

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2014.0206

贾方旭, 彭永臻, 杨庆. 2014. 厌氧氨氧化菌与其他细菌之间的协同竞争关系 [J]. 环境科学学报, 34(6): 1351-1361

Jia F X, Peng Y Z, Yang Q. 2014. Competition and synergism between anammox bacteria and other bacteria [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 34(6): 1351-1361

厌氧氨氧化菌与其他细菌之间的协同竞争关系

贾方旭, 彭永臻*, 杨庆

北京工业大学 北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室, 北京市污水脱氮除磷处理与过程控制工程技术研究中心, 北京 100124

收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-10-09 录用日期: 2013-10-24

摘要: 随着污水脱氮行业的蓬勃发展, 各种新工艺、新理论层出不穷. 厌氧氨氧化(Anammox)工艺以其独特的优点脱颖而出, 成为最具应用前景的新工艺. 厌氧氨氧化菌作为该过程的执行者目前已发现 5 属 17 种, 本文主要对 5 属 17 种的厌氧氨氧化菌进行总结, 并对厌氧氨氧化菌种内关系中的群体感应系统进行详细介绍, 此外还介绍了厌氧氨氧化菌与硝化菌、反硝化菌以及厌氧甲烷氧化菌之间的协同与竞争关系. 最后给出常见竞争因素对厌氧氨氧化种群结构的影响, 通过控制竞争因素来实现对厌氧氨氧化种群结构的调节. 本文将厌氧氨氧化菌微生物生态学与厌氧氨氧化污水处理工艺相结合, 为厌氧氨氧化工艺在污水生物处理中的应用提供理论依据.

关键词: 厌氧氨氧化; 硝化菌; 反硝化菌; 厌氧甲烷氧化菌; 协同竞争关系

文章编号: 0253-2468(2014)06-1351-11 中图分类号: X703 文献标识码: A

Competition and synergism between anammox bacteria and other bacteria

JIA Fangxu, PENG Yongzhen*, YANG Qing

Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Engineering Research Center of Beijing, Beijing University of Technology, Beijing 100124

Received 4 September 2013; received in revised form 9 October 2013; accepted 24 October 2013

Abstract: With the development of the wastewater nitrogen removal, new techniques and theories emerge continuously. With its unique advantages, anaerobic ammonia oxidation (Anammox) process becomes the most promising technology. As the performer of anammox process, the known anammox bacteria are classified into five genera and seventeen species. They were summarized and the quorum sensing system in intraspecific relationship of anammox bacteria was introduced. Moreover, the competitive and synergistic relationship between anammox bacteria and other bacteria, including nitrifying bacteria, denitrifying bacteria and anaerobic methane oxidizing bacteria, was also introduced. Finally, the effect of common competitive factors on the structure of anammox bacteria population was summarized in order to adjust the population structure of anammox bacteria by controlling these factors. In this study, the microbial ecology of anammox bacteria and wastewater treatment process were coupled. Consequently, a theoretical basis for the application of anammox process in biological wastewater treatment was provided.

Keywords: anammox; nitrifying bacteria; denitrifying bacteria; anaerobic methane oxidizing bacteria; the competition and synergism relationship

1 引言(Introduction)

随着科技的迅速发展, 工业化和城市化程度的不断提高, 水体富营养化的问题日益严重, 使得水资源更加紧张. 而氮是引起水体富营养化的主要因素. 所以越来越多的国家和地区制定了氮排放标准. 因此, 研究开发经济、高效的脱氮技术已成为水

污染控制工程领域的研究重点.

生物处理法作为 19 世纪末废水处理新型技术, 与物化处理法相比具有处理费用低, 不会对环境造成二次污染等优点. 因此, 生物处理法至今已成为世界各国污水二、三级处理的主要手段. 众所周知氮元素可在相应微生物的作用下转化成各种氧化态和化学形式(目前已知的生物氮循环途径如图 1

基金项目: 国家自然科学基金(No. 21177005); 污泥内碳源/厌氧氨氧化强化生物脱氮工艺的开发及优化(No. QAK201203)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21177005) and the Open Project of State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment (No. QAK201203)

作者简介: 贾方旭(1988—), 男, E-mail: jason530170704@aliyun.com; * 通讯作者(责任作者), E-mail: pyz@bjut.edu.cn

Biography: JIA Fangxu (1988—), male, E-mail: jason530170704@aliyun.com, * Corresponding author, E-mail: pyz@bjut.edu.cn

所示),因此在污水生物脱氮处理中衍生了大量组合工艺.而厌氧氨氧化过程是目前最捷径的生物脱氮过程,因此被誉为最具前景的污水脱氮工艺.为了更好的将厌氧氨氧化工艺应用到实际规模中,本文着重对厌氧氨氧化菌的发现及其与污水处理中

常见细菌的协同与竞争关系进行了详细的综述.旨在为厌氧氨氧化工艺在污水生物处理中的应用提供理论依据,并为今后厌氧氨氧化工艺的研究方向提出一些意见.

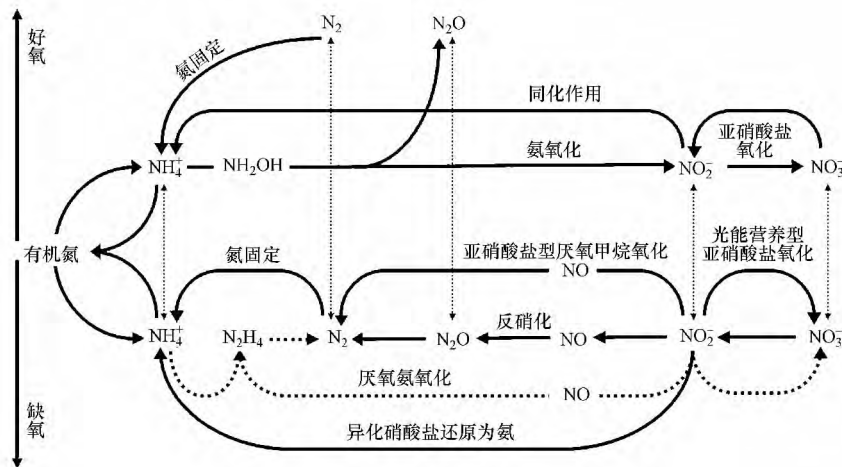


图1 氮循环示意图(Thamdrup, 2012)

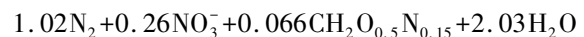
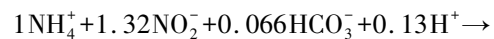
Fig. 1 Nitrogen cycle

2 厌氧氨氧化概述(The summary of anammox)

早在1976年, Broda(Broda, 1977) 预言在自然界中存在一种以 NO_2^- 或 NO_3^- 作为电子受体把 NH_4^+ 氧化成 N_2 的化能自养型细菌.直到1995年, Mulder等(Mulder *et al.*, 1995) 在处理酵母废水的反硝化流化床反应器内发现了 NH_4^+ 消失的现象,从而证实了厌氧氨氧化反应的存在.

