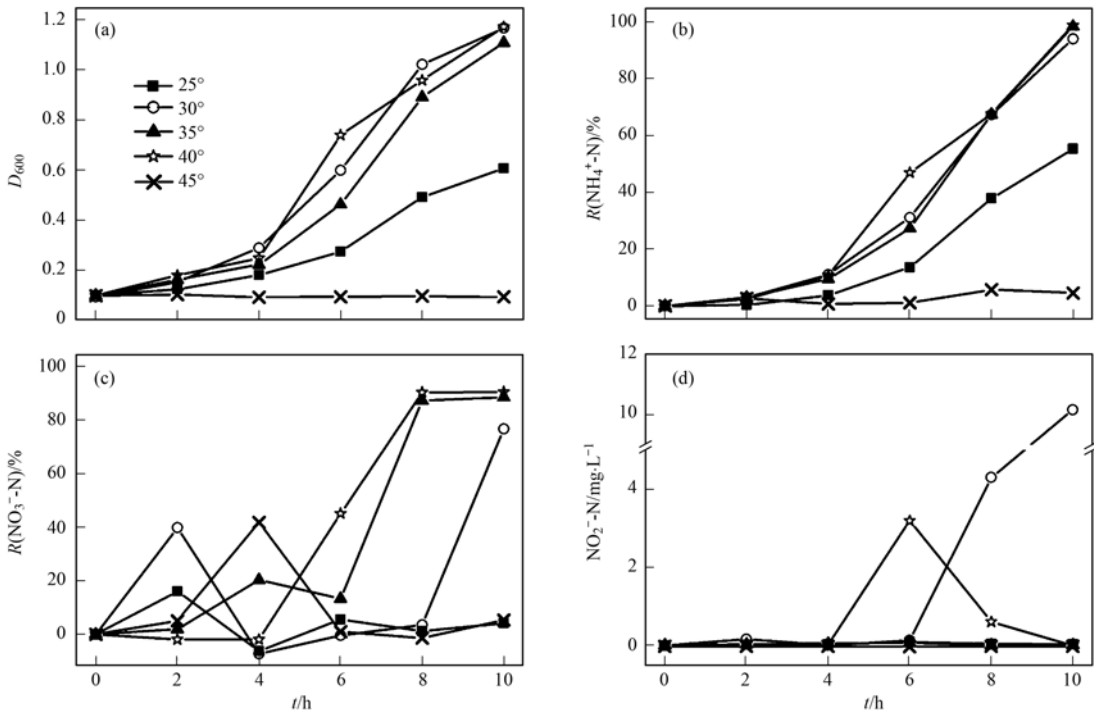


图 7 温度对菌株 B307 生长、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累量的影响

Fig. 7 Influence of temperature on the growth and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal rate, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ cumulants of strain B307

2.5 菌株 B307 的异养硝化-好氧反硝化能力

2.5.1 异养硝化能力

以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为唯一氮源的异养硝化反应过程如图 8 所示, 菌株 B307 在培养 2 h 后开始增长, 14 h 到达稳定期。在此异养硝化过程中, 菌株 B307 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除主要发生在对数生长期, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在 2 h 时只有少量被去除, 2 h 后 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 迅速被去除; 经过 12 h 反应 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的质量浓度降为 $42.67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 达到最大去除率 67.23%, 平均去除速率 $7.23 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 没有 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累。

2.5.2 好氧反硝化能力

以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源的好氧反硝化过程如图 9 所示, 菌株 B307 在培养 2 h 后进入对数增长期, 12

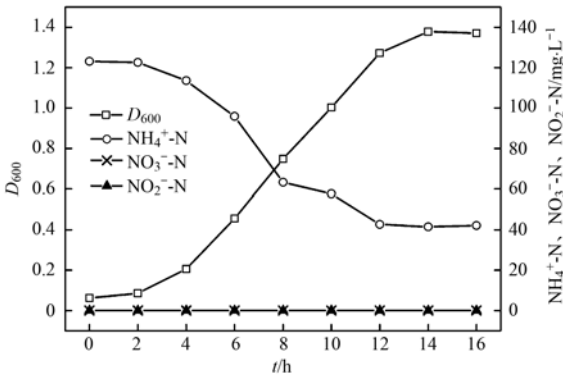


图 8 菌株 B307 的生长和异养硝化曲线

Fig. 8 Curves of growth and heterotrophic nitrification of strain B307

h 达到稳定期。好氧反硝化过程中, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除主要在对数增长期进行, 在 4 ~ 10 h 间的平均去除

速率可达 $23.96 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$; 在 8 h 由 $163.69 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降为 $75.79 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 因 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 快速去除, 有 $10.29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 积累, 但在随后的反硝化过程中被去除; 到 10 h $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 质量浓度为 $0.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 去除率达到 99.82%, 平均去除速率为 $16.33 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$.

