

傅慧敏,白继春,刘文科,等.急性 Cu(II)与 Cr(VI)对 Anammox 脱氮及微生物群落的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3020-3027.

Fu H M, Bai J C, Liu W K, et al. Acute effects of Cu(II) and Cr(VI) on anammox nitrogen removal performance and microbial community structure [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3020-3027.

急性 Cu(II)与 Cr(VI)对 Anammox 脱氮及微生物群落的影响

傅慧敏¹,白继春¹,刘文科¹,陈猷鹏²,程顺利³,邢崇阳^{1,4*} (1.重庆工商大学环境与资源学院,重庆 400067; 2.重庆大学,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045; 3.河南省科学院,河南 郑州 450046; 4.国家电投集团远达环保工程有限公司,重庆 401122)

摘要: 本文研究了高浓度重金属离子 Cu(II)和 Cr(VI)对厌氧氨氧化(anammox)污泥脱氮效率、微生物群落和菌群代谢的短期急性影响。结果表明,12mg/L Cu(II)短期会对 anammox 颗粒污泥的脱氮性能产生抑制作用,暂时抑制脱氮能力。8mg/L Cr(VI)会对 anammox 颗粒脱氮性能产生显著的抑制,反应几乎停滞。高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)的添加导致反应器中 anammox 菌 *Candidatus_Kuenenia* 分别下降 4.86%和 2.88%,因此得出高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)可能通过抑制 anammox 菌的活性进而抑制 anammox 颗粒的脱氮性能。菌群功能预测分析表明 anammox 群落可能通过提高细胞运动性、新陈代谢、细胞运动过程和信号以及异种生物降解和代谢等方面代谢活性来抵抗 Cu(II)和 Cr(VI)的压力。

关键词: 厌氧氨氧化; 重金属; 微生物群落; 高通量测序; 菌群代谢

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3020-08

Acute effects of Cu(II) and Cr(VI) on anammox nitrogen removal performance and microbial community structure. FU Hui-min¹, BAI Ji-chun¹, LIU Wen-ke¹, CHEN You-peng², CHENG Shun-li³, XING Chong-yang^{1,4*} (1.College of Environment and Resources, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China; 2.Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environments, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 3.Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450046, China; 4.SPIC Yuanda Environmental Protection Engineering Co., td., Chongqing 401122, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3020~3027

Abstract: This study evaluated the short-term, acute impacts of elevated Cu(II) and Cr(VI) concentrations on the nitrogen-removal efficiency, microbial community composition, and predicted metabolic responses of anammox granular sludge. Results showed that 12mg/L Cu(II) induced a temporary inhibition of anammox activity. In contrast, 8mg/L Cr(VI) caused a near-complete cessation of nitrogen removal. High concentrations of Cu(II) and Cr(VI) decreased the relative abundance of *Candidatus_Kuenenia* by 4.86% and 2.88%, respectively, indicating that heavy metals likely impair anammox performance by directly inhibiting key anammox bacteria. Functional-prediction analysis (PICRUSt2) suggested that, under Cu(II) and Cr(VI) stress, the anammox community upregulated pathways associated with cell motility, energy metabolism, chemotaxis, signal transduction, and xenobiotic biodegradation—presumably as adaptive responses to mitigate toxicity.

Key words: anammox; heavy metals; microbial community; high-throughput sequencing; microbial metabolism

与传统的生物脱氮过程相比,厌氧氨氧化(Anammox)具有无需有机碳源和氧气、运行成本低、占地面积小、污泥产量少,适合处理低 C/N 废水等优势。Anammox 虽被认为是最经济的生物脱氮工艺之一^[1],但 anammox 菌倍增周期长,反应器启动慢,运行效率易受水质波动,对环境条件高度敏感^[2]。

重金属在各种的工业废水和城市污水中广泛存在。当水体中存在重金属的浓度超过正常范围时会对水处理反应装置提出更高的要求。当 Anammox 工艺被用于处理高浓度的重金属废水时, anammox 菌群如何应对重金属离子的毒害作用,一直有待研

究^[3-5]。

微量金属虽为多种酶或辅酶的必需组分,在微量条件下可促进 anammox 活性,但当 Cu(II)浓度超过约 20~30mg/L 时,短期内即可引发显著抑制乃至细胞裂解,而在 0~1mg/L 低浓度范围内,Cu(II)又能将最大氮去除率提升近两倍^[6-9]。此外,适量的多金属组合(如 Fe(III)、Cu(II)、Ni(II))在 1~7mg/L 水平可

稿日期: 2024-11-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(42207243);重庆工商大学高层次人才研究项目(2456003);重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN202400811,KJQN202300813)

* 责任作者, 讲师, 2023091@ctbu.edu.cn

通过协同效应提高脱氮效率约 50%^[7]. 现有研究在不同反应器类型和污泥形态下得出的抑制阈值差异较大, 但多集中于性能指标变化, 鲜有将高通量测序和功能基因分析相结合, 深入揭示急性重金属胁迫下 anammox 微生物群落演替及其代谢响应机制^[10-11].