厌氧氨氧化(Anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 是在缺氧条件下以亚硝酸盐(NO_2^-) 为电子受体将氨(NH_4^+) 转化成氮气(N_2) (Vandegraaf *et al.*, 1995),同时伴随着以亚硝酸盐为电子供体固定 CO_2 并产生硝酸盐(NO_3^-) 的生物过程(Strous

et al., 1999a). 执行该过程的微生物称之为厌氧氨氧化菌(Anaerobic ammonium oxidation bacteria, AAOB),其化学计量学方程式(Strous *et al.*, 1998) 如下:



由于氨氧化细菌(Ammonium oxidation bacteria, AOB) 可将氨氧化成亚硝酸盐,为 AAOB 提供基质,所以目前对厌氧氨氧化工艺的应用通常与短程硝化(亚硝化)联系在一起.图2为亚硝化-厌氧氨氧化工艺与传统的硝化-反硝化工艺的对比,通过对比可知亚硝化-厌氧氨氧化工艺具有如下优点(Kartal *et al.*, 2010):

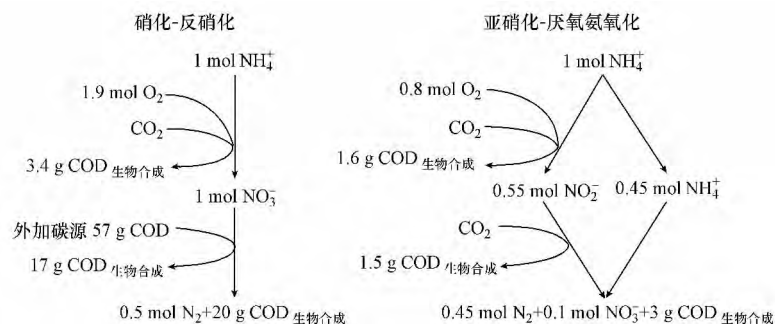


图2 硝化-反硝化工艺与亚硝化-厌氧氨氧化工艺的比较(Siegrist *et al.*, 2008)

Fig. 2 Comparison between nitrification-denitrification (left) and the nitritation-anammox process (right)

①厌氧氨氧化在缺氧条件下进行,无需氧气的供应,可节省 62.5% 的能源消耗.

②厌氧氨氧化以无机碳(CO_2 或 HCO_3^-) 为碳源,无需投加有机碳,大大节省了碳源.

③亚硝化-厌氧氨氧化所产生的 CO_2 与普通的硝化-反硝化系统相比减少 90%.

④AAOB 生长缓慢、产率低,因此工艺剩余污泥量少,污泥处置费用低.

⑤厌氧氨氧化氮去除率及氮去除负荷较高,从而能够减少工艺占地面积,降低工艺基建成本.

AAOB 是一群分支很深的浮霉状菌 (Strous *et al.*, 1999a). AAOB 生长缓慢,在 30 ~ 40 °C 条件下,其倍增时间为 10 ~ 14 d (Strous *et al.*, 2006), 细胞产率为 0.11 g (VSS) / g (NH_4^+) (Strous *et al.*, 1999a), 如果对培养条件进行优化,其倍增时间可缩短至 4.8 d (Tang *et al.*, 2011b), 甚至 1.8 d (Isaka *et al.*, 2006). 如表 1 所示为目前已发现的 5 属 17 种 Anammox 菌. 相关研究表明,AAOB 为地球氮循环做出了巨大贡献,目前已在自然环境和人工环境中发现了大量 AAOB 的存在. 其中厌氧的自然生态系统包括: 海洋沉积物和海洋水体 (Galán *et al.*, 2009; Rich *et al.*, 2008)、淡水沉积物和淡水水体 (Moore *et al.*, 2011; Yoshinaga *et al.*, 2011)、红树林地区 (Meyer *et al.*, 2005) 以及陆地生态系统 (Zhu *et al.*, 2011b) 等. 而在人工生态系统中包括: 污水处理厂 (van der Star *et al.*, 2007)、海洋循环水产养殖系统 (Tal *et al.*, 2006)、垃圾渗滤液处理系统 (Egli *et al.*, 2001). 此外,人们以各种环境中发现的 AAOB 为基础,将其引入污水处理系统,循序渐进地对 AAOB 进行驯化培养以处理各类废水,包括实验室规模、中试规模及实际规模的污泥消化液 (Joss *et al.*, 2009)、垃圾渗滤液 (Liang *et al.*, 2009)、焦化废水 (Toh and Ashbolt, 2002)、味精废水 (Shen *et al.*, 2012)、养猪废水 (Yamamoto *et al.*, 2008) 以及制药废水 (Tang *et al.*, 2011a) 等.

厌氧氨氧化工艺是一种高效脱氮工艺,其最大氮负荷可达 $9.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, 且处理污水成本只需 $0.75 \text{ €} \cdot \text{kg}^{-1}$, 因此厌氧氨氧化是一种极具前景的生物处理工艺 (van der Star *et al.*, 2007). 但由于厌氧氨氧化至今未能获得纯培养,为了得到高纯度的 AAOB,目前只能用密度梯度离心的方法获得纯度为 99.8% 的 AAOB (Strous *et al.*, 1999a), 因此对

AAOB 的研究仍受到很大的阻碍,这意味着对厌氧氨氧化工艺的应用及推广也会带来诸多难题. 然而“在单个细胞水平上对基因组进行测序”的单细胞测序技术能够解决上述难题 (de Souza, 2012). 因此对 AAOB 的进一步了解有赖于单细胞测序技术的成熟应用.

3 AAOB 与其他微生物之间的关系 (The relationship between the AAOB and other microorganisms)

在自然生态系统和人工生态系统中,AAOB 不仅与环境有着密切的关系,而且与其他微生物也有着密切的关系. 微生物之间的关系有种内和种间关系. 其中 AAOB 的种内关系主要体现在群体感应系统,而 AAOB 的种间关系主要是与氨氧化菌、亚硝酸盐氧化菌、反硝化菌、厌氧甲烷氧化菌的合作与竞争关系.

3.1 AAOB 的种内关系 (群体感应系统)

群体感应作为一种通讯机制在微生物细胞之间普遍存在,它能够根据菌群密度和周围环境的变化来调节基因表达,从而控制菌群行为. 由于 AAOB 至今未能得到纯培养,所以对 AAOB 群体感应的深入研究无从下手. 但根据目前对 AAOB 的研究来看, Ding 等 (Ding *et al.*, 2013) 认为有 3 个现象可以推测厌氧氨氧化菌之间存在群体感应系统.

(1) 厌氧氨氧化活性存在密度依赖性. 根据 Strous 等 (Strous *et al.*, 1999a) 的研究发现,只有当 AAOB 细胞浓度大于 $10^{10} \sim 10^{11} \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, AAOB 才具有厌氧氨氧化活性.

(2) 目前认为 AAOB 属于革兰氏阴性细菌,而对于革兰氏阴性细菌的群体感应系统而言其自诱导物为 N-乙酰化高丝氨酸内酯 (N-acyl-homoserine lactones, AHLs) 类化合物,主要用作种内“语言”,且对于革兰氏阴性菌中 AHLs 的合成来说, S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) 和乙酰化载体蛋白 (acyl-acyl carrier protein, acyl-ACP) 是必要的生物分子. Strous 等 (Strous *et al.*, 2006) 利用宏基因组学技术对 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 的脂肪酸代谢基因组学信息进行了研究,发现其具有编码 SAM 和 acyl-ACP 的合成酶的相关基因,证明其具有自诱导物合成潜力.