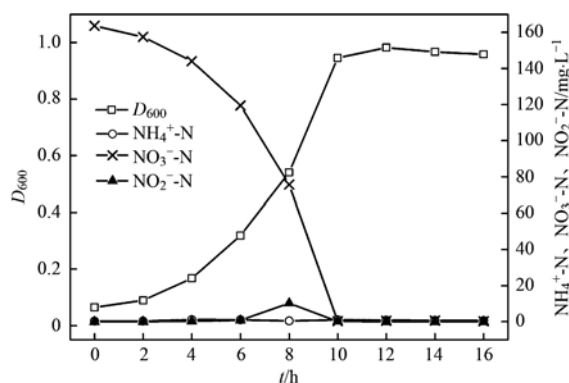


图 9 菌株 B307 的生长和好氧反硝化曲线

Fig. 9 Curves of growth and aerobic denitrification of strain B307

2.5.3 异养硝化-好氧反硝化能力

混合氮源的同步异养硝化-好氧反硝化脱氮过程如图 10 所示, 菌株 B307 同样在培养 2 h 进入对数增长期, 至 12 h 生物量达到最大值并进入稳定期. $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的质量浓度在培养 10 h 后, 由 $77.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降为 $1.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均去除速率为 $7.61 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 去除率为 98.35%. $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的还原主要发生在培养 4 ~ 6 h, 6 h 时由 $76.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降为 $2.29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均去除速率为 $12.45 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 去除率为 99.75%, 期间基本没有 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 积累.

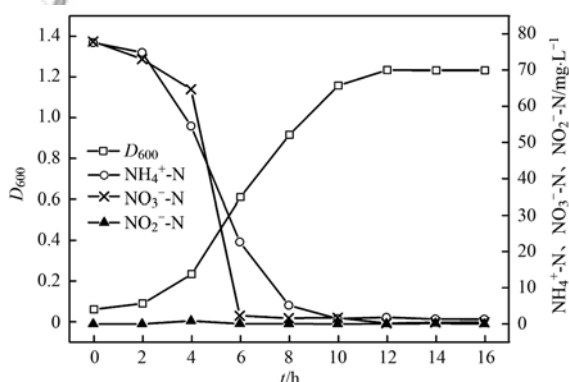


图 10 菌株 B307 的生长和异养硝化-好氧反硝化曲线

Fig. 10 Curves of growth and heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of strain B307

3 讨论

目前海洋中或具耐盐特性的 HN-AD 菌株有: 盐单胞菌属 (*Halomonas* sp.)、弧菌属 (*Vibrio* sp.)、

克雷伯氏菌属 (*Klebsiella* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、气单胞菌属 (*Aeromonas* sp.)^[2, 6, 10, 15 ~ 17] 等, 有关 *Zobellella* sp. 的 HN-AD 功能报道较少. *Zobellella* sp. 由 Lin 和 Shieh 在 2006 年提出, 目前只有 *Zobellella taiwanensis*、*Zobellella aerophila*、*Zobellella denitrificans* 这 3 个种^[18 ~ 20]. Lei 等^[18] 在 2016 年对于 *Zobellella taiwanensis* DN-7 的研究是有关 *Zobellella* sp. 的 HN-AD 功能的首篇报道. 一般耐盐 HN-AD 菌株的最适盐度 (以 NaCl 计, 下同) 低于 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[6, 17], 菌株 SF16^[6] 在盐度为 $70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 去除率降为 74.68%. 而本研究分离的菌株 *Zobellella* sp. B307 在盐度为 $75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 去除率分别可达 97.68% 和 94.39%, 且盐度在 $5 \sim 75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内经过 24 h 培养均可生长良好并保持相对稳定的高效脱氮效率, 表明该菌株不仅具有 HN-AD 功能, 同时具有耐高盐特性和较广的盐度适应范围, 该特性扩大了其应用范围, 使该菌株不论在低盐生活污水还是高盐工业废水及海水养殖废水的生物脱氮处理过程中都可能发挥其高效脱氮作用.