因此, 本研究采用重金属离子批次添加实验, 研究高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)急性胁迫对 anammox 颗粒污泥脱氮效率的短期影响; 基于 16S rRNA 高通量测序的方法, 探究重金属离子抑制作用条件下 anammox 颗粒污泥中菌落结构的变化; 旨在为 Anammox 工艺在处理含高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)重金属废水方面提供参考.

1 材料与方法

1.1 实验方法

为了探究 Cu(II), Cr(VI)对 anammox 脱氮效率的影响, 将 anammox 颗粒污泥与一系列浓度 Cu(II)、Cr(VI)与亚硝酸盐(NO_2^-)和氨(NH_4^+)进行孵育. 颗粒污泥来源于培育 2 年的 anammox 膨胀颗粒污泥床(EGSB)反应器, 有效容积为 11.0L, 水力停留时间(HRT)控制在 7.6h, 颗粒的挥发性固相(VS)和 VS/TS 比分别为 24.49g/L 和 0.80. 反应器进水氮负荷速率(NLR)设定为 10kg N/(m³·d), 总氮浓度为 400~480mg/L. 氨氮和总氮的去除率分别保持在 95%和 85%左右. 选取污泥颗粒粒径为 0.5~1mm. 通过对以往的研究进行调研, 确定实验所用 Cu(II)和 Cr(VI)浓度^[12-15]. 本节批次实验总共设置 3 组, 分别为不添加 Cu(II)离子组(CK)、添加 Cu(II)离子组(CU)和添加 Cr(VI)离子组(CR), 每个组别设置 3 个平行实验. 在实验开始前对 CU 组和 CR 组进行为期 7d 的适应性实验. 同时分别在不同浓度的 Cu(II)和 Cr(VI)条件下培养 3d, CU 组实验总共培养时间为 21d, CR 组实验总共培养时间为 19d. 颗粒污泥挥发性悬浮固体(VSS)浓度为 22g/L. 实验前, 用去离子水冲洗颗粒污泥 4~5 次. 所有反应瓶的进水 NO_2^- 和 NH_4^+ 的初始浓度保持一致. 采用文献报道的人工合成废水来培养 anammox 菌^[16]. 其中亚硝氮和氨氮比例约为 1.2:1, 进水亚硝氮浓度和氨氮的浓度为 240 和 200mg/L. 在反应开始前, 用 N_2 曝气血清瓶的液相约 15min, 以消除液相和气相中的氧气. 然后用

丁基橡胶塞子封住血清瓶, 在 90r/min 左右的恒温摇床中搅拌, 温度保持在(32±0.5)°C. 利用 HCO_3^- 缓冲系统, 使反应器中溶液 pH 值始终保持在 8.0~8.5. 用带针头注射器每 24h 从血清瓶中抽取适量的水样, 将采集的水样在低温下保存(4°C). 水样测试均按照国标法测定. 其中, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 分别采用纳氏试剂分光光度法和 N-(1-萘)-乙二胺光度法进行测定^[17].

1.2 16S rRNA 高通量测序方法

反应器运行结束后, 将实验用的 anammox 颗粒污泥进行研磨处理, 添加 PBS 缓冲液, 然后于-80°C 冰箱低温保存. 采用生工 DNA 分离试剂盒进行 DNA 提取, 使用生工 DNA 试剂盒对原始 DNA 进行定量, 然后扩增 DNA 样本, 引物序列使用靶向 16S rRNA 的 V3~V4 高变区的 338F_806R 测序区域(表 1), 后续通过干冰运输送至上海美吉生物公司进行高通量测序分析, 将测序后采集的数据采用贝叶斯算法对相似水平 97%的 OTU 代表序列进行分类学分析, 主要包括 α 多样性分析、物种多样性分析、菌群差异分析、物种分类树分析、 β 多样性分析和功能预测分析.

表 1 DNA 扩增所用的特异性引物及核苷酸序列

Table 1 Specific primers and nucleotide sequences used in DNA amplification

测序区域	引物名称	引物序列
338F_806R	338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG
	806R	GGACTACHVGGGTWCTAAT

1.3 功能预测分析步骤

对获得的原始测序数据进行质量控制, 包括去除低质量序列和接头序列, 使用 Trimmomatic 或 Cutadapt 等软件进行处理. 通过 DADA2 或 QIIME2 进行序列去噪和操作性单元(OTU)或序列变体(ASV)的生成. 将处理后的序列进行物种注释(如使用 Greengenes 或 SILVA 数据库). 功能预测分析基于微生物群落组成, 使用 PICRUSt2 工具进行预测. 通过将 16S rRNA 序列与已知的基因功能数据库(如 KEGG、COG 等)进行比对, 预测样品中的微生物潜在功能特征. 功能预测结果经过统计分析(如差异分析或多维尺度分析)以揭示不同样品组间的功能特征差异.