(3) De Clippeleir 等 (De Clippeleir *et al.*, 2011) 在研究长链高丝氨酸内酯对 OLAND 生物膜中厌氧氨氧化速率的影响时发现,在 OLAND 生物膜系统中,添加 N-十二酰基高丝氨酸内酯 (N-dodecanoyl

表 1 目前已发现的 5 属 17 种 AAOB

Table 1 The five genera and seventeen species of AAOB discovered to date

属名	种名	电子供体	电子受体	规模	反应器/自然环境/水质	温度/℃	pH	GenBank 注册号	文献
Brocadia	<i>Candidatus Brocadia anammoxidans</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	实际规模	—	—	—	AF375994	(Strous <i>et al.</i> , 1999a)
	<i>Candidatus Brocadia fulgida</i>	NH ₄ ⁺ /乙酸盐	NO ₂ ⁻	小试	SBR(合成废水)	33	7.0~7.3	DQ459989	(Kartal <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Candidatus Brocadia sinica</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	小试	膨胀床反应器	30	—	GQ175281	(Hu <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Candidatus Brocadia brasiliensis</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	小试	SBR(合成废水)	34~35	7.5	GQ896513	(Araujo <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Candidatus Brocadia carolinensis</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	小试	升流式反应器(猪粪废水)	30	—	—	(Rothrock <i>et al.</i> , 2011)
Kuenenia	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	小试	生物滤池(污泥消化液)	23~26	7.7~8.4	AF375995	(Schmid <i>et al.</i> , 2000)
Scalindua	<i>Candidatus Scalindua brodae</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	实际规模	生物转盘(垃圾渗滤液)	22~25	—	AY254882	(Schmid <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Candidatus Scalindua wagneri</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	实际规模	生物转盘(垃圾渗滤液)	22~25	—	AY254883	(Schmid <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Candidatus Scalindua sorokinii</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	黑海次氧化层区域(92 m)	10	—	AY257181	(Kuypers <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Candidatus Scalindua arabica</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	阿拉伯海(221 m)	—	—	EU478593- EU478625	(Woebken <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Candidatus Scalindua sinooifield</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	胜利油田(1200~2000 m)	55~75	7.3~8.1	HM208755- HM208788	(Li <i>et al.</i> , 2010)
Jettenia	<i>Candidatus Scalindua zhenyuei</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	3300 m、1900 m、 1100 m、1153 m	2~4	—	GQ331139- GQ331201 GQ1202- GQ331244	(Hong <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Candidatus Scalindua richardsii</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	1000 m ($\sigma_\theta = 17.19$) 2000 m ($\sigma_\theta = 17.21$)	—	—	DQ368233	(Fuchsman <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Candidatus Scalindua profunda</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	自然生态系统	瑞典 Alsbeek 峡湾沉积物	15~18	7.0~8.0	—	(van de Vossenberg <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Candidatus Jettenia asiatica</i>	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	小试	上流式厌氧生物反应器(合成废水)	30~35	—	DQ301513	(Tsuchida <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Candidatus Anammoxoglobus pro-pionicus</i>	NH ₄ ⁺ /丙酸盐	NO ₂ ⁻	小试	SBR(合成废水)	33	7.0~7.3	DQ317601	(Kartal <i>et al.</i> , 2007)
Anammoxoglobus	<i>Candidatus Anammoxoglobus sulfatofaciens</i>	NH ₄ ⁺	SO ₄ ²⁻	小试	无纺布生物转盘(合成废水)	35	8~8.2	—	(Liu <i>et al.</i> , 2008b)

注: σ_θ 表示势密度, 定义为在物理海洋学中, 把某压力下的流体质点, 绝热的移动到标准大气压时, 其所对应的密度值。

homoserine lactone, C_{12} -HSL) 可以增强 AAOB 活性, 而对 AOB 没有影响. C_{12} -HSL 属于 AHLs 中碳链较长的一种, 其对革兰氏阴性细菌的自诱导起到关键的作用.

3.2 AAOB 的种间关系

3.2.1 AAOB 的种间竞争关系 目前已发现的 AAOB 有 5 属 17 种, 根据目前对 AAOB 的研究来说, 除了 Schmid 等 (2003) 用 AAOB 处理垃圾渗滤液的研究中发现 *Candidatus Scalindua brodae* 和 *Candidatus Scalindua wagneri* 有等量共存的现象, 绝大多数情况下很少能发现两种 AAOB 在相同单一生境中等量共存的现象 (Kartal *et al.*, 2007), 这意味着 AAOB 的确存在种间的竞争关系. 不论在自然生态系统还是人工生态系统 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia* 都最为常见, 现以该两种菌属为例讨论 AAOB 的种间竞争关系.

van der Star (van der Star *et al.*, 2008) 等, 用膜生物反应器富集 AAOB 时发现, 在富集过程中存在种群结构逐渐由原来的 *Candidatus Brocadia* 转变为 *Candidatus Kuenenia* 的现象. 他们认为 *Candidatus Brocadia* 的繁殖策略属于 r-策略, 而 *Candidatus Kuenenia* 则属于 K-策略. 图 3 为 *Candidatus Kuenenia* 与 *Candidatus Brocadia* 的竞争曲线, 其中 *Candidatus Kuenenia* 的亚硝酸盐半饱和常数 $K_s = 0.2 \sim 0.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 而 *Candidatus Brocadia* 的亚硝酸盐半饱和常数 $K_s \approx 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (Strous *et al.*, 1999b). 因此 *Candidatus Kuenenia* 较 *Candidatus Brocadia* 生长缓慢, 所以在底物浓度较低的情况下, *Candidatus Kuenenia* 占主导作用, 相反在底物浓度较高的情况下, *Candidatus Brocadia* 占主导作用. 因此, 对于污水处理系统的高效运行来说, *Candidatus*

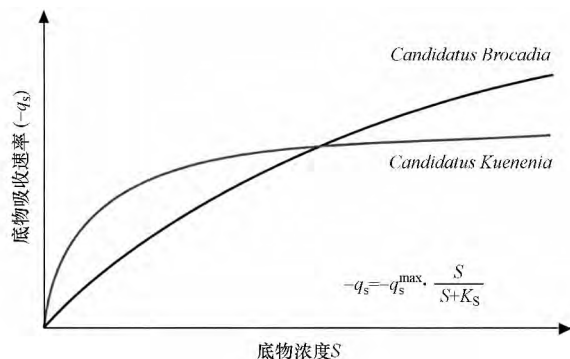


图3 *Candidatus Kuenenia* 与 *Candidatus Brocadia* 的竞争曲线
Fig.3 The competition curve of *Candidatus Kuenenia* and *Candidatus Brocadia*

Brocadia 可能是很好的选择. 而对于处理低浓度废水 *Candidatus Kuenenia* 则更为合适.