目前普遍认同 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的异养硝化途径主要分为 2 种, 第 1 种是 NH_3 经 AMO 氧化为 NH_2OH , 再经 HAO 氧化为 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ^[13, 21], 期间有 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 产生; 第 2 种是 NH_2OH 直接转化为 N_2O 、 N_2 ^[22, 23], 没有 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 生成. 肖继波等^[24] 发现 *Deffluibacter lusatiensis* str. DN7 在去除 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的过程中积累了大量的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$, 符合第一种异养硝化途径; 孙庆花等^[25] 对菌株 y3 的研究发现 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 去除的过程中几乎检测不到 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$, 认为菌株 y3 的异养硝化途径属于第 2 种. 本文在对菌株 B307 的影响因素研究过程中发现 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的去除率出现明显降低的现象, 是因其硝化过程中有 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的产生, 导致其硝态氮的去除率降低, 可以认为其在 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的异养硝化遵循了第 1 种途径. 菌株 B307 在 NaNO_3 为唯一氮源的好氧反硝化过程中有短暂的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 积累, 说明有 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的产生, 表明其反硝化途径可能为 $\text{NO}_3^- \text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^- \text{-N} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ ^[26, 27].

本研究菌株 B307 在混合氮源体系中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的去除率为 98.35%, 显著高于以 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 为唯一氮源体系的 67.23%, 表明 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的存在可有效提高异养硝化过程中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的去除, 推测可能与 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 诱

导反硝化酶的产生、进而加快了 HN-AD 过程中的电子传递速率、促进 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的代谢有关^[10]。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率在混合氮源和以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源体系中分别为 99.75% 和 99.82%，二者之间没有明显差异，与王骁静^[28]的结果一致，表明 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的存在对好氧反硝化过程中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的代谢没有显著影响。

4 结论

(1) 从胶州湾沉底物中分离出 1 株异养硝化-好氧反硝化菌株 B307，经 16S rRNA 序列分析，初步鉴定为 *Zobellella* sp.，其最佳碳源为丁二酸钠，最佳 C/N 选为 5，最适初始 pH 为 9，最适培养温度范围为 35℃ ~ 40℃。

(2) 菌株 B307 具有高效的异养硝化-好氧反硝化能力，在 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 混合氮源体系中，该菌 6h 对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率和平均去除速率分别为 99.75% 和 12.45 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ ；10h 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率和平均去除速率分别为 98.35% 和 7.61 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 。

(3) 该菌在盐度为 75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，其 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率分别可保持在 97.67% 和 94.39%，具有很强的耐盐特性。