2 结果与讨论

2.1 Cu(II)和 Cr(VI)对 anammox 颗粒脱氮效能的影响

如图 1(a)所示,当 Cu(II)浓度分别为 2,4,8mg/L 时,反应器中的亚硝氮浓度和氨氮浓度与对照组相比偏低;当 Cu(II)浓度为 12mg/L 时,反应器中的亚硝氮浓度和氨氮浓度与对照组相比偏高,且当 Cu(II)浓度为 12mg/L 时,亚硝氮的去除率从对照组的 86.68%下降为 31.03%,抑制率达到 64.20%。以上结果表明低浓度 Cu(II)对 anammox 的脱氮效率有促进作用,高浓度 Cu(II)对 anammox 的脱氮效率有抑制作用。以往也研究发现^[18],当 Cu(II)浓度在 1~30mg/L 范围,随着金属离子浓度升高,脱氮效能逐渐下降,浓度越高,对 anammox 污泥活性的抑制效果越明显。

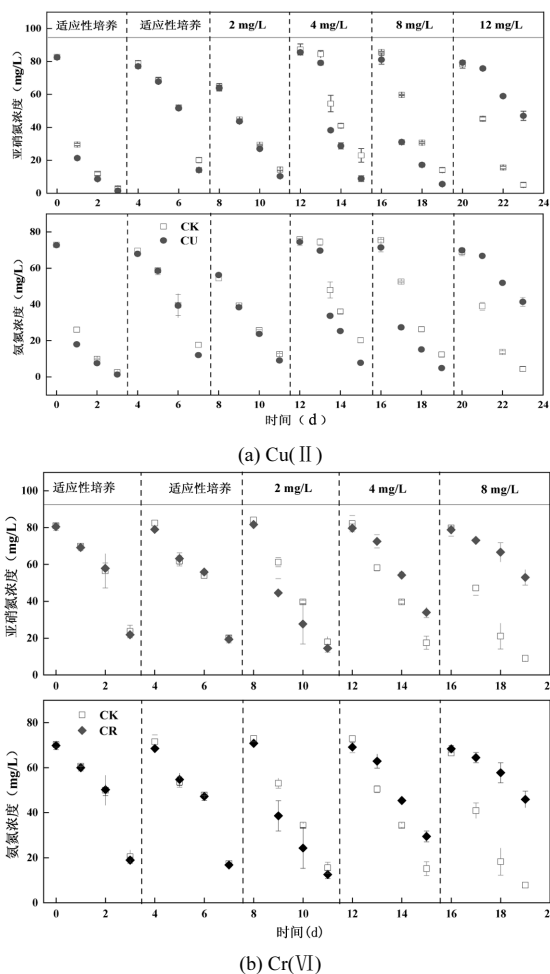


图 1 Cu(II)和 Cr(VI)对 anammox 颗粒脱氮效率的影响
Fig.1 Effect of Cu(II) and Cr(VI) on nitrogen removal efficiency of anammox granules

如图 1(b)所示,当 Cr(VI)的浓度为 2mg/L 时,反应器中的亚硝氮浓度和氨氮浓度与对照组相比偏低,当 Cr(VI)浓度分别为 4,8mg/L 时,反应器中的亚硝氮浓度和氨氮浓度与对照组相比偏高,且当 Cr(VI)浓度为 8mg/L 时,亚硝氮的去除率由对照组的 75.61%下降为 2.5%,抑制率达到 96.69%。以上结果表明低浓度 Cr(VI)对 anammox 颗粒的脱氮效率有促进作用,高浓度 Cr(VI)与高浓度 Cu(II)相比,对 anammox 的脱氮效率有着更强的抑制作用。Yu 等^[19]研究发现当 Cr(VI)浓度从 0mg/L 升至 2mg/L 时,anammox 污泥颗粒的脱氮效率有所提升,但当 Cr(VI)浓度大于 4mg/L 时,anammox 污泥颗粒的脱氮效率降低。