3.2.2 AAOB 与硝化菌的种间关系

(1) AAOB 与硝化菌基于底物协同作用

AOB 将氨氧化成亚硝酸盐, 为 AAOB 提供基质, 与此同时 AAOB 也为 AOB 去除有毒物质 (亚硝酸盐). 在自然生态系统中, AOB 和 AAOB 经常共同生长在氧最小区域 (oxygen minimum zones, OMZs). 目前已在多处海洋的 OMZs 处发现 AOB 和 AAOB 的存在, 如智利北部 OMZs 发现 AAOB (Galán *et al.*, 2009), 且在同一地平线处的秘鲁 OMZs 中发现 AOB (Ward *et al.*, 1989). 如图 4 所示, 为海洋生态系统中 AAOB 与其他微生物的竞争协同关系. 据报道, 在海洋 50 m 深处, AAOB 的生物量 (高达 $3000 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和多样性最高, 而当深度达到 300 m 时, AAOB 的生物量降低到 $450 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$. 这是因为深达 300 m 处的海洋极度缺氧, 导致 AOB 不能生存, 因此不能为 AAOB 提供充足的亚硝酸盐, 所以在 300 m 深处 AAOB 活性丧失 (Galán *et al.*, 2009). 同时在黑海的 OMZs 中也存在着 AOB-AAOB 互利共存的现象 (Lam *et al.*, 2007).

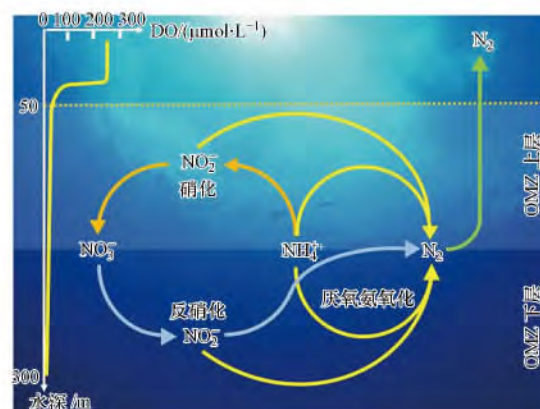


图4 海洋生态系统中 AAOB 与其他微生物的竞争协同作用示意图

Fig.4 The competition and synergism between AAOB and other microorganisms in marine ecosystem

在人工生态系统中, CANON (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) 工艺 (Sliekers *et al.*, 2002) 和 OLAND (oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification) 工艺 (Philips *et al.*, 2002) 结合 AOB 和 AAOB 进行脱氮. 其原理为 AOB 首先将氨转化成亚硝酸盐, 之后由 AAOB 将剩余的氨和 AOB 产生的亚硝酸盐转化

成氮气. Slikers 等(Slikers *et al.* , 2004) 研究表明 AAOB 不具备水解尿素的能力, 因此 AAOB 不能以尿素作为氮源, 但是 AOB 具有将尿素转化为氨氮的能力, 因此在处理含尿素废水时, AOB 不但能为 AAOB 提供亚硝酸盐, 而且还能提供氨氮(Liu *et al.* , 2008a) . AAOB 和 AOB 的协同作用主要依赖氨和亚硝酸盐, 其中亚硝酸盐占主导地位.

(2) AAOB 与硝化菌空间协同作用

空间协同作用主要存在于颗粒污泥和生物膜中, AAOB、AOB、NOB 在颗粒污泥或生物膜中的位置主要由 DO 决定. 因为 AAOB 对氧气极为敏感, 耐氧能力极低(Strous *et al.* , 1997) , 所以 AOB 通常长在颗粒污泥或生物膜的表层, 而 AAOB 则长在内部(Nielsen *et al.* , 2005) . 这是因为 AOB 可以消耗氧气为 AAOB 提供缺氧环境(Tsushima *et al.* , 2007) , 同时还可以提供亚硝酸盐基质. 对 NOB 进行检测发现其在颗粒污泥中的含量远低于 AOB, 究其原因主要是在低氧环境下 AOB 对氧的亲合力比 NOB 要强(Blackburne *et al.* , 2008) . 图 5 所示为 AAOB 与 AOB 的空间协同作用关系.

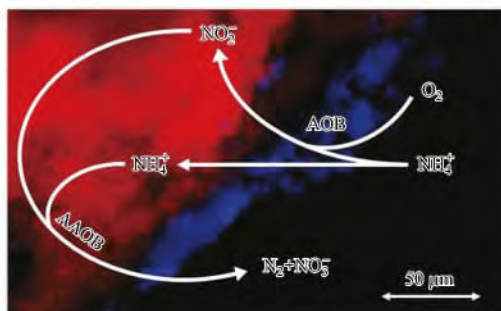


图5 AAOB 与 AOB 的空间协同作用示意图(背景为颗粒污泥切片荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH) 图片; 其中 AAOB 探针 AMX368 用 Cy3 标记(红色) , AOB 探针 NSO190、NOS1225 用 Cy5 标记(蓝色) , NOB 探针 Ntspa662、NIT1035 用 Fluos 标记(绿色))

Fig. 5 The spatial synergism of AAOB and AOB

(3) AAOB 与硝化菌基于底物和 DO 的竞争作用

AOB 和 AAOB 都以氨作为基质, 然而 DO 作为一个重要的影响因子可以决定系统中的优势菌种. 由于 AAOB 无需氧气所以在缺氧条件下 AAOB 占主导作用. 但这并不意味着 AOB 会在系统中消失, 因为 AOB 有多种代谢方式, 这有益于他们在不利的条件下生存(Bock *et al.* , 1995) . 有趣的是, 据报道 *Nitrosomonas europaea* 也可以按照厌氧氨氧化方

式进行代谢, 但其竞争基质的能力弱于 AAOB(Schmidt and Bock, 1998) .

氧对厌氧氨氧化活性具有极强抑制作用. 据 Jetten 等(Jetten *et al.* , 1998) 报道微量的溶解氧($>0.5\%$) 就会抑制厌氧氨氧化过程. 而 Strous 等(Strous *et al.* , 1997) 研究表明, 只有在充入惰性气体, 将水中的溶解氧完全吹脱时, AAOB 才具备降解氨及亚硝酸盐的能力, 也就是说只有在严格无氧的条件下才能检测到厌氧氨氧化活性, 且该研究进一步表明, 溶解氧抑制是可逆的. 此外 AAOB 与 AOB 相比其倍增时间长且细胞产率低. 以上这些说明, 当 AOB 与 AAOB 在好氧条件下进行竞争, AOB 会获得更多的基质和空间.

3.2.3 AAOB 与反硝化菌的种间关系

(1) AAOB 与反硝化菌基于底物的协同作用

在自然生态系统中, 如海洋表面, 由于氧气比较充足, 氨可被氧化为硝酸盐, 在水的流动作用下硝酸盐被传输到海洋深处的缺氧区, 在缺氧区反硝化菌可将硝酸盐还原成亚硝酸盐, 为 AAOB 提供必要基质. 为了衡量厌氧氨氧化作用对海洋氮循环的贡献大小, 对格陵兰东、西海岸的沉积物、杜尔塞海湾的缺氧水体以及黑海水域做了相关研究. 发现由厌氧氨氧化作用所产生的 N_2 占总 N_2 的量分别为: $1\% \sim 35\%$ (Rysgaard *et al.* , 2004) 、 $19\% \sim 35\%$ (Dalsgaard *et al.* , 2003) 和 40% (Kuypers *et al.* , 2003) .

