

赫梓轩,陈诗,徐一峰,等.污水处理系统中全程氨氧化细菌的研究进展[J].中国环境科学,2025,45(5):2546-2557.

He Z X, Chen S, Xu Y F, et al. Progress of complete ammonia oxidization throughout the wastewater treatment system [J]. China Environmental Science, 2025,45(5):2546-2557.

污水处理系统中全程氨氧化细菌的研究进展

赫梓轩¹,陈诗^{1*},徐一峰¹,梁川州¹,彭来^{1,2**} (1.武汉理工大学关键非金属矿产资源绿色利用教育部重点实验室,湖北武汉430070; 2.武汉理工大学深圳研究院,广东深圳518000)

摘要: 完全氨氧化细菌(comammox)的发现为污水处理系统硝化工艺提质增效提供了全新思路.它的代谢途径与功能基因具备实现污水高效脱氮减碳的潜力.但如何实现comammox的高效富集尚无定论,comammox在硝化工艺运行中对氨氮去除与氧化亚氮(N₂O)产生的贡献有待进一步探究.综述了高效富集comammox的技术手段,并探讨了环境底物浓度、溶解氧、运行工艺和温度等因素对comammox选择性富集的影响.以氯酸盐作为comammox的专性抑制剂,结合1-辛炔,构建双抑制剂实验体系,能够阐明污水处理系统内comammox的硝化贡献与N₂O释放能力.

关键词: 完全氨氧化细菌(comammox); 硝化作用; 污水处理; N₂O

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)05-2546-12

Progress of complete ammonia oxidization throughout the wastewater treatment system. HE Zi-xuan¹, CHEN Shi^{1*}, XU Yi-feng¹, LIANG Chuan-zhou¹, PENG Lai^{1,2**} (1.Hubei Key Laboratory of Mineral Resources Processing and Environment, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2.Shenzhen Research Institute of Wuhan University of Technology, Shenzhen 518000, China). *China Environmental Science*, 2025,45(5): 2546~2557

Abstract: The discovery of complete ammonia-oxidizing bacteria (comammox) provided a novel direction for improving nitrification efficiency in wastewater treatment systems. The potential of their metabolic pathways and functional genes for efficient nitrogen and carbon removal from wastewater was demonstrated. However, strategies to achieve robust comammox enrichment remained controversial. Further investigations were required to characterize the specific contributions to ammonia removal and nitrous oxide (N₂O) production during the nitrification process. The technical strategies for efficient comammox enrichment and the impacts of key factors including environmental substrate concentration, dissolved oxygen, operational processes, and temperature on the selective enrichment of comammox were summarized. Chlorate was employed as a specific inhibitor targeting comammox in combination with 1-octyne to construct a dual-inhibitor experimental system, which was capable of clarifying the nitrification contribution and N₂O emission potential of comammox in wastewater treatment systems.

Key words: complete ammonia oxidation bacteria (comammox); nitrification; wastewater treatment; N₂O

氮元素在自然界中分布广泛,不仅是生物体氨基酸的基本组成元素,也以无机盐的形式存在于水体、土壤和大气中.污水处理系统是氮循环的关键环节之一,负责将水中的有机氮和无机氮转化为气体形式的氮化合物并释放到大气中.这一复杂的生化过程主要通过硝化细菌和反硝化细菌的协同作用完成.传统的硝化作用一直被认为是由氨氧化和亚硝酸盐氧化两个过程完成^[1].第一步:氨氮(NH₄⁺)首先被氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)等硝化微生物氧化为亚硝态氮(NO₂⁻),这一过程中氨单加氧酶(AMO)和羟胺脱氢酶(HAO)发挥了重要作用.第二步:NO₂⁻被亚硝酸盐氧化细菌(NO₂)继续转化为硝态氮(NO₃⁻),该过程的主要功能酶是亚硝酸盐氧化还原酶(NXR)^[2].学术界广泛认可这多种微生物

的协同作用实现了硝化过程,而完全氨氧化细菌(comammox)的发现改变了传统的分步式硝化理念.comammox同时具备实现硝化作用的上述基础功能基因,它能够一步完成硝化作用,这为人们提供了全新见解.根据预测,comammox可能广泛存在于环境中^[3],但如何通过工程方法实现comammox的有效富集,分析污水处理系统中comammox对硝化作用的贡献,以及评估comammox在硝化过程中产生副产物氧化亚氮(N₂O)的能力,这些问题依旧没有定论.

基于此,本文综述了选择性富集comammox的

收稿日期: 2024-10-28

基金项目: 国家自然科学基金(52100061,42477068);深圳市科技创新委员会基础研究面上项目(JCYJ20230807121305010)

* 责任作者, 博士, shi.chen@whut.edu.cn; **教授, lai.peng@whut.edu.cn

成功案例,总结了不同环境底物浓度、溶解氧和运行工艺等运行参数下,实现 comammox 高效富集的潜在机理。为了量化 comammox 在硝化过程中的作用及其 N_2O 减排潜力,研究人员在土壤和自然水体中进行了双抑制剂实验。这些实验方法和发现为污水系统中 comammox 相关研究的量化实验提供了新思路,有助于填补污水体系中 comammox 硝化能力的研究空白。