2.2 Cu(II)和 Cr(VI)胁迫条件下 anammox 颗粒内部微生物群落结构变化

由图 2 可知,对照组、CU 组和 CR 组的微生物群落结构差异较大。在科水平上,3 组样品中共有的菌种有 84 个科,而对照组独有的菌种有 6 个科,CU 组独有的菌种有 11 个科,CR 组独有的菌种有 14 个科(图 2(a)).通过群落 Circos 图(属水平)的分析(图 2(b))可以看出,3 组污泥颗粒样品中优势菌属主要有 *Candidatus_Kuenenia*、*Denitratisom*、*OBL13* 等。结合属水平上的系统进化树(图 3(c))结果可知,浮霉菌门中主要的 anammox 菌属为 *Candidatus_Kuenenia*,其中 CK 组的丰度为 35.81%,CU 组比 CK 组低 2.76%,CR 组比 CK 组低 4.67%。变形菌门在反应器中的细菌种类最多,主要分类为 *Denitratisoma*、*Castellaniella*、*Comamonas*、*Thermomonas* 等,上述变形菌门主要进行反硝化反应与 anammox 菌竞争 NO_3^- 和 NO_2^- ,不利于 anammox 菌脱氮^[20-23]。在 Cu(II)组和 Cr(VI)组的变形菌门种类多,这也可能与 anammox 颗粒独特厌氧环境有关。绿弯菌门含有 8 个菌属,含量较高的为 *norank_A4b*、*OLB15*、*OLB13*、*norank_SBR1031*。*norank_SBR1031* 是一种厌氧异养细菌,能够帮助去除 anammox 颗粒污泥在细胞分泌或细胞裂解过程中产生的有机物质,从而进一步稳定 anammox 颗粒污泥结构^[24]。*norank_A4b*、*OLB15*、*OLB13* 等属于反硝化菌,这些细菌往往与 anammox 菌共存,二者在功能上相辅相成,这与之前的报道相符。Lawson 等^[25]的研究表明,anammox 菌能够固定 CO_2 ,合成氨基酸,形成胞外聚合物,而绿弯菌门的细

有机物对它们的影响.此外,面对重金属离子的胁迫,*Limnobacter* 表现出了显著的耐受性.它们通过参与硫循环和促进硫酸盐的形成,有效地抵抗了重金属离子的污染^[32-34].

从图 3(d)可以得出,相比较对照组,CR 组的 *norank_c_SJA-28* 降低了 6.22%,与高浓度 Cu(II)造成的影响基本一致.CR 组的 *Candidatus_Kuenenia* 占 34.41%,相比对照组降低了 2.88%.该菌属主要进行 anammox 作用^[35],因此可以看出 CR 组的 anammox 反应活性降低,从而影响到 anammox 的脱氮效率降低.同时 CR 组的 *Thermomonas* 占 4.66%,相比对照组增加了 4.62%.该菌属具备将反

应器中的亚硝酸盐还原的能力,降低亚硝酸盐的积累,从而减轻亚硝酸盐对 anammox 菌系统胁迫^[23,36]. CR 组的 *Comamonas* 占 3.27%,相比对照组增加了 3.14%.该菌属主要进行硝化和反硝化反应,也可能是由于 anammox 活性降低,氮素积累诱导其丰度增加^[22].与高浓度 Cu(II)胁迫相似,高浓度的 Cr(VI)会促进反硝化菌的富集,抑制 anammox 菌的生长,导致整体亚硝氮和氨氮的降解速率变慢.Zhang 等^[37-38]研究发现在 20mg/L 的 Cd(II)浓度下胁迫 180d,anammox 脱氮系统中大部分反硝化菌丰度都有所增加.例如,*Denitratisoma*、*Ignavibacterium*、*Limnobacter* 等.