在人工生态系统中, AAOB 可以和反硝化菌共存. 在以反硝化污泥当做种泥来启动厌氧氨氧化反应器研究中发现 AAOB 和反硝化菌都以亚硝酸盐当做基质, 但能够决定脱氮过程的主要因素是 C/N 比和 TOC 负荷(Sumino *et al.* , 2006) . Tal 等(Tal *et al.* , 2006) 以硝化污泥和反硝化污泥当做种泥来富集厌氧氨氧化, 结果表明用反硝化污泥富集的厌氧氨氧化活性较高(以联氨氧化活性(Schalk *et al.* , 1998) 表征约 $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{beed}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) , 说明 AAOB 和反硝化菌的协同作用要强于 AOB.

(2) AAOB 与反硝化菌基于底物和有机物的竞争作用

反硝化菌和 AAOB 都以亚硝酸盐作为基质, 但反硝化菌的另一种基质有机物能够抑制厌氧氨氧化活性. 当 $\text{COD}/\text{NO}_2^--\text{N}$ 比值较低时, 以厌氧氨氧化方式去除氮的过程不会有显著的影响(Güven *et al.* , 2005) , 甚至 AAOB 能够利用有机物作为基质. 但当 $\text{COD}/\text{NO}_2^--\text{N}$ 比值较高时, 亚硝酸盐将会被反硝化菌

所利用,从而抑制 AAOB (Furukawa *et al.*, 2009). 值得注意的是反硝化菌是异养菌,其生长速率和细胞产量都比 AAOB 高,自养的 AAOB 逐渐被淘洗从而使厌氧氨氧化的脱氮能力降低 (Lackner *et al.*, 2008),这意味着如果反应器一直在不利于 AAOB 的条件下运行,反硝化菌的数量将会超过 AAOB 的数量,而 AAOB 在整个菌群中的比例将会随之降低 (Tang *et al.*, 2010). 但相关研究表明在少量有机物存在的条件下 AAOB 可以执行另一种代谢途径: 利用有机物作为电子供体将硝酸盐还原为氨,即异化硝酸盐还原为氨 (dissimilatory nitrate reduction to ammonia, DNRA) (Kartal *et al.*, 2008). 图 6 所示为少量有机物存在条件下,AAOB 与反硝化菌的竞争关系.

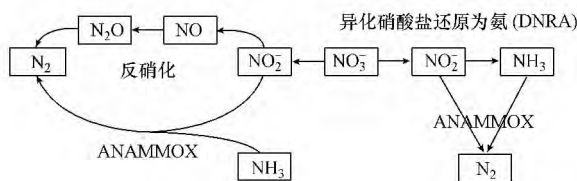


图 6 有机物存在下 AAOB 与反硝化菌的竞争关系

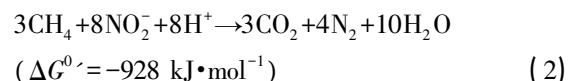
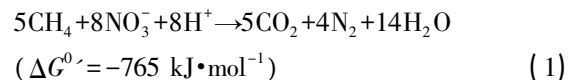
Fig. 6 The competition between AAOB and denitrifier in the presence of organic matter

Güven 等 (Güven *et al.*, 2005) 研究表明,有机酸能被 AAOB 转化,而对于丙酸来说,其消耗速率较高为 $0.8 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$,而葡萄糖、甲酸、丙酸则对厌氧氨氧化的活性无明显影响. 进一步研究发现 AAOB 以亚硝酸盐或硝酸盐作为电子受体的情况下可将丙酸转化为 CO_2 . 且对长达 150 d 系统中的微生物进行种群结构的分析发现 AAOB 数量和反硝化菌的数量并没有显著变化,这意味着 AAOB 与反硝化菌相比显示出对丙酸的竞争优势. 在膜曝气生物膜系统中,当 $\text{COD}/\text{N} > 2$ 时,厌氧氨氧化活性降低,异养菌成为优势菌属 (Lackner *et al.*, 2008). 当 COD 高于 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,厌氧氨氧化活性丧失,甚至从系统中消失 (Chamchoi *et al.*, 2008). Molinuevo 等 (Molinuevo *et al.*, 2009) 研究表明,当 COD 高于 $290 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,厌氧氨氧化作用被反硝化作用所取代. 如若发生上述这些情况,通常采用 AAOB 细胞固定化技术 (Furukawa *et al.*, 2009) 或额外投加 AAOB (Tang *et al.*, 2011a) 的方法来解决.

3.2.4 AAOB 与厌氧甲烷氧化菌的种间关系

据报道氨、溶解性甲烷、亚硝酸盐 (硝酸盐) 通常共存于缺氧生态环境中 (Luesken *et al.*, 2011a). 而根据化学计量反应式 (1) (2),吉布斯自由能变皆小

于零,说明反应可自发正向进行,因此可以推测自然界中存在以 NO_2^- 和 NO_3^- 为电子受体的厌氧甲烷氧化过程. 但经过长时间的调查和研究都未曾在自然界中寻其踪迹 (Strous and Jetten, 2004). 直至 1991 年,Smith 等 (Smith *et al.*, 1991) 利用原位自然梯度示踪实验在受污染的地下水环境中发现了厌氧甲烷氧化耦合反硝化的现象,但一直未能获得其富集培养物. 直至 2006 年 Raghoebarsing 等 (Raghoebarsing *et al.*, 2006),用 Twentekanaal 河的缺氧沉积物作为接种污泥,在实验室条件下获得了以硝态氮作为电子受体的厌氧甲烷氧化富集培养物,并将该过程命名为反硝化型甲烷厌氧氧化 (Denitrification-dependent anaerobic methane oxidation, DAMO). 值得注意的是,当系统中同时存在 NO_2^- 和 NO_3^- 时,反硝化型厌氧甲烷氧化过程优先利用亚硝酸盐作为电子受体 (Raghoebarsing *et al.*, 2006),因此又将该过程称为依赖亚硝酸盐型的厌氧甲烷氧化 (nitrite-dependent anaerobic methane oxidation, N-DAMO).



在自然生态系统中,N-DAMO 主要分布于淡水水域 (Kojima *et al.*, 2012),且在淡水沉积物和淡水水域中也发现了 AAOB 的存在,这是否能够说明 N-DAMO 和 AAOB 可以在相同的生境下共存呢? 通过对 N-DAMO 与 AAOB 的生理学和生态学的研究表明,N-DAMO 与 AAOB 很可能在含有甲烷、氨、氮氧化物的缺氧生态环境中共存 (Zhu *et al.*, 2010).

Wang 等 (Wang *et al.*, 2012),在研究水稻土 (0 ~ 100 cm) 中 N-DAMO 与 AAOB 的共存和分布时发现 N-DAMO 与 AAOB 共存于水稻土中,且两者均在 30 ~ 60 cm 处分布较多. Yang 等 (Yang *et al.*, 2012),对青藏高原的两个盐湖 (盐度分别为 32 和 $84 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的表层沉积物进行研究,发现 N-DAMO 和 AAOB 可以共存于天然盐碱环境中. Zhu 等 (Zhu *et al.*, 2010),对湿地生态系统中的厌氧氨氧化和厌氧甲烷氧化作用进行了详细的综述,并推测淡水湿地非常适合 AAOB 和 N-DAMO 的共同生长.