1 Comammox 的研究进程与应用前景

2006 年,Costa 等^[3]根据动力学分析提出了完全氨氧化的可能性。他们认为在理想的代谢途径下, NH_4^+ 可以通过更短的路径在功能微生物体内完全氧化至 NO_3^- 。这一过程可释放更多能量,由此赋予功能微生物更高的比生长速率。2015 年 Daims 等^[4]与 Van Kessel 等^[5]分别在《Nature》上报道了能够实现完全氨氧化的微生物,将其统称为 comammox。Daims^[4]在石油井热水管道内的生物膜上采集污泥样本,通过培养与分子生物学技术确定了一种 comammox 的存在,将其命名为 *Candidatus Nitrospira inopinata*。宏基因组分析结果显示该菌株的编码基因包含进行硝化的 AMO、HAO 和 NXR。同一时间 Van Kessel 等^[5]在水产养殖系统中发现了两种 comammox,分别命名为 *Candidatus Nitrospira nitrosa* 和 *Candidatus Nitrospira nitrificans*。虽然接种污泥来自不同的环境,但发现的 3 种 comammox 通过基因组分析确认是 *Nitrospira* 属的不同物种微生物。2017 年 Kits 等^[6]将 *Candidatus Nitrospira inopinata* 进行纯化分离,利用宏基因组学完整分析了单一菌株的功能基因,并将得到的纯菌株与 4 种 AOA 菌株进行动力学对照实验,证实了 *Candidatus Nitrospira inopinata* 菌株比生长速率高与 NH_4^+ 亲和力强的生理特性。

目前已经在湖泊河滩^[7-8]、湿地^[9-10]和土壤^[11-16]等多种自然环境,以及污水处理系统^[4-5,17-20]、饮用水系统^[21-24]和水产养殖系统^[25]等工程环境中验证了 comammox 的存在。Zheng 等^[18]在 8 个污水处理厂进行 *amoA* 基因转录活性分析,发现 comammox 的 *amoA* 基因转录水平最高可达到 AOB 的 24 倍,说明 comammox 在污水处理厂中可能有较高的硝化贡献。在低 NH_4^+ 自然生态环境中也检测到了

comammox^[16,26-29]。Xu 等^[7]在武汉汤逊湖的 5 个采样点中分别测定 comammox、AOA、AOB 和厌氧氨氧化细菌(Anammox)的种群丰度,发现 comammox 广泛分布于富营养湖泊环境并处于优势生态位,但在富营养较严重水域其生长会受到抑制。Sakoula 等^[30]发现了全新 comammox 菌株 *Candidatus Nitrospira kreffii*,该菌株表现的高 NH_4^+ 亲和力和低 NH_4^+ 耐受性,可能是 comammox 在寡营养环境中占据优势生态位的决定因素,也解释了在较高 NH_4^+ 环境下 comammox 生长受抑制的现象。

学术界根据不同 comammox 菌种的氨转运蛋白亲和力,将 comammox 分类为 Clade A 与 Clade B,其中 Clade A *amoA* 基因存在于多种生态系统中,Clade B *amoA* 基因大部分仅在土壤和沉积物样品中能够检测到^[31]。根据 Wang 等^[32]的研究,活跃于污水处理系统中的 comammox 很可能属于 Clade A。2016 年 Gonzalez 等^[33]检测后认为 comammox 在污水处理厂中相对丰度低,并不是硝化的主要贡献者。但随着 comammox 检测方法的完善^[34-35],污水处理系统中 comammox 的相关报道也逐渐增多。Yang 等^[36]发现污水处理厂中的 comammox 活性高并拥有利用尿素、氢、甲酸和亚硫酸盐等多种电子供体的代谢途径。Wang 等^[35]发现在污水处理厂中,comammox 的 *amoA* 基因拷贝数是 AOB 的 182.7 倍。而在部分拥有生物膜工艺的污水处理厂的报导中,comammox 占据绝对优势^[37]或与 AOB 紧密共存^[38]。总体来说,comammox 较高的相对丰度与丰富的代谢途径使得它成为在污水处理体系中持续培养的理想目标。

Comammox 富集的污水硝化反应器表现出良好的性能。Roots 等^[39]实现了 $58.6\text{mg NH}_4^+-\text{N}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 的 NH_4^+ 去除,比污水处理厂中的工艺反应器高出 1.54 倍。Sakoula 等^[30]实现了最高 99% 的 NH_4^+ 去除率,同时 NO_2^- 积累始终低于检测限,实现了完全的 NO_3^- 转化。Li 等^[40]报道的最高凯氏氮去除量达 $188\text{mg N}/(\text{L}\cdot\text{d})$, NO_3^- 转化率接近 100%。Fujitani 等^[41]在固定床连续流反应器内富集了 comammox 硝化颗粒, NH_4^+ 和 NO_2^- 去除率可达 100%,证明了 comammox 颗粒污泥工艺的可行性。Cui 等^[42]发现在升流式厌氧污泥床反应器(UASB)内,comammox 与厌氧氨氧化细菌(AnAOB)共同作用能够实现 $92.9\%\pm 1.1\%$ 的氮去

除效率,表明 comammox 不仅能作用于完全硝化反应器,还能实现与厌氧氨氧化的耦合.而 Shao 等^[43]在膜生物反应器中实现了 comammox 与 AnAOB 的稳定共生,氮峰值负荷达到 0.36g N/(L·d)的情况下,实现了 80%的氮去除率.随着对 comammox 的研究报道增多,证明了 comammox 硝化反应器对硝化过程的强化作用,同时与 comammox 耦合的新型工艺有潜力成为碳中和背景下的高效绿色污水处理工艺.