参考文献：

- [1] Huang X F, Li W G, Zhang D Y, *et al.* Ammonium removal by a novel oligotrophic *Acinetobacter* sp. Y16 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2013, **146**: 44-50.
- [2] 孙雪梅, 李秋芬, 张艳, 等. 一株海水异养硝化-好氧反硝化菌系统发育及脱氮特性[J]. *微生物学报*, 2012, **52**(6): 687-695.
Sun X M, Li Q F, Zhang Y, *et al.* Phylogenetic analysis and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria strain from marine environment[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, **52**(6): 687-695.
- [3] Aslan S, Simsek E. Influence of salinity on partial nitrification in a submerged biofilter[J]. *Bioresource Technology*, 2012, **118**: 24-29.
- [4] Zhuang X L, Han Z, Bai Z H, *et al.* Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil[J]. *Environmental Pollution*, 2010, **158**(5): 1119-1126.
- [5] Vyrides I, Stuckey D C. Adaptation of anaerobic biomass to saline conditions: role of compatible solutes and extracellular polysaccharides[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2009, **44**(1): 46-51.
- [6] Duan J M, Fang H D, Su B, *et al.* Characterization of a halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and its application on treatment of saline wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **179**: 421-428.
- [7] Huang X, Bai J, Li K R, *et al.* Characteristics of two novel cold- and salt-tolerant ammonia-oxidizing bacteria from Liaohe Estuarine Wetland[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, **114**(1): 192-200.
- [8] 信欣, 姚力, 鲁磊, 等. 耐高氨氮异养硝化-好氧反硝化菌 TN-14 的鉴定及其脱氮性能[J]. *环境科学*, 2014, **35**(10): 3926-3932.
Xin X, Yao L, Lu L, *et al.* Identification of a high ammonia nitrogen tolerant and heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterial strain TN-14 and its nitrogen removal capabilities[J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(10): 3926-3932.
- [9] Zhang S M, Sha C Q, Jiang W, *et al.* Ammonium removal at low temperature by a newly isolated heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas fluorescens* wsw-1001[J]. *Environmental Technology*, 2015, **36**(19): 2488-2494.
- [10] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 1 株海洋异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. *环境科学*, 2016, **37**(2): 647-654.
Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, *et al.* Identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain isolated from marine environment[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(2): 647-654.
- [11] 王田野, 魏荷芬, 胡子全, 等. 一株异养硝化好氧反硝化菌的筛选鉴定及其脱氮特性[J]. *环境科学学报*, 2017, **37**(3): 945-953.
Wang T Y, Wei H F, Hu Z Q, *et al.* Isolation and identification of a heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying strain and its denitrification characteristics[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, **37**(3): 945-953.
- [12] 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 等. 1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性[J]. *环境科学*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
Wang Z Y, Chen G Y, Jiang K, *et al.* Identification and denitrification characteristics of a psychrotolerant facultative basophilic aerobic denitrifier[J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- [13] Zhang Q L, Liu Y, Ai G M, *et al.* The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. *Bioresource Technology*, 2012, **108**: 35-44.
- [14] 邹艳艳, 张宇, 李明智, 等. 一株异养硝化-好氧反硝化细菌的分离鉴定及脱氮活性研究[J]. *中国环境科学*, 2016, **36**(3): 887-893.
Zou Y Y, Zhang Y, Li M Z, *et al.* Isolation and identification of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and its denitrification ability[J]. *China Environmental Science*, 2016, **36**(3): 887-893.
- [15] 张培玉, 曲洋, 于德爽, 等. 菌株 qy37 的异养硝化/好氧反硝化机制比较及氨氮加速降解特性研究[J]. *环境科学*, 2010, **31**(8): 1819-1826.
Zhang P Y, Qu Y, Yu D S, *et al.* Comparison of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification system by strain qy37 and its accelerating removal characteristic of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ [J]. *Environmental Science*, 2010, **31**(8): 1819-1826.
- [16] 成钰, 李秋芬, 费聿涛, 等. 海水异养硝化-好氧反硝化芽孢杆菌 SLWX₂ 的筛选及脱氮特性[J]. *环境科学*, 2016, **37**(7): 2681-2688.