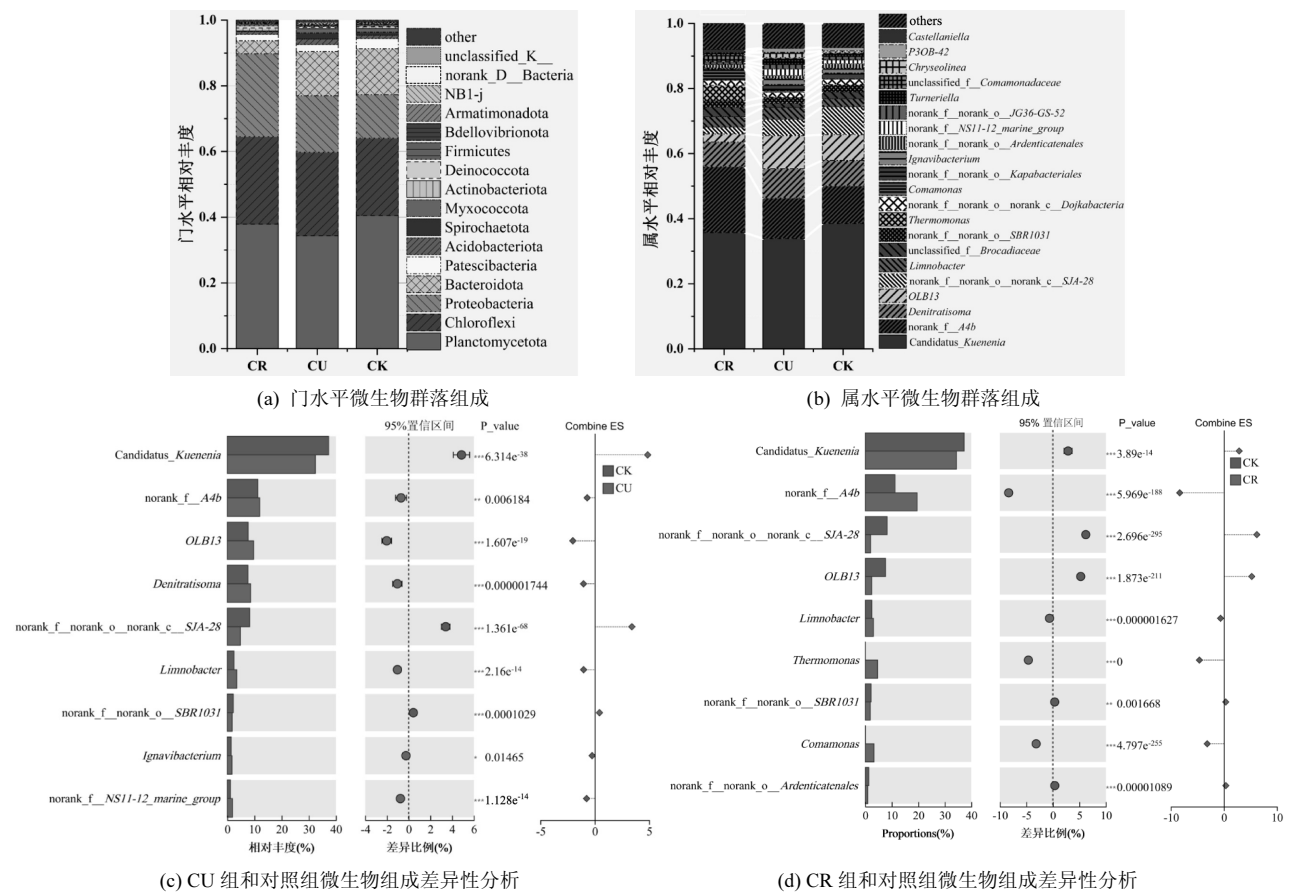


图 3 微生物群落种类组成和差异性分析

Fig.3 Microbial community species composition and difference were analyzed

2.3 Cu(II)和 Cr(VI)胁迫条件下 anammox 颗粒内部菌群的代谢通路变化

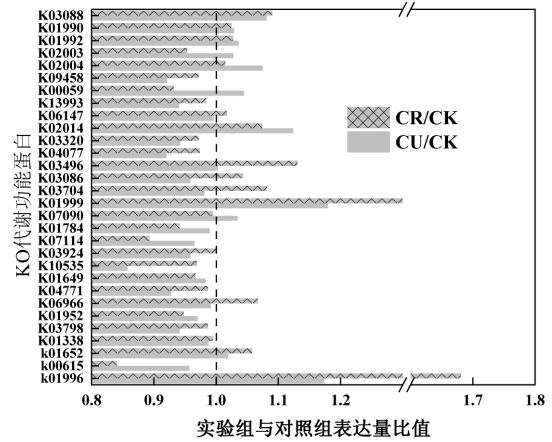
经过前期实验,可以看出添加高浓度的 Cu(II) (12mg/L)会对 anammox 活性产生抑制作用,但在该浓度下 anammox 菌并未完全失去活性,说明 anammox 系统可能通过某些方式在抵抗高浓度

Cu(II)的迫害.但添加高浓度的 Cr(VI)(8mg/L)会导致 anammox 菌几乎失去活性.因此进一步对 3 组反应器内的细菌群落 KEGG 和 KO 代谢功能差异进行探讨,主要包括代谢、膜转运、信号传递、细胞周期等相关细胞生化过程分析.图 4(a)显示,在 CU 组的蛋白含量相比对照组有着显著的增加,这些蛋白的丰