目前,研究重点逐渐转向实现 comammox 的高效富集与稳定运行.同时,准确探究污水处理系统内 comammox 的硝化贡献与 N₂O 减排潜力也是一项挑战,需要进一步的研究和探索.

2 Comammox 的富集影响因素

表 1 Comammox 富集反应器运行参数

Table 1 Comammox enrichment reactor operating parameters

反应器类型	溶解氧 (mg O/L)	总氮负荷 (mg N/(L·d))	稳定阶段 HRT(h)	comammox 相对丰度(%) 绝对丰度*(%)	参考文献
MBBR	>5	138	4	62.4	
MBBR	>5	276	2	66	[44]
MBR	2.5±0.5	276	2	53.9	
MBR	~4	7	—	90	[30]
MBR	4	93.3~270	36	~31	[40]
MBR	无曝气	1.4	24	90.4	[45]
SBR	0.2~0.5	4~16	60	2.4*	
SBBR	0.2~0.5	4~16	60	16*	[46]
SBR	0.5±0.1	80	12	~42.9	[47]
SBR	<0.6	~8	24	32.3	[48]
SBR	无曝气	6	24	92	[49]
SBR	无曝气	6	24	85	[49]
MBBR	6	150	8	~17.9	[50]

注:表中反应器全称分别为:移动床生物膜反应器(MBBR);膜生物反应器(MBR);序批式反应器(SBR);序批式生物膜反应器(SBBR).

由于 comammox 具有低生长速率和对 NH₄⁺的低耐受性,通过工程手段对其进行选择性富集面临挑战.表 1 汇总了 comammox 富集的成功案例,并记录了相应的反应器运行参数.这些方法利用了 comammox 对 NH₄⁺的高亲和力、相对较快的比生长速率以及其倾向附着或团聚生长的特性.

在成功案例中,反应器运行特征包括:缓慢泵入进水以维持寡营养状态,不设特定污泥排出以减少生物质损失.相对丰度达 90%以上的高丰度富集,原

因在于严格的寡营养环境和 comammox 利用亚硝酸盐或尿素的特性.文献总结指出,成功富集 comammox 的关键是创造有利寡营养环境和采用适当工艺保留 comammox 生物质.当前研究聚焦于通过调节 NH₄⁺浓度、溶解氧、运行工艺和环境温度来优化 comammox 富集.

2.1 NH₄⁺浓度

Candidatus Nitrospira inopinata 纯菌株的动力学分析表明 comammox 氨半饱和常数远低于已知的 AOB 和绝大部分 AOA,根据图 1 所示的硝化速率曲线,推测认为在寡营养条件下 comammox 相比其他硝化微生物更具底物竞争优势^[51],Zhang 等^[52]也发现活跃在污水处理系统中的 comammox Clade A 的丰度与 NH₄⁺浓度呈显著负相关($P<0.05$).

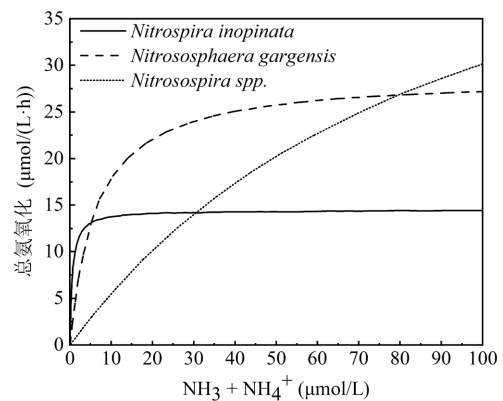


图 1 氨浓度对 comammox(*Candidatus Nitrospira inopinata*)、AOA(*N.gargensis*)和 AOB(*N.spp.*)硝化速率的影响^[6]

Fig.1 Effect of ammonia concentration on the rate of nitrification in comammox (*Candidatus Nitrospira inopinata*), AOA (*N. gargensis*) and AOB (*N. spp.*)^[6]

在已知的工程环境中,砂滤池与饮用水系统(NH₄⁺<0.6mg N/L^[53])内发现的高丰度 comammox 验证了这一假设,但 Zheng^[18]与 Emilie 等^[54]在污水处理厂中 2.0~29.8mg N/L 的水体 NH₄⁺浓度下,也观察到了高水平的 comammox *amoA* 转录活性.这表明在污水处理系统中,comammox 并不严格要求寡营养环境就能进行有效的硝化作用.Huang 等^[44]使用含 (23±3) mg N/L NH₄⁺的主流人工合成废水培养,发现 comammox *amoA* 的转录数占总数的比例为 53.9%~66.0%.Guo 等^[55]则在不同 NH₄⁺浓度(40,20 和 10mg N/L)下运行反应器以富集 comammox,最终在 3 个梯

次中分别获得了 0.03%、3.33% 和 22.79% 的 comammox 相对丰度。这些研究证明环境 NH_4^+ 浓度对 comammox 富集与表达有着显著影响,同时在污水处理系统中的主流废水环境下,comammox 能够实现有效富集与稳定硝化能力。