- Cheng Y, Li Q F, Fei Y T, *et al.* Screening and nitrogen removing characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria SLWX₂ from sea water[J]. Environmental Science, 2016, **37**(7): 2681-2688.
- [17] Chen M X, Wang W C, Feng Y, *et al.* Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Aeromonas* sp. HN-02[J]. Bioresource Technology, 2014, **167**(9): 456-461.
- [18] Lei Y, Wang Y Q, Liu H J, *et al.* A novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium, *Zobellella taiwanensis* DN-7, can remove high-strength ammonium [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, **100**(9): 4219-4229.
- [19] Lin Y T, Shieh W Y. *Zobellella denitrificans* gen. nov., sp. nov. and *Zobellella taiwanensis* sp. nov., denitrifying bacteria capable of fermentative metabolism[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, **56** (Pt 6): 1209-1215.
- [20] Yi H, Song J, Cho J C, *et al.* *Zobellella aerophila* sp. nov., isolated from seashore sand, and emended description of the genus *Zobellella* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, **61**(Pt 10): 2491-2495.
- [21] Richardson D J, Wehrfritz J M, Keech A, *et al.* The diversity of redox proteins involved in bacterial heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. Biochemical Society transactions, 1998, **26**(3): 401-408.
- [22] Otte S, Schalk J, Kuenen J G, *et al.* Hydroxylamine oxidation and subsequent nitrous oxide production by the heterotrophic ammonia oxidizer *Alcaligenes faecalis*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology. 1999, **51**(2): 255-261.
- [23] Zhao B, An Q, He Y L, *et al.* N₂O and N₂ production during heterotrophic nitrification by *alcaligenes faecalis* strain NR[J]. Bioresource Technology, 2012, **116**: 379-385.
- [24] 肖继波, 江惠霞, 褚淑祎. 不同氮源下好氧反硝化菌 *Defluviobacter lusatiensis* str. DN7 的脱氮特性[J]. 生态学报, 2012, **32**(20): 6463-6470.
- Xiao J B, Jiang H X, Chu S Y. Denitrification characteristics of an aerobic denitrifying bacterium *Defluviobacter lusatiensis* str. DN7 using different sources of nitrogen [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, **32**(20): 6463-6470.
- [25] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 海洋菌株 y3 的分离鉴定及其异养硝化-好氧反硝化特性[J]. 环境科学, 2016, **37**(3): 1089-1097.
- Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, *et al.* Isolation, identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain y3 isolated from marine environment[J]. Environmental Science, 2016, **37**(3): 1089-1097.
- [26] Philippot L, Mirleau P, Mazurier S, *et al.* Characterization and transcriptional analysis of *Pseudomonas fluorescens* denitrifying clusters containing the *nar*, *nir*, *nor* and *nos* genes [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 2001, **1517**(3): 436-440.
- [27] 何腾霞, 倪九派, 李振轮, 等. 1 株 *Arthrobacter arilaitensis* 菌的耐冷异养硝化和好氧反硝化作用[J]. 环境科学, 2016, **37**(3): 1082-1088.
- He T X, Ni J P, Li Z L, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of the hypothermia aerobic denitrification bacterium: *Arthrobacter arilaitensis*[J]. Environmental Science, 2016, **37**(3): 1082-1088.
- [28] 王骁静, 于德爽, 李津, 等. 海洋异养硝化-好氧反硝化菌 y6 同步脱氮除碳特性[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(2): 686-695.
- Wang X J, Yu D S, Li J, *et al.* Separation identification and the characteristics research of simultaneous removal of nitrogen and carbon about marine heterotrophic nitrification and aerobic denitrification strain y6 [J]. China Environmental Science, 2017, **37**(2): 686-695.