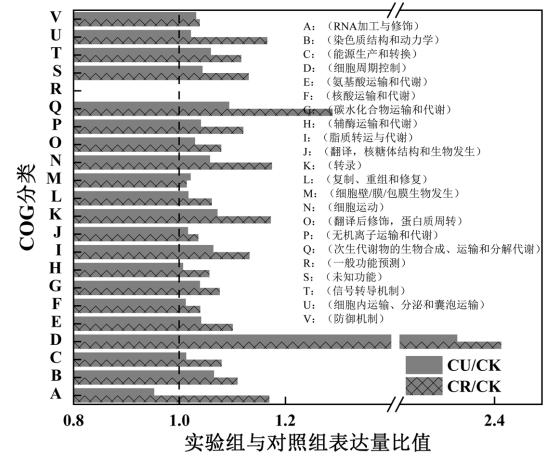
度从高到低为支链氨基酸转运系统 ATP 结合蛋白、支链氨基酸转运系统底物结合蛋白、铁复合物外膜受体蛋白等(分别对应图 4(a)中 K01999、K01995、K02014)。这些蛋白的主要作用是利用 ATP 产生的能量转运支链氨基酸穿过细胞膜和调节铁的存储利用和释放,从而影响细菌对铁的利用效率^[39-40]。CR 组此类的蛋白含量相比对照组也有着显著的增加,这些蛋白的丰度从高到低为支链氨基酸转运系统 ATP 结合蛋白、支链氨基酸转运系统底物结合蛋白、染色体分配蛋白等(分别对应图 4(a)中的 K01999、K01995、K03496)。这些蛋白主要作用是利用 ATP 产生的能量转运支链氨基酸穿过细胞膜和染色体分配蛋白能够保证细胞分裂过程中,染色体能够正确均匀的分配到新形成的细胞中^[40-41]。上述的这些蛋白在细胞内的代谢、物质运输、细胞分裂有着重要的作用,是细胞生命活动不可或缺的组成部分。因此,从 CU 组和 CR 组的功能代谢结果可以得出当 anammox 系统在遭受重金属离子的迫害时,anammox 群落通过调节细胞内蛋白质的含量来抵抗 Cu(II)和 Cr(VI)的迫害,这是一种细菌在抵抗高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)压力的一种方式。

从图 4(b)中可以看出,实验组中(CU 组和 CR 组)有关细胞周期控制、细胞分裂和染色体分裂、次级代谢物生物合成,转运和代谢、RNA 加工修饰、转录、胞内转运、分泌和小泡运输等相比对照组表达量均有所增加。Ba 等^[42]报道在趋化反应里,相比其他重金属,Cu(II)是唯一的化学引诱金属,此外,还有发现镉(Cd)还能促进运动性。Chatterjee 等^[43]研究发现重金属离子如镉(Cd)、银(Ag)和汞(Hg)能够引起遗传物质的变性、中断细胞分裂、破坏细胞膜、抑制生长和导致细胞溶解。Fu 等^[44]研究发现受铜胁迫时,细菌通过信号转导途径调节与铜耐受性相关的基因表达,如 CusS 和 CusR 的表达,以及与生物膜形成相关的基因表达。当 Cu(II)外排泵(如 CusCBA)的表达和活性受到信号转导途径的调控,这些泵通过质子梯度将 Cu(II)从细胞内排出。上述文献都是研究细胞在面对重金属离子胁迫时,微观层面的调控过程。从微观层面上来看,当细菌在面对重金属离子胁迫时,主要表现在增强细胞运动、细胞过程和信号转导等方面的基因来抵抗重金属胁迫,通过离子通道外排,加快细胞周期,RNA 转录

加强等方面来抵抗重金属离子的胁迫,都是通过主动抵抗来面对重金属离子的胁迫。



(a) 实验组和对照组 KO 代谢功能差异



(b) 实验组和对照组 COG 功能差异

图 4 菌群的代谢通路变化

Fig.4 Metabolic pathway changes in the microbiota

因此,CU 组和 CR 组在受到高浓度的重金属离子的迫害时通过增加上述相应蛋白的表达,以此来抵御重金属离子的迫害从而保证细胞的正常生长。同时还发现细胞在受到 Cu(II)和 Cr(VI)的迫害时会通过调节胞内的一些未知蛋白来抵抗高浓度重金属离子的迫害。

3 结论

3.1 当反应器 Cu(II)浓度为 12mg/L 时,Cu(II)的存在会对 anammox 颗粒污泥的脱氮性能产生抑制作用,反应仍可进行。当 Cr(VI)浓度为 8mg/L 时,Cr(VI)会对 anammox 颗粒脱氮性能产生显著的抑制,反应几乎停滞。

3.2 高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)的添加导致反应器中

anammox 菌属 *Candidatus_Kuenenia* 分别下降 4.86%和 2.88%,由此推测高浓度 Cu(II)和 Cr(VI)可能通过抑制 anammox 菌的活性进而抑制 anammox 颗粒的脱氮性能。

3.3 anammox 群落可能通过提高细胞运动性、新陈代谢、细胞运动过程和信号以及异种生物降解和代谢等方面代谢活性来抵抗 Cu(II)和 Cr(VI)的压力。

参考文献:

- [1] Kartal B, Maalcke W J, De Almeida N M, et al. Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation [J]. *Nature*, 2011,479(7371):127-130.
- [2] 傅慧敏,冷济轩,翁 勋,等.出水回流对 Anammox 颗粒特性及其微生物群落的影响 [J]. *中国环境科学*, 2022,42(4):1663-1671.
Fu H, Leng J, Weng X, et al. The influence of effluent reflux on the particle characteristics and microbial community of Anammox [J]. *China Environmental Science*, 2022,42(4):1663-1671.
- [3] Sun F, Sun W L. A simultaneous removal of beryllium and ammonium-nitrogen from smelting wastewater in bench-and pilot-scale biological aerated filter [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 210:263-270.
- [4] Katsou E, Malamis S, Haralambous K J. Industrial wastewater pre-treatment for heavy metal reduction by employing a sorbent-assisted ultrafiltration system [J]. *Chemosphere*, 2011,82(4):557-564.
- [5] Puyol D, Sanz J L, Rodriguez J J, et al. Inhibition of methanogenesis by chlorophenols: a kinetic approach [J]. *New Biotechnology*, 2012, 30(1):51-61.
- [6] Yang G F, Ni W M, Wu K, et al. The effect of Cu (II) stress on the activity, performance and recovery on the anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) process [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013,226:39-45.
- [7] Chen H, Yu J J, Jia X Y, et al. Enhancement of anammox performance by Cu(II), Ni(II) and Fe(III) supplementation [J]. *Chemosphere*, 2014,117: 610-616.
- [8] Zhang Q Q, Zhang Z Z, Guo Q, et al. Variation in the performance and sludge characteristics of anaerobic ammonium oxidation inhibited by copper [J]. *Separation and Purification Technology*, 2015,142:108-115.
- [9] 李 祥,黄 勇,刘福鑫,等.铜、锌离子对厌氧氨氧化污泥脱氮效能的影响 [J]. *中国环境科学*, 2014,34(4):924-929.
Li X, Huang Y, Liu F, et al. The influence of copper and zinc ions on the nitrogen removal efficiency of anaerobic ammonium oxidation sludge [J]. *China Environmental Science*, 2014,34(4):924-929.
- [10] Altaş L. Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 162(2/3):1551-1556.
- [11] Kieu H T Q, Müller E, Horn H. Heavy metal removal in anaerobic semi-continuous stirred tank reactors by a consortium of sulfate-reducing bacteria [J]. *Water Research*, 2011,45(13):3863-3870.
- [12] Aktan C K, Yapsakli K, Mertoglu B. Short- and long-term effects of copper on anammox under gradually increased copper concentrations [J]. *Biodegradation*, 2021,32:273-286.
- [13] Yang G F, Ni W M, Wu K, et al. The effect of Cu (II) stress on the activity, performance and recovery on the anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) process [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013,226:39-45.
- [14] Yu C, Li L S, Jiang C K, et al. Insights into Anammox activity inhibition under trivalent and hexavalent chromium stresses [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019,147:118-125.
- [15] Zhang B, Wang J, Feng S, et al. The roles of different Fe-based materials in alleviating the stress of Cr (VI) on anammox activity: Performance and mechanism [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,475:145739.
- [16] Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. *Nature*, 1999,400(6743):446-449.
- [17] 国家环境保护局.水和废水监测分析方法(第四版) [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002:258-282.
State Environmental Protection Administration. *Methods for monitoring and analysis of water and wastewater (4th Edition)* [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:258-282.
- [18] 荣宏伟,王 勤,张朝升,等. Cu²⁺, Zn²⁺ 对生物脱氮系统的影响 [J]. *环境工程学报*, 2009,3(4):617-620.
Rong H W, Wang Q, Zhang C S, et al. Effects of Cu²⁺ and Zn²⁺ on biological nitrogen removal systems [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2009,3(4):617-620.
- [19] Yu C, Li L S, Jiang C K, et al. Insights into Anammox activity inhibition under trivalent and hexavalent chromium stresses [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019,147:118-125.
- [20] Cao S, Du R, Li B, et al. High-throughput profiling of microbial community structures in an ANAMMOX-UASB reactor treating high-strength wastewater [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016,100:6457-6467.
- [21] Du R, Cao S, Li B, et al. Performance and microbial community analysis of a novel DEAMOX based on partial-denitrification and anammox treating ammonia and nitrate wastewaters [J]. *Water Research*, 2017,108:46-56.
- [22] Wu Y, Zaiden N, Cao B. The core- and pan-genomic analyses of the genus *Comamonas*: from environmental adaptation to potential virulence [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018,9:3096.
- [23] Wang D, Li T, Huang K, et al. Roles and correlations of functional bacteria and genes in the start-up of simultaneous anammox and denitrification system for enhanced nitrogen removal [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,655:1355-1363.
- [24] Sekiguchi Y, Yamada T, Hanada S, et al. *Anaerolinea thermophila* gen. nov., sp. nov. and *Caldilinea aerophila* gen. nov., sp. nov., novel filamentous thermophiles that represent a previously uncultured lineage of the domain Bacteria at the subphylum level [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003,53(6):1843-1851.
- [25] Lawson C E, Wu S, Bhattacharjee A S, et al. Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules [J]. *Nature Communications*, 2017,8(1):15416.