2021 年 Li 等^[56]在反应器中添加尿液作为底物,仅用 200 天就成功实现了 comammox 的有效富集,并发现了 3 种新的 comammox 物种,这些被富集 comammox 群落的相对丰度比传统 AOA 和 AOB 高出 30%。在实验过程中,研究人员发现尿素分解产生的 NH_4^+ 浓度会升至 (8.4 ± 0.9) mg N/L,然后在 2.5h 内降至 0mg N/L,这一现象证实了 comammox 编码脲酶蛋白和相应的 ABC 转运系统能有效利用环境中的尿素^[6],并在利用尿素过程中产生少量 NH_4^+ 营造寡营养环境,从而取得竞争优势^[3]。同年,Zhao 等^[57]的研究表明,使用 6mg N/L 的 NO_2^- 和尿素作为底物,可以在 390d 内有效富集 comammox,这一发现与 Kits^[6] 的预测相矛盾,他们曾认为 comammox 不能利用 NO_2^- 。然而,现有的功能预测主要基于 *Candidatus Nitrospira inopinata* 的宏基因组分析,因此 comammox 无法利用 NO_2^- 的观点可能并不准确。

综合研究表明,comammox 不仅能在主流污水的 NH_4^+ 环境中实现有效富集,还能利用尿素营造寡营养环境占据优势生态位。其底物利用的多样性和对 NH_4^+ 的高亲和力,使 comammox 有望在多样的工程环境中实现有效富集。此外,部分研究中 comammox *amoA* 基因的高转录丰度表明,comammox 在硝化过程中可能发挥重要作用。

2.2 溶解氧

宏基因组分析显示,*Candidatus Nitrospira inopinata* 相比 AOA 与 AOB 具有更高的氧亲和力^[4],原因在于该菌株通过还原性三羧酸(rTCA)循环固定 CO_2 ,这一过程比其他硝化菌(AOA 和 AOB)使用的循环更节省氧气^[58],除此之外,comammox 还含有一种特殊的细胞色素 bd 样末端氧化酶,其氧亲和力高于其他氨氧化微生物使用的细胞色素^[59]。因此,以 *Candidatus Nitrospira inopinata* 为代表的 comammox 种群更适合在低氧环境中生存。Zhang 等^[60]发现,在污水处理厂(WWTP)的曝气段(溶解氧浓度 1.7~8.0mg O/L)中,comammox 的丰度与溶解氧呈负相关,而 AOB 呈正相关。Roots 等^[39]在溶解氧低

于 1mg O/L 的 SBR 中实现了 comammox 的高度富集(占硝化微生物的 94%),并通过与其他研究对比,认为低溶解氧和低 NH_4^+ 条件下,comammox 可成为主要的硝化贡献者。其他研究也报告了在溶解氧浓度通常低于 1mg O/L 的条件下成功富集 comammox^[4-6,55-56,61-64],这与 *Candidatus Nitrospira inopinata* 的生态位预测一致。这表明,在低溶解氧环境中,由于 comammox 具有更高的氧亲和力,它在硝化作用中可以获得竞争优势。

但近年来的新研究指出 comammox 种群对溶解氧的需求并不限于严格低氧状态。Zhao 等^[65]在 2022 年的研究中,使用约 50mg N/L 的主流废水培养 MBBR,通过高强度曝气保持反应器溶解氧浓度在 6mg O/L 以上,经过 438d 成功富集相对丰度达 22.6%~38.8% 的 comammox 种群。荧光电泳分析显示,这些富集的菌群主要分布在生物膜表面以争夺氧气,暗示可能存在一种与 *Candidatus Nitrospira inopinata* 不同的 comammox 菌种,具有较低的氧亲和力(如图 3)。Huang 等^[44]在 MBR 中,也以 5mg O/L 的溶解氧条件成功富集 comammox 菌群,相对丰度达 28.4%~43.4%。Zheng 等^[64]通过设置不同溶解氧浓度的反应器实验发现,虽然低溶解氧环境有利于 comammox 的富集,但也存在像 *Candidatus Nitrospira nitrificans* 这样偏好高溶解氧条件的 comammox 菌种。Dimitra 等^[61]和 Li 等^[56]的工作也表明,在高溶解氧状态(≥ 4 mg O/L)下可以成功富集新的 comammox 物种。

目前尚不清楚溶解氧是否是 comammox 占据生态优势位的主要原因。然而,高溶解氧条件确实可以增强硝化过程,从而在反应器中形成寡营养环境。Zhao 等^[65]提出,高溶解氧策略可能是形成寡营养环境的诱因,而极低的 NH_4^+ 浓度是成功富集的关键。溶解氧作为污水处理系统中一个关键调控参数,对硝化作用和反硝化作用中的电子传递过程具有直接影响^[66]。在低氧和高氧条件下,都已实现 comammox 有效富集。然而,高氧条件下 comammox 的相对丰度通常低于 60%,这可能表明存在不同种类的 comammox,它们对氧的亲和力有显著差异,具有不同的底物竞争能力。这暗示完全氨氧化过程可能在污水处理的不同阶段发生,改变我们对硝化微生物组成、 N_2O 释放及微生物群落硝化贡献的传统

理解.

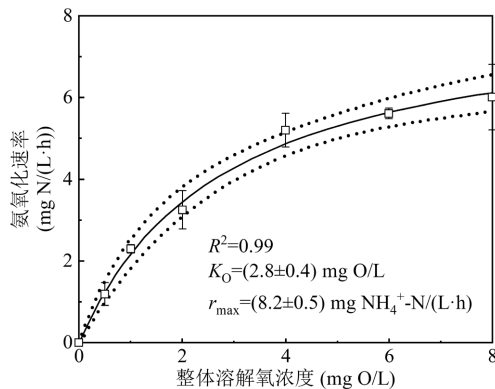


图2 高溶解氧环境下富集得到的生物膜 comammox 的最大氨氧化速率(r_{\max})与氧亲和系数(K_O)^[65]

Fig.3 Maximum ammonia oxidation rate (r_{\max}) and oxygen affinity coefficient (K_O) of biofilm comammox obtained by enrichment in high dissolved oxygen environment^[65]

2.3 运行工艺

Comammox 菌群在不同的污水处理运行工艺条件下表现出差异性.这些条件对微生物群落结构产生显著影响^[67],包括污泥生长方式(悬浮或附着生长)、水力停留时间(HRT)、污泥停留时间(SRT)以及水体环境因素^[1,5,17-19,54,65,68].