CONTENTS

Ratios of Volatile Organic Compounds in Ambient Air of Various Cities of China	WANG Ming, CHEN Wen-tai, LU Si-hua, <i>et al.</i> (4393)
Temporal Variation, Spatial Distribution, and Reactivity Characteristics of Air VOCs in Beijing 2015	ZHANG Bo-tao, AN Xin-xin, WANG Qin, <i>et al.</i> (4400)
Research and Application of the Technical Method for the Compilation of VOCs Emission Inventories from Architectural Coatings in Beijing	DENG Zi-yu, GAO Mei-ping, WANG Qing-wei, <i>et al.</i> (4408)
Content Levels and Compositions Characteristics of Volatile Organic Compounds(VOCs) Emission from Architectural Coatings Based on Actual Measurement	GAO Mei-ping, DENG Zi-yu, NIE Lei, <i>et al.</i> (4414)
Characteristics of Primary Pollutants of Air Quality in Cities Along the Taihang Mountains in Beijing-Tianjin-Hebei Region During 2014-2016	WANG Xiao-yan, WANG Shuai, ZHU Li-li, <i>et al.</i> (4422)
Seasonal Variation and Source Analysis for PM _{2.5} , PM ₁ and Their Carbonaceous Components in Beijing	FAN Xiao-chen, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4430)
Chemical Constitution and Carbon Isotopic Compositions of PM _{2.5} in the Northern Suburb of Nanjing in Spring	ZHOU Yi-ming, HAN Xun, WANG Jin-jin, <i>et al.</i> (4439)
Analysis of Non-polar Organic Compounds in PM _{2.5} by Rapid Thermo-desorption Method Coupled with GC/MS	MA Ying-ge, WU Xia, PENG Meng-meng, <i>et al.</i> (4446)
Association Between Fine Particulate Matter and Asthma Hospital Outpatient Visits in Hangzhou	WANG An-xu, CHEN Xi, SONG Cong-bo, <i>et al.</i> (4457)
Hybrid Electric Bus SCR System Operation and NO _x Emission Characteristics Based on Remote Communication Technology	YANG Qiang, HU Qing-yao, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (4463)
Selection of Priority Contaminants in a Watershed Using Risk Ranking Methodology	LI Qi-feng, LÜ Yong-long, WANG Pei, <i>et al.</i> (4472)
Characteristics and Sources of Atmospheric Inorganic Nitrogen Wet Deposition in Xueyu Cave Watershed, Outer Suburbs of Chongqing City	DUAN Shi-hui, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (4479)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Heilongjiang Liangshui National Nature Reserve	SONG Lei, TIAN Peng, ZHANG Jin-bo, <i>et al.</i> (4490)
Key Production Process of Nitrous Oxide and Nitrogen Sources in Tuojia River	ZHAO Qiang, LÜ Cheng-wen, QIN Xiao-bo, <i>et al.</i> (4497)
Impact of Biochar on Nitrogen Removal and Nitrous Oxide Emission in Aerated Vertical Flow Constructed Wetland	WANG Ning, HUANG Lei, LUO Xing, <i>et al.</i> (4505)
Physiological Responses of Ryegrass in Cadmium-Nonylphenol Co-contaminated Water and the Phytoremediation Effects	SHI Guang-yu, LI Zhong-yi, ZHANG Lu, <i>et al.</i> (4512)
Analysis of Absorption Characteristics of Urban Black-odor Water	DING Xiao-lei, LI Yun-mei, LÜ Heng, <i>et al.</i> (4519)
Seasonal Variations of DOM Spectral Characteristics in the Surface Water of the Upstream Minjiang River	FAN Shi-yu, QIN Ji-hong, LIU Yan-yang, <i>et al.</i> (4530)
Water Quality and Three-Dimensional Fluorescence of Stormwater Runoff from Lined Bioretention Field Cells	LIN Xiu-yong, WANG Shu-min, LI Qiang, <i>et al.</i> (4539)
Nitrate-Nitrogen Pollution Sources of an Underground River in Karst Agricultural Area Using ¹⁵ N and ¹⁸ O Isotope Technique	SHENG Ting, YANG Ping-heng, XIE Guo-wen, <i>et al.</i> (4547)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Landfill Groundwater	PENG Li, YU Min-da, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (4556)
Adsorption Behavior of Phosphate from Water on Zirconium-loaded Granular Zeolite-amended Sediment	LIANG Shu-jing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (4565)
Control of Coagulant Dosing for Humic Substances Based on Ultraviolet Spectrum Analysis	ZHANG Bei-chen, ZHANG Xiao-lei, QIN Lan-lan, <i>et al.</i> (4576)
Reduction of Wastewater Organic Micro-pollutants and Genotoxicity in a Hybrid Process Involving Anaerobic-anoxic-oxic and Ozonation Treatments	LI Mo, WANG Zhen-zhe, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (4584)
Distribution and Removal of Antibiotic Resistance Genes in Two Sequential Wastewater Treatment Plants	LI Ao-lin, CHEN Li-jun, ZHANG Yan, <i>et al.</i> (4593)
Effect of Magnetic Chitosan Hydrogel Beads with Immobilized Feamnox Bacteria on the Removal of Ammonium from Wastewater	LIU Zhi-wen, CHEN Chen, PENG Xiao-chun, <i>et al.</i> (4601)