在人工生态系统中,同样也发现了 N-DAMO 与 AAOB 共存的现象. Luesken 等 (Luesken *et al.*, 2011a),以 N-DAMO 富集污泥 (70% ~ 80%) 作为种泥,在 SBR 反应器中进行 N-DAMO 和 AAOB 的混合

培养. 161 d 后, 混合培养物中 N-DAMO 和 AAOB 的数量各占 50% 左右, 且该系统能有效的同步去除氨、溶解性甲烷及亚硝酸盐, 其亚硝酸盐转化速率为 $0.1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ ($17.2 \text{ mmol} \cdot \text{d}^{-1}$). 而 Zhu 等 (Zhu *et al.*, 2011a), 则以实际规模的厌氧氨氧化反应器中的颗粒污泥作为种泥, 进行 N-DAMO 和 AAOB 的混合培养研究. 研究表明 AAOB 颗粒污泥作为接种污泥进行 N-DAMO 和 AAOB 的混合培养是可行的. 同时他们也证明了实际规模的厌氧氨氧化反应器 (Luesken *et al.*, 2011b) 中的 N-DAMO 的确为 NO_2^- (或 NO_3^-) 及甲烷的去除做了贡献.

关于 N-DAMO 与 AAOB 的协同与竞争作用的机制研究较少. 如图 6 所示, 为 AAOB 与 N-DAMO 的竞争与协同作用关系. 从图中可以看出, N-DAMO 与 AAOB 都在缺氧条件下生存且都以亚硝酸盐作为电子受体, 即他们在同一个体系中共同竞争亚硝酸盐. 且 Jetten 等 (Jetten *et al.*, 2008) 表明如果系统中氨含量过高, 则 N-DAMO 将会失去与 AAOB 的竞争能力, 这说明 AAOB 与 N-DAMO 相比具有更强的亚硝酸盐亲和能力. 此外, N-DAMO 反应过程中所产生的 CO_2 可作为 AAOB 的无机碳源, 而当 NO_2^- 浓度较低时, AAOB 反应过程中产生的 NO_3^- 也可作为 N-DAMO 的电子受体.

厌氧消化工艺的主要终产物为氨和甲烷. 气相中的甲烷易被收集和纯化用作能源物质, 但液相中的甲烷却很难被回收, 尤其是在低温条件下. 如果不对溶解性甲烷进行适当处理, 其将会缓慢释放到空气中造成温室效应. 因此 N-DAMO 与 AAOB 混合培养技术

用于处理厌氧消化工艺出水具有非常光明的前景.

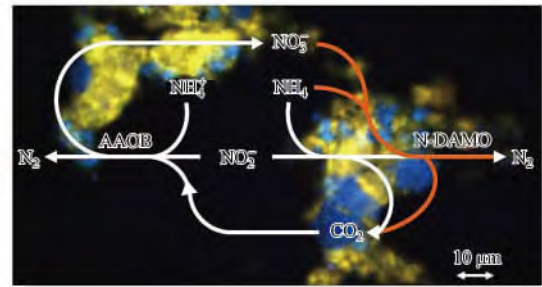


图 7 AAOB 与 N-DAMO 的竞争与协同作用示意图(背景为荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 图片; 其中 AAOB 探针 AMX368 用 Cy5 标记 (蓝色), N-DAMO 探针 DBACT1027 用 Cy3 标记 (黄色))

Fig. 7 The competition and synergism between the AAOB and N-DAMO

4 结语 (Summary)

厌氧氨氧化工艺作为一种具有能耗低、无需碳源等优点的新兴工艺, 受到越来越多学者的研究和关注. 但执行厌氧氨氧化过程的 AAOB 生长缓慢、细胞产率低, 且易受环境条件的影响, 使得该工艺应用受到严重阻碍. 为了更好的将厌氧氨氧化工艺投入实际生产规模中, 对有利于 AAOB 种群竞争的因素进行相关研究是相当必要的. 而想要促进厌氧氨氧化生长, 提高厌氧氨氧化活性, 必须优化营养条件和环境条件. 如图 8 所示为各竞争因素对 AAOB 种群结构的影响. 通过控制运行参数可对种群结构进行调整, 使相应的菌种介入为 AAOB 提供基质, 而将 AAOB 的竞争者从反应器中淘汰. 因此研究 AAOB 与其他细菌的协

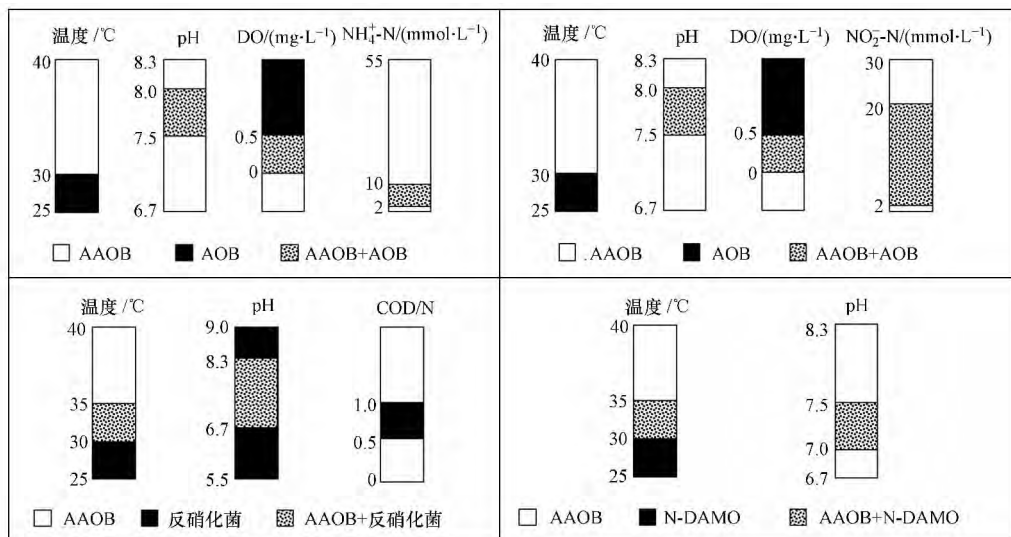


图 8 竞争因素对 AAOB 种群结构的影响 (Raghoebarsing *et al.*, 2006; 郑平等, 2004)

Fig. 8 The impact of competitive factors on AAOB population structure

同竞争关系相当重要。

对今后 AAOB 与其他细菌的协同竞争关系的相关研究,建议学者们从如下几个方面进行。

1) 由于厌氧氨氧化的纯培养物至今未能获得,因此阻碍了 AAOB 的群体感应系统和种内竞争的机理研究,为更加深入的了解 AAOB 种内关系建议加强 AAOB 的纯培养研究。

2) 目前只对 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 和 *Candidatus Scalindua profunda* 的基因组进行了研究,且表现出明显的区别。而其他的厌氧氨氧化菌的序列测定仍没有报道,是否其他厌氧氨氧化菌也拥有某些特殊功能基因,而这些基因又能够潜在的影响 AAOB 种内关系,这对 AAOB 的种内关系的研究来说具有非常重要的意义。

3) 由于 N-DAMO 的研究才刚刚起步,所以目前对 N-DAMO 与 AAOB 混合培养的研究甚少,以至于对 N-DAMO 与 AAOB 的协同竞争关系仍然不明确,而厌氧氨氧化-甲烷厌氧氧化联合工艺对处理厌氧消化工艺出水非常有效,因此在今后厌氧消化工艺的研究中可以将其推广以致应用。