Irmarie 等^[69]在 2020 年对 14 个全规模脱氮系统进行研究,发现随着 SRT 的延长,comammox 的种群丰度更高,但这种正相关关系仅存在于主流工艺与同步硝化反硝化等工艺中.此外,国内外的研究指出,在三级旋转生物接触器(RBC)^[54,70]、生物膜流化床反应器(MBBR)^[65,71]和固定床膜生物反应器(MBR)^[72-73]等生物膜工艺中,也能观察到高丰度 comammox 群落或其功能基因高度表达.生物膜系统相比活性污泥系统能够理论上延长 SRT,为 comammox 提供附着生长区域,并增强生物保留能力,从而解决了 comammox 因代谢周期长而生长缓慢^[3]的富集难题.HRT 与污水处理负荷紧密相关,How 等^[74]探究了 HRT 与 SRT 参数对 SBR 好氧-缺氧(OA)工艺运行的影响,发现延长 SRT 与 HRT 可实现稳定的 comammox 主导硝化工艺,而缩短 HRT 会导致硝化效率下降 21%~35%,并破坏低 NH_4^+ 的寡营养环境,从而抑制 comammox 的生长.Li 等^[75]发现,降低 HRT 后硝化速率降低了 15%,硝化菌群由 33% 降低至 15%.由于硝化性能对 HRT 与 SRT 更敏感,

因此在污水处理体系中调节适当的 HRT 并合理延长 SRT,对实现 comammox 主导工艺的长期稳定运行意义重大.表 1 中显示,实现 comammox 富集的反应器通常保持 HRT 在 10h 以上,以确保稳定的完全硝化,而 SRT 则尽可能延长,以保证 comammox 的有效生长.

Huang 等^[44]在 MBR 中使用聚氨酯海绵作为载体,理论上将 SRT 延长至 1000d 以上,从而成功富集了 comammox.Zhao 等^[65]使用新型载体 AnoxKTM Z-Z200,增强了微生物的附着生长和保留能力,有效地实现了 comammox 的富集.Zhao 等^[76]在研究中使用空心球和石英砂这两种不同填料的生物膜反应器,成功富集了相对丰度为 79%~97%的 comammox 菌群.通过网络分析和基因组箱分析,揭示了 comammox 可能与生物膜中的其他菌种存在共生关系,这一发现为生物膜能够有效富集 comammox 提供了底层逻辑的解释.在 SBR 中成功富集 comammox 的研究也有报道.Guo 等^[55]和 Hou 等^[62]在 SBR 工艺中未设置排泥阶段,以延长污泥停留时间(SRT),在絮状污泥中成功富集了 comammox,但较长的富集周期暗示了硝化微生物间存在激烈的生存竞争.Kits 等^[6]的研究显示,*Candidatus Nitrospira inopinata*这种 comammox 具有紧密盘绕的螺旋状结构,它在水中自由生长或在表面附着生长,通常以集合体或絮体的形式存在.这表明,在不同的污水处理工艺中,comammox 可以通过附着生长或形成絮体的生长方式,来克服自身生长缓慢的问题.

值得注意的是,Zhu 等^[68]通过实验数据校准模型,模拟了不同进水 NH_4^+ ,SRT、溶解氧和接种污泥下运行 CSTR 与 SBR,发现仅有 CSTR 在合适的控制条件下(10~100g N/m^3 ,避免较低溶解氧并延长 SRT 至 40d 以上)实现了稳定的高丰度 comammox 富集,相对丰度达 70.5%.这表明,类似 CSTR 这样的连续流工艺,通过延长 SRT(40~100d)的技术方法,可以在絮状污泥中实现 comammox 的生长富集.这可能是因为连续流工艺具有较高的稀释率,能够在反应器内提供持续的低 NH_4^+ 环境,而延长 SRT 能够为代谢周期长、比生长速率高的 comammox 提供了充足的生长时间,从而获得数量优势.类似的连续流生物膜反应器已经有相关文献报道^[44,50],实现了 comammox 的有效富集.

2.4 温度

温度对污水处理厂内复杂的生化过程有重要影响。根据报道, *Candidatus Nitrospira inopinata* 的最适宜温度为 37°C, 而 *Candidatus Nitrospira nitrosa* 和 *Candidatus Nitrospira nitrificans* 最适宜温度为 23°C^[78]。说明不同种 comammox 对温度存在偏好。因此讨论温度变化对 comammox 实现在不同污水环境下的竞争优势有积极指导意义。