- [26] Li B, Liu C, Bai J, et al. Strategy to mitigate substrate inhibition in wastewater treatment systems [J]. *Nature Communications*, 2024,15(1): 7920.
- [27] Allegue T, Arias A, Fernandez-Gonzalez N, et al. Enrichment of nitrite-dependent anaerobic methane oxidizing bacteria in a membrane bioreactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018,347:721-730.
- [28] Chen G, Lin L, Wang Y, et al. Unveiling the interaction mechanisms of key functional microorganisms in the partial denitrification-anammox process induced by COD [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2023,17(8):103.
- [29] Xia Z, Wang Q, She Z, et al. Nitrogen removal pathway and dynamics of microbial community with the increase of salinity in simultaneous nitrification and denitrification process [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,697:134047.
- [30] 张立羽, 乔雪姣, 余珂. 丙酸盐对厌氧氨氧化除氮性能及群落结构的影响 [J]. *北京大学学报(自然科学版)*, 2021,57(3):545-555.
- Zhang L Y, Qiao X J, Yu K. Effects of propionate on nitrogen removal performance and community structure of anammox [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2021,57(3):545-555.
- [31] Wang S, Yu H, Su Q, et al. Exploring the role of heterotrophs in partial nitrification-anammox process treating thermal hydrolysis process-anaerobic digestion reject water [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341:125762.
- [32] Wang C, Liu S, Xu X, et al. Achieving mainstream nitrogen removal through simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification process in an integrated fixed film activated sludge reactor [J]. *Chemosphere*, 2018,203:457-466.
- [33] Chen Y, Feng X, He Y, et al. Genome analysis of a *Limnobacter* sp. identified in an anaerobic methane-consuming cell consortium [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2016,3:257.
- [34] Wu C, Chen H, Lu Y, et al. Soil microbial community in lead smelting area and the role of sulfur-oxidizing bacteria [J]. *Journal of Central South University*, 2024,31(4):1050-1063.
- [35] Gao D, Wang X, Liang H, et al. Anaerobic ammonia oxidizing bacteria: ecological distribution, metabolism, and microbial interactions [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2018,12:1-15.
- [36] Donger W, Hongtao P, Naibiao S H I, et al. A pilot-scale study of hybrid system of biofilm and anoxic-oxic-anoxic process for enhanced nitrogen removal of municipal wastewater [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2022,16(3):837-845.
- [37] Zhang X, Chen Z, Ma Y, et al. Acute and persistent toxicity of Cd (II) to the microbial community of Anammox process [J]. *Bioresource Technology*, 2018,261:453-457.
- [38] Zhang Y Q, Sun Q, Zhao B H, et al. Response of anammox to long-term stress of Ni (II): Nitrogen removal, microbial products and microbial community [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2023,200: 109112.
- [39] Buchanan S K, Smith B S, Venkatramani L, et al. Crystal structure of the outer membrane active transporter FepA from *Escherichia coli* [J]. *Nature Structural Biology*, 1999,6(1):56-63.
- [40] How S S, Nathan S, Lam S D, et al. ATP-binding cassette (ABC) transporters: structures and roles in bacterial pathogenesis [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 2024:1-18.
- [41] Kawalek A, Wawrzyniak P, Bartosik A A, et al. Rules and exceptions: the role of chromosomal ParB in DNA segregation and other cellular processes [J]. *Microorganisms*, 2020,8(1):105.
- [42] Ba Q, Zhou J, Li J, et al. Mutagenic characteristics of six heavy metals in *Escherichia coli*: the commonality and specificity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(19):13867-13877.
- [43] Chatterjee S, Kumari S, Rath S, et al. Diversity, structure and regulation of microbial metallothionein: metal resistance and possible applications in sequestration of toxic metals [J]. *Metallomics*, 2020, 12(11):1637-1655.
- [44] Fu B, Sengupta K, Genova L A, et al. Metal-induced sensor mobilization turns on affinity to activate regulator for metal detoxification in live bacteria [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020,117(24):13248-13255.

作者简介: 傅慧敏(1992-),男,河南林州人,助理研究员,博士,主要污水生物处理研究.发表论文 10 余篇.fhm2022@ctbu.edu.cn.