Enhanced Nitrogen and Carbon Removal Performance of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification (SAD) with Trehalose Addition Treating Saline Wastewater	YANG Zhen-lin, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (4612)
Characteristics of Denitrifying Phosphorus Removal by A ² /O-BAF at Low Temperatures	HUANG Jian-ming, ZHAO Zhi-chao, ZHENG Long-ju, <i>et al.</i> (4621)
Characteristics of Advanced Treatment of Treated Petrochemical Water by O ₃ -BAC and Analysis of Consortium Structure	ZHANG Chao, SHAN Ming-hao, XU Dan-ning, <i>et al.</i> (4628)
Microbial Community Characteristics of Shortcut Nitrification Start-up in Different MBR-Inoculated Sludges	WU Peng, CHEN Ya, ZHANG Ting, <i>et al.</i> (4636)
Effect of Microbial Community Structure and Metabolites on Sludge Settling Ability Under Three Different Switching Condition Processes	WEN Dan-dan, YUAN Lin-jiang, CHEN Xi, <i>et al.</i> (4644)
Adsorption Mechanisms of Ciprofloxacin by Extracellular Polymeric Substances of Sulfate-reducing Bacteria Sludge	ZHANG Hui-qun, JIA Yan-yan, FANG He-ting, <i>et al.</i> (4653)
Rapid Improvement of Denitrification Performance of Embedded Activated Sludge and Community Analysis	YANG Hong, XU Fu, MENG Chen, <i>et al.</i> (4661)
Spatial-Temporal Trends and Pollution Source Analysis for Heavy Metal Contamination of Cultivated Soils in Five Major Grain Producing Regions of China	SHANG Er-ping, XU Er-qi, ZHANG Hong-qi, <i>et al.</i> (4670)
Spatial Interpolation Methods and Pollution Assessment of Heavy Metals of Soil in Typical Areas	MA Hong-hong, YU Tao, YANG Zhong-fang, <i>et al.</i> (4684)
Effect of Straw Residues in Combination with Reduced Fertilization Rate on Greenhouse Gas Emissions from a Vegetable Field	HUANG Rong, GAO Ming, LI Jia-cheng, <i>et al.</i> (4694)
Emission of NH ₃ and N ₂ O from Spinach Field Treated with Different Fertilizers	SHAN Nan, HAN Sheng-hui, LIU Ji-pei, <i>et al.</i> (4705)
Effects of Various Combinations of Fertilizer, Soil Moisture, and Temperature on Nitrogen Mineralization and Soluble Organic Nitrogen in Agricultural Soil	TIAN Fei-fei, JI Hong-fei, WANG Le-yun, <i>et al.</i> (4717)
Long-term Fertilization Effects on the Abundance of Complete Ammonia Oxidizing Bacteria(<i>Comammox Nitrospira</i>) in a Neutral Paddy Soil	WANG Mei, WANG Zhi-hui, SHI Xiao-jun, <i>et al.</i> (4727)
Spatial Variation of Soil Organic Carbon and Stable Isotopes in Different Soil Types of a Typical Oasis	CHEN Xin, GONG Lu, LI Yang-mei, <i>et al.</i> (4735)
Effect and Mechanism of Attapulgite and Its Modified Materials on Bioavailability of Cadmium in Soil	CHEN Zhan-xiang, CHEN Chuan-sheng, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> (4744)
Persulfate Oxidation Effect of Soil Organic Pollutants by Natural Organic Matters	LIU Qiong-zhi, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4752)
Lead Uptake and Accumulation in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) with Water Management and Selenite Fertilization	WAN Ya-nan, LIU Zhe, Aboubacar Younoussa Camara, <i>et al.</i> (4759)
Key Bacteria for the Microbial Degradation of Pollutants in Cellar Water	YANG Hao, YANG Xiao-ni, ZHANG Guo-zhen, <i>et al.</i> (4766)
Oxidation of Humic Acid Complexing As(III) by As(III)-Oxidizing Bacteria	LI Ze-jiao, CUI Yan-shan, YIN Nai-yi, <i>et al.</i> (4778)
A Thermotolerant and Halotolerant Sulfate-reducing Bacterium in Produced Water from an Offshore High-temperature Oilfield in Bohai Bay, China: Isolation, Phenotypic Characterization, and Inhibition	YANG Chun-lu, YUAN Mei-yu, SHI Rong-jiu, <i>et al.</i> (4783)
Isolation and Nitrogen Removal Characteristics of Salt-tolerant Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacteria <i>Zobellella</i> sp. B307	BAI Jie, CHEN Lin, HUANG Xiao, <i>et al.</i> (4793)
Isolation, Identification and Degradation Characteristics of a 17β-estradiol Degrading Strain <i>Fusarium</i> sp. KY123915	WU Man-li, ZHU Chang-cheng, QI Yan-yun, <i>et al.</i> (4802)
Effect of Fluoroquinolones on Performance and Microbial Community of a Vertical Flow Constructed Wetland	LI Xin-hui, ZHENG Quan, LI Jing, <i>et al.</i> (4809)
Microbial Community Diversity Analysis During Lincomycin Mycelia Dreg with Manure	REN Sheng-tao, GUO Xia-li, LU A-qian, <i>et al.</i> (4817)
Oxidative Stress and DNA Damage Induced by DEP Exposure in Earthworms	PING Ling-wen, LI Xian-xu, ZHANG Cui, <i>et al.</i> (4825)
Mineralogy Characteristics and Heavy Metal Distribution of MSWI Fly Ash	LI Jian-tao, ZENG Ming (4834)