Fowler 等^[77]指出, 温度升高对 *Nitrospira* spp. 的积极影响, 但未明确区分 *Nitrospira* 属中包含的 comammox 与 NOB。Zhou 等^[78]通过长期监测污水处理厂, 发现多种 comammox *amoA* 基因在大部分时间占主导(46%~100%), 但其种群多样性随温度的变化不稳定。在高温时 comammox 可能失去竞争优势, 但在低温下可通过通过复杂的群落复合体存活并成为主要硝化菌。相反, Pan 等^[79]在寒冷季节研究发现, AOA 是主要的硝化贡献者, comammox 的相对丰度远低于 AOA 和 AOB。Li 等^[80]报导称, 在 4°C 的污水反应器中, comammox 数量级显著下降, 但在选择性加热后可迅速恢复。现有研究中, comammox 富集反应器通常保持在约 25°C, 而污水处理系统的温度随季节变化。Zhou 等^[78]测量发现污水水体夏季水温为 (28±2)°C, 冬季为 (16.8±1.3)°C, 在此温度范围内, *Candidatus Nitrospira nitrosa* 和 *Candidatus Nitrospira nitrificans* 等 comammox 表现出良好的环境适应性, 并具有较高的 *amoA* 基因表达, 有利于污水系统内的富集。这表明环境温度是影响 comammox 高效富集的关键因素之一, 实际运行中需考虑温度波动的影响。同时, comammox 在低温环境下可能因其丰度和代谢途径具有一定的恢复能力。

参考已有文献报道, 在适宜温度环境下, 利用生物膜工艺的生物质保留优势, 结合连续流反应器延长 HRT 缓慢供给氮源, 营造长期稳定的寡营养环境体系, 可能是高效富集 comammox 的有效手段。

3 Comammox 的硝化贡献与 N₂O 减排潜力

硝化过程是氮循环中的一个关键环节, 其中 N₂O 作为硝化细菌的副产物, 是一种具有显著温室效应的气体, 其在大气中的生命周期可长达 121 年^[81]。自 comammox 被发现以来, 对其在自然和人工环境中的分布与量化研究已取得显著进展。然而, 作

为硝化细菌, 如何准确有效地评估 comammox 在硝化过程中的氨氧化贡献, 以及其在该过程中 N₂O 的释放能力, 仍是当前研究的一个挑战。

数学模型已被广泛用于预测污水中氮的去除率。这些模型的基本假设通常将 comammox 对 NH₄⁺ 的代谢途径简化为一步或两步过程, 并根据创建者的理解进行校准和验证。然而, 模型的预测能力往往与创建者的数据相符, 但与文献中的其他数据不一致^[82]。Mehrani 等^[83]假设 NH₄⁺ 可被 comammox 直接氧化为 NO₃⁻, 模拟结果显示 comammox 可转化 20% 以上的进水 NH₄⁺ 负荷。Yang 等^[84] 等构建的合成硝化群落模型发现, 在低氨氮浓度下, comammox 主导硝化作用, 因为它在特定底物浓度区间内, 拥有更高的底物亲和力和比生长速率。Mehrani 等^[85]在活性污泥模型中解释了 comammox 与 NOB 的生存竞争, 校正后的数据显示 comammox 对 NH₄⁺ 与 NO₂⁻ 的转化贡献小于 5%。Mei 等^[86]等在 ASM2d 模型中拆分硝化过程以模拟 comammox 的代谢过程, 校准数据显示, 在 comammox 高度富集的硝化体系中, NH₄⁺ 去除率可达 99%。

为了在不同污水研究体系内实现高拟合度, 需要对不同模型的信息进行进一步统合研究。因此, 研究 comammox 的硝化贡献和 N₂O 释放等问题通常采用标记无机碳(或氮)的掺入方法, 或使用不同的硝化抑制剂来区分各种硝化细菌的硝化活性和 N₂O 释放能力^[87]。然而, 针对污水处理系统中的 comammox 菌群, 目前尚缺乏足够的研究报道。

3.1 硝化贡献

根据文献报道, 在活性污泥体系内检测出的 *amoA* 基因中, comammox 的 *amoA* 基因占据较大的比重(14%~34%)^[88], 但功能基因的转录活性无法准确量化硝化贡献。为了有效区分不同硝化微生物在硝化过程中的作用, 使用硝化抑制剂来选择性抑制特定硝化菌是一种简单可行的方法。在土壤与沿岸水体的硝化能力研究中, 硝化抑制剂已经被广泛采用^[11, 13-14, 16], 这种方法也为污水处理系统中的类似探究提供了参考。常见的硝化抑制剂包括双氰胺(DCD)、3,4-甲基吡唑磷酸盐(DMPP)、乙炔(C₂H₂)、氯酸钾(KClO₃)等, 其中氯酸盐因能够选择性抑制亚硝化过程^[89], 被认为是 comammox 的潜在特异性抑制剂。稳定同位素探测(SIP)通过在硝化菌可利用的

底物中掺入稳定同位素,然后靶向检测同位素的生物代谢转变形式,可用于探索复杂微生物群落中硝化菌的活性。^[90-93]这是一种强有力的方法,但同时也存在高成本和多种微生物交叉利用相同同位素的挑战^[94]。

目前,在污水处理系统中进行硝化抑制实验的研究较为有限。Shao 等^[43]在实现 comammox 与 AnAOB 耦合的前提下,利用 1-辛炔抑制 AOB,证实 comammox 对进水 NH_4^+ 实现了 33.1% 的 NO_2^- 转化与 7.3% 的 NO_3^- 转化。在表 2 总结的文献报道中,孙东耀^[31]通过 *Candidatus Nitrospira inopinata* 纯菌株实验,证明水体中 $50 \mu\text{mol/L}$ 浓度的氯酸盐可以有效抑制 comammox 的硝化能力。2022 年 Sun 等^[9]使用氯酸盐作为抑制剂,发现在沿海湿地中 comammox 的

硝化能力为 $17.45 \text{ ng N}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (占硝化总量的 26.9%), N_2O 产量为 $0.0083 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ (占比 28.5%)。Zhang 等^[10]通过双抑制剂(氯酸盐与 1-辛炔联用)方法,测量了人工湿地水体中 comammox 硝化速率为 $0.228 \text{ mg N}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ (约占 43.26%)。Ye 等^[8]的双抑制剂法研究则表明,太湖水体中 comammox 的硝化贡献率在 45.06%~91.43% 之间,这种波动可能源于采样点的水质情况和 pH 值的差异,与 Zhang 等^[16]在农业土壤中观察到 comammox 硝化贡献率从 34% 增加到 75% 的现象一致,这表明环境因素可能对 comammox 的硝化活性有显著影响。张齐春等^[95]通过联用 NaClO_3 、DMPP 和辛伐他汀(SVS)等硝化抑制剂,组成了一种测量土壤 comammox 硝化贡献的方法,可能在污水活性污泥体系内同样适用。

表 2 comammox 硝化抑制剂实验设计与结论

Table 2 Experimental design and conclusions of comammox nitrification inhibitor

来源体系	硝化抑制剂	抑制目标	comammox 硝化能力	comammox N_2O 释放能力	参考文献
纯菌	$50 \mu\text{mol/L ClO}_3^-$	<i>Candidatus Nitrospira inopinata</i> (comammox)	—	—	[31]
沿海湿地	$50 \mu\text{mol/L ClO}_3^-$	<i>Candidatus Nitrospira inopinata</i> (comammox)	$17.45 \text{ ng N}/(\text{g}\cdot\text{h})$	$0.0083 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$	[9]
	$200 \mu\text{mol/L PTIO}$	<i>N.gargensis</i> (AOA)			
	$200 \mu\text{mol/L ATU}$	<i>N.nitrosa Nm90</i> (AOB)			
人工湿地	20 mmol/L KClO_3	comammox+NOB	$0.228 \text{ mg N}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	—	[10]
	0.3% V/V 1-辛炔	AOB			
湖泊	$0.13 \text{ mol/L KClO}_3$	comammox+NOB	$0.131\sim 3.793$ $\text{mg N}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	—	[8]
	2kPa 1-辛炔	AOB			
土壤	1 mmol/L NaClO_3	comammox+NOB	$13.65\sim 6.38$ $\text{mg N}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	—	[16]
	$4 \mu\text{mol/L}$ 1-辛炔	AOB			
土壤	$10 \text{ mmol/L NaClO}_3$	NOB	—	—	[95]
	0.0125%wt SVS	AOA			
	$0.075 \text{ mmol/L DMPP}$	AOB			

DNA/RNA-SIP 技术通过定位同位素,能够更准确地了解硝化微生物的硝化活性。Zheng 等^[96]接种来自不同污水处理厂的活性污泥,这些污泥根据 comammox 与 AOB 的丰度占比,划分为 1~10, 10~100, >100 等 3 个实验组,在不同实验组内分别添加 $\text{NaH}^{12}\text{CO}_3$ 和 $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ 配置的培养基,经过微生物培养后,提取不同浮力密度的 DNA,定向检测包含 ^{12}C 与 ^{13}C 的硝化微生物 *amoA* 基因,结果显示在上述 3 种不同污泥中,comammox 相比 AOB 的硝化贡献分别高出 6, 33 和 108 倍。Zhang 等^[10]通过 DNA-SIP 技术,发现河底沉积物与岸边污泥中,comammox 的氨氧化速率相比 AOB 分别高出 1.43 和 2 倍。

RNA-SIP 能够提供更多活跃转录的微生物信息^[97]。Metch 等^[90]通过 RNA-SIP 技术,发现 comammox 在污水寡营养环境中是唯一保持功能 RNA 相对丰度恒定的硝化菌,说明了 comammox 在寡营养环境中的重要硝化贡献,但并未进行量化分析。Gülay 等^[92]通过 RNA-SIP 证明了在地下水反应器的复杂微生物群落内,comammox 有显著的亚硝化与硝化贡献。使用硝化抑制剂可特异性抑制部分硝化微生物,结合 DNA/RNA-SIP 技术分析目标微生物的功能基因表达,有效解决了 DNA/RNA-SIP 技术的主要问题,成为探究不同硝化微生物活性的有力工具。

尽管目前对于污水系统中 comammox 的硝化

贡献的研究还不够充分,但 comammox 在其他生态系统中展现的活跃硝化能力,表明其在污水处理系统中的贡献可能同样重要.在现有研究中,使用硝化抑制剂和 DNA/RNA-SIP 技术在污水体系中进行研究面临挑战.虽然文献指出氯酸盐是 *Candidatus Nitrospira inopinata* 的特异性抑制剂^[89],但不同污水中 comammox 的种类存在差异,需实验验证氯酸盐是否也抑制这些 comammox.复杂的污水环境中, DNA/RNA-SIP 技术难以区分不同硝化微生物的贡献,还有成本高与样品保存困难的问题, RNA 样品的稳定性较差,使得实验可行性需要着重考虑.未来研究可考虑构建双抑制剂体系、改进专性抑制剂或在纯菌株系统使用 DNA/RNA-SIP 技术.这些方法有助于准确评估 comammox 在污水处理中的作用及其对 N₂O 排放的影响.考虑到可行性和成本,硝化抑制剂实验方案简单可靠,使用氯酸盐结合 1-辛炔构建双抑制剂体系可能是最佳选择.

3.2 N₂O 减排潜力

Comammox 的 N₂O 释放量与在硝化过程中的贡献密切相关. Liu 等^[98]在对 comammox 进行富集培养时,首次观察到 N₂O 的产生,然而 comammox 本身的释放能力并未明确. Kits^[99]等在对纯培养 *Candidatus Nitrospira inopinata* 的研究中发现,由于缺乏一氧化氮(NO)还原酶,该菌株在硝化过程中不能通过 NO 还原途径生成 N₂O,因此, *Candidatus Nitrospira inopinata* 在硝化过程中产生的 N₂O 主要

来源于羟胺(NH₂OH)化学转化的非生物途径,且释放因子(N₂O 释放总量/ NH₄⁺消耗量)为(0.070±0.006)%,与 AOA 菌种 *N.viennensis* 相当(0.07%~0.09%),远低于 AOB 菌种 *N.europaea* 和 *N.multiformis*(约 0.095%~0.21%). Li 等^[100]在低酸性环境下搭建了高溶解氧(>2mg O/L)和低溶解氧(0.5mg O/L)的反应器,并发现在低溶解氧条件下的 N₂O 释放率为 0.12%~0.08%,比高溶解氧反应器低 20%. 分子生物学分析表明,低溶解氧反应器中 comammox *amoA* 基因数量是 AOB *amoA* 基因的 17.1 倍,这表明 comammox 的功能基因表达在 N₂O 减排中起着关键作用. Ren 等^[101]通过建立 AOB 和 comammox 富集反应器,分析不同条件下的 N₂O 产量.结果显示, AOB 反应器的平均 N₂O 释放能力为 2.19%,而 comammox 反应器仅为 0.35%. 在批次实验中,通过控制短时间的低溶解氧和添加 NO₂⁻, AOB 反应器的释放能力显著增加,而 comammox 反应器未表现出明显变化,这表明,在 NO₂⁻胁迫和低溶解氧冲击下, comammox 能有效抑制 N₂O 的过量释放. Hou 等^[62]在 SBR 反应器内富集 comammox 后,发现 N₂O 和 NO 的产量显著降低,排放因子分别为(0.136±0.026)%和(0.023±0.013)%,远低于传统硝化反应器的水平.以上研究结果表明, comammox 富集菌液的 N₂O 释放因子远低于 AOB 富集菌液,具有减少 N₂O 排放的潜力.目前主流的理论解释是 comammox 不具备产生 N₂O 相关的细胞色素酶与 NO 还原酶表达基因^[99].

表 3 硝化微生物 N₂O 释放因子对比

Table 3 Comparison of N₂O emission factors of nitrifying microorganisms

Comammox		AOA		AOB		参考文献
释放因子(%)	释放速率(ng N/(g·d))	释放因子(%)	释放速率(ng N/(g·d))	释放因子(%)	释放速率(ng N/(g·d))	
0.070±0.006	—	0.07~0.09	—	0.095~0.21	—	[102]
0.03	—	0.13	—	0.23	—	[103]
0.083±0.003	—	0.067±0.006	—	0.199±0.006	—	[104]
0.12	0.21±0.48	~0.09	3.3±0.33	0.46	3.27±0.57	
0.22	0.76±0.04	0.02	0.79±0.02	0.13	4.32±0.19	[15]
~0.14	0.76±0.19	0.13	5.25±0.14	~0.21	2.93±0.19	

但污水系统运行中, comammox 的 N₂O 释放能力尚没有明确探究,也没有具体分析 comammox 对 N₂O 减排的具体贡献. Wan 等^[103]在岩性土壤中,使用 1-辛炔选择性抑制 AOB 的硝化活性,使用 DMPP 同时抑制 AOB 与 comammox 的硝化活性, N₂O 测定结

果表明石灰岩土壤内 comammox 的 N₂O 释放因子约为 0.03%, AOB 约为 0.23%, AOA 约为 0.13%. 根据表 3 中的部分研究结果^[15,103-104],使用硝化抑制剂可以探究土壤中 comammox 的 N₂O 释放能力.构建不同的双抑制剂体系可能是揭示污水系统中

comammox N_2O 减排潜力的有效方法.这些抑制剂不仅抑制硝化作用,还阻断 N_2O 的生物合成.实验发现,氯酸盐和 1-辛炔的双抑制剂体系能区分 comammox、AOB 和 AOA 的硝化活性,并可能用于量化 N_2O 的生物生成量.

在污水处理过程中,功能微生物群落的组成和运行参数等因素会影响 N_2O 的生成量.污水处理厂是 N_2O 的主要来源之一^[105],因此改进污水处理工艺以实现 N_2O 减排至关重要.目前,常用的调控措施包括降低曝气速率以减少 N_2O 的逸散^[106]、分段进水以降低中间体的累积^[107]和避免局部缺氧^[108]等.Comammox 作为硝化功能菌,具有适应复杂溶解氧和温度条件的潜力,可能在上述调控措施下稳定存活,实现稳定的 NH_4^+ 去除和 N_2O 减排.多项 comammox 富集的报导证明了以 comammox 为主导的硝化工艺拥有 N_2O 减排的潜力^[62,100-101].这不仅因为 comammox 本身缺乏 N_2O 生成途径^[99],也可能由于 comammox 主导的完全硝化工艺由于