责任作者简介: 彭永臻(1949—),男,工学博士、教授,博士生导师,全国模范教师,北京市高等学校教学名师奖获得者。北京工业大学环境科学与工程学科首席教授、环境工程研究所所长,中国环境科学学会环境工程分会副主任委员、《环境科学学报》等 8 种杂志编委。国家精品课程“水质工程学”和“环境保护概论”课程的主讲教师。发表论文 400 余篇,取得专利 25 项。先后获国家科技进步二等奖等多项科研及教学奖。指导的博士生 2005 年和 2006 年连续两次获得“全国百篇优秀博士学位论文”奖。

参考文献(References):

- Araujo J C, Campos A C, Correa M M, *et al.* 2011. Anammox bacteria enrichment and characterization from municipal activated sludge [J]. *Water Science & Technology*, 64(7): 1428–1434
- Blackburne R, Yuan Z G, Keller J. 2008. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor [J]. *Biodegradation*, 19(2): 303–312
- Bock E, Schmidt I, Stüven R, *et al.* 1995. Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron-donors and nitrite as electron-acceptor [J]. *Archives of Microbiology*, 163(1): 16–20
- Broda E. 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature [J]. *Zeitschrift Fur Allgemeine Mikrobiologie*, 17(6): 491–493
- Chamchoi N, Nitisoravut S, Schmidt J E. 2008. Inactivation of ANAMMOX communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) and denitrification [J]. *Bioresource Technology*, 99(9): 3331–3336
- Dalsgaard T, Canfield D E, Petersen J, *et al.* 2003. N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica [J]. *Nature*, 422(6932): 606–608
- De Clippeleir H, Defoirdt T, Vanhaecke L, *et al.* 2011. Long-chain acylhomoserine lactones increase the anoxic ammonium oxidation rate in an OLAND biofilm [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4): 1511–1519
- de Souza N. 2012. Single-cell methods [J]. *Nature Methods*, 9: 35
- Ding S, Zheng P, Lu H F, *et al.* 2013. Ecological characteristics of anaerobic ammonia oxidizing bacteria [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(5): 1841–1849
- Egli K, Fanger U, Alvarez P J J, *et al.* 2001. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate [J]. *Archives of Microbiology*, 175(3): 198–207
- Fuchsman C A, Staley J T, Oakley B B, *et al.* 2012. Free-living and aggregate-associated *Planctomycetes* in the Black Sea [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 80(2): 402–416
- Furukawa K, Inatomi Y, Qiao S, *et al.* 2009. Innovative treatment system for digester liquor using anammox process [J]. *Bioresource Technology*, 100(22): 5437–5443
- Galán A, Molina V, Thamdrup B, *et al.* 2009. Anammox bacteria and the anaerobic oxidation of ammonium in the oxygen minimum zone off northern Chile [J]. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 56(16): 1021–1031
- Güven D, Dapena A, Kartal B, *et al.* 2005. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2): 1066–1071
- Hong Y G, Li M, Cao H L, *et al.* 2011. Residence of habitat-specific anammox bacteria in the deep-sea subsurface sediments of the South China Sea: analyses of marker gene abundance with physical chemical parameters [J]. *Microbial Ecology*, 62(1): 36–47
- Hu B L, Zheng P, Tang C J, *et al.* 2010. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors [J]. *Water Research*, 44(17): 5014–5020
- Isaka K, Date Y, Sumino T, *et al.* 2006. Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtrated reactor [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 70(1): 47–52
- Jetten M S M, Camp H J M, Keltjens J T M, *et al.* 2008. Two impossible microbes with global implications: the nitrite-dependent anaerobic oxidation of methane and ammonium [A] // Drake H L, Liu S J, Liu H L. *Microbes and the Environment: Perspective and Challenges* [C]. Beijing: Science Press. 15–22
- Jetten M S M, Strous M, van de Pas-Schoonen K T, *et al.* 1998. The anaerobic oxidation of ammonium [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 22(5): 421–437
- Joss A, Salzgeber D, Eugster J, *et al.* 2009. Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitrification and anammox in one SBR [J]. *Environmental Science & Technology*, 43(14): 5301–5306
- Kartal B, Rattray J, van Niftrik L A, *et al.* 2007. *Candidatus*

- "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 30(1): 39-49
- Kartal B, van Niftrik L, Rattray J, *et al.* 2008. Candidatus 'Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 63(1): 46-55
- Kartal B, Kuenen J G, van Loosdrecht M C M. 2010. Sewage treatment with anammox [J]. *Science*, 328(5979): 702-703
- Kojima H, Tsutsumi M, Ishikawa K, *et al.* 2012. Distribution of putative denitrifying methane oxidizing bacteria in sediment of a freshwater lake, Lake Biwa [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(4): 233-238
- Kuypers M M M, Sliekers A O, Lavik G, *et al.* 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea [J]. *Nature*, 422(6932): 608-611
- Lackner S, Terada A, Smets B F. 2008. Heterotrophic activity compromises autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: Results of a modeling study [J]. *Water Research*, 42(4/5): 1102-1112
- Lam P, Jensen M M, Lavik G, *et al.* 2007. Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(17): 7104-7109
- Li H, Chen S, Mu B Z, *et al.* 2010. Molecular detection of anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria in high-temperature petroleum reservoirs [J]. *Microbial Ecology*, 60(4): 771-783
- Liang Z, Liu J X, Li J. 2009. Decomposition and mineralization of aquatic humic substances (AHS) in treating landfill leachate using the Anammox process [J]. *Chemosphere*, 74(10): 1315-1320
- Liu S T, Gong Z, Yang F L, *et al.* 2008a. Combined process of urea nitrogen removal in anaerobic Anammox co-culture reactor [J]. *Bioresource Technology*, 99(6): 1722-1728
- Liu S T, Yang F L, Gong Z, *et al.* 2008b. Application of anaerobic ammonium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal [J]. *Bioresource Technology*, 99(15): 6817-6825
- Luesken F A, Sánchez J, van Alen T A, *et al.* 2011a. Simultaneous nitrite-dependent anaerobic methane and ammonium oxidation processes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(19): 6802-6807
- Luesken F A, Zhu B L, van Alen T A, *et al.* 2011b. *pmoA* primers for detection of anaerobic methanotrophs [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(11): 3877-3880
- Meyer R L, Risgaard-Petersen N, Allen D E. 2005. Correlation between anammox activity and microscale distribution of nitrite in a subtropical mangrove sediment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10): 6142-6149
- Molinuevo B, Cruz Garcia M, Karakashev D, *et al.* 2009. Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: Effect of organic matter content on process performance [J]. *Bioresource Technology*, 100(7): 2171-2175
- Moore T A, Xing Y P, Lazenby B, *et al.* 2011. Prevalence of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in contaminated groundwater [J]. *Environmental Science & Technology*, 45(17): 7217-7225
- Mulder A, Vandegraaf A A, Robertson L A, *et al.* 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 16(3): 177-184
- Nielsen M, Bollmann A, Sliekers O, *et al.* 2005. Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 51(2): 247-256
- Philips S, Wyffels S, Sprengers R, *et al.* 2002. Oxygen-limited autotrophic nitrification/denitrification by ammonia oxidisers enables upward motion towards more favourable conditions [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4/5): 557-566
- Raghoebarsing A A, Pol A, van de Pas-Schoonen K T, *et al.* 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification [J]. *Nature*, 440(7086): 918-921
- Rich J J, Dale O R, Song B, *et al.* 2008. Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in Chesapeake Bay sediments [J]. *Microbial Ecology*, 55(2): 311-320
- Rothrock M J Jr, Vanotti M B, Szögi A A, *et al.* 2011. Long-term preservation of anammox bacteria [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(1): 147-157
- Rysgaard S, Glud R N, Risgaard-Petersen N, *et al.* 2004. Denitrification and anammox activity in Arctic marine sediments [J]. *Limnology and Oceanography*, 49(5): 1493-1502
- Schalk J, Oustad H, Kuenen J G, *et al.* 1998. The anaerobic oxidation of hydrazine: a novel reaction in microbial nitrogen metabolism [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 158(1): 61-67
- Schmid M, Twachtman U, Klein M, *et al.* 2000. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 23(1): 93-106
- Schmid M, Walsh K, Webb R, *et al.* 2003. Candidatus "Scalindua brodae", sp. nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(4): 529-538
- Schmidt I, Bock E. 1998. Anaerobic ammonia oxidation by cell-free extracts of *Nitrosomonas eutropha* [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 73(3): 271-278
- Shen L D, Hu A H, Jin R C, *et al.* 2012. Enrichment of anammox bacteria from three sludge sources for the startup of monosodium glutamate industrial wastewater treatment system [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 199-200: 193-199
- Siegrist H, Salzgeber D, Eugster J, *et al.* 2008. Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N-removal [J]. *Water Science & Technology*, 57(3): 383-388
- Sliekers A O, Derwort N, Campos-Gomez J L, *et al.* 2002. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. *Water Research*, 36(10): 2475-2482
- Sliekers A O, Haaijer S, Schmid M, *et al.* 2004. Nitrification and Anammox with urea as the energy source [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(3): 271-278

- Smith R L, Howes B L, Garabedian S P. 1991. In situ measurement of methane oxidation in groundwater by using natural-gradient tracer tests [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7): 1997–2004
- Strous M, van Gerven E, Kuenen J G, *et al.* 1997. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6): 2446–2448
- Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al.* 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(5): 589–596
- Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, *et al.* 1999a. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. *Nature*, 400(6743): 446–449
- Strous M, Kuenen J G, Jetten M S M. 1999b. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7): 3248–3250
- Strous M, Jetten M S M. 2004. Anaerobic oxidation of methane and ammonium [J]. *Annual Review of Microbiology*, 58: 99–117
- Strous M, Pelletier E, Mangenot S, *et al.* 2006. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome [J]. *Nature*, 440(7085): 790–794
- Sumino T, Isaka K, Ikuta H, *et al.* 2006. Nitrogen removal from wastewater using simultaneous nitrate reduction and anaerobic ammonium oxidation in single reactor [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102(4): 346–351
- Tal Y, Watts J E M, Schreier H J. 2006. Anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and associated activity in fixed-film biofilters of a marine recirculating aquaculture system [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4): 2896–2904
- Tang C J, Zheng P, Wang C H, *et al.* 2010. Suppression of anaerobic ammonium oxidizers under high organic content in high-rate Anammox UASB reactor [J]. *Bioresource Technology*, 101(6): 1762–1768
- Tang C J, Zheng P, Chen T T, *et al.* 2011a. Enhanced nitrogen removal from pharmaceutical wastewater using SBA-ANAMMOX process [J]. *Water Research*, 45(1): 201–210
- Tang C J, Zheng P, Wang C H, *et al.* 2011b. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge [J]. *Water Research*, 45(1): 135–144
- Thamdrup B. 2012. New pathways and processes in the global nitrogen cycle [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1): 407–428
- Toh S K, Ashbolt N J. 2002. Adaptation of anaerobic ammonium-oxidising consortium to synthetic coke-ovens wastewater [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(2/3): 344–352
- Tsushima I, Ogasawara Y, Kindaichi T, *et al.* 2007. Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors [J]. *Water Research*, 41(8): 1623–1634
- van de Vossenberg J, Woebken D, Maalcke W J, *et al.* 2013. The metagenome of the marine anammox bacterium ‘*Candidatus Scalindua profunda*’ illustrates the versatility of this globally important nitrogen cycle bacterium [J]. *Environmental Microbiology*, 15(5): 1275–1289
- van der Star W R L, Abma W R, Blommers D, *et al.* 2007. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam [J]. *Water Research*, 41(18): 4149–4163
- van der Star W R L, Miclea A I, van Dongen U G J M, *et al.* 2008. The membrane bioreactor: a novel tool to grow anammox bacteria as free cells [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 101(2): 286–294
- Vandegraaf A A, Mulder A, De Bruijn P, *et al.* 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4): 1246–1251
- Wang Y, Zhu G B, Harhangi H R, *et al.* 2012. Co-occurrence and distribution of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane-oxidizing bacteria in a paddy soil [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 336(2): 79–88
- Ward B B, Glover H E, Lipschultz F. 1989. Chemoautotrophic activity and nitrification in the oxygen minimum zone off Peru [J]. *Deep-Sea Research Part A-Oceanographic Research Papers*, 36(7): 1031–1051
- Woebken D, Lam P, Kuypers M M M, *et al.* 2008. A microdiversity study of anammox bacteria reveals a novel *Candidatus Scalindua* phylotype in marine oxygen minimum zones [J]. *Environmental Microbiology*, 10(11): 3106–3119
- Yamamoto T, Takaki K, Koyama T, *et al.* 2008. Long-term stability of partial nitrification of swine wastewater digester liquor and its subsequent treatment by Anammox [J]. *Bioresource Technology*, 99(14): 6419–6425
- Yang J, Jiang H C, Wu G, *et al.* 2012. Co-occurrence of nitrite-dependent anaerobic methane oxidizing and anaerobic ammonia oxidizing bacteria in two Qinghai-Tibetan saline lakes [J]. *Frontiers of Earth Science*, 6(4): 383–391
- Yoshinaga I, Amano T, Yamagishi T, *et al.* 2011. Distribution and diversity of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria in the sediment of a eutrophic freshwater lake, Lake Kitauro, Japan [J]. *Microbes and Environments*, 26(3): 189–197
- 郑平, 徐向阳, 胡宝兰. 2004. 新型生物脱氮理论与技术 [M]. 北京: 科学出版社
- Zhu B L, Sanchez J, van Alen T A, *et al.* 2011a. Combined anaerobic ammonium and methane oxidation for nitrogen and methane removal [J]. *Biochemical Society Transactions*, 39(6): 1822–1825
- Zhu G B, Jetten M S M, Kuschek P, *et al.* 2010. Potential roles of anaerobic ammonium and methane oxidation in the nitrogen cycle of wetland ecosystems [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(4): 1043–1055
- Zhu G B, Wang S Y, Feng X J, *et al.* 2011b. Anammox bacterial abundance, biodiversity and activity in a constructed wetland [J]. *Environmental Science & Technology*, 45(23): 9951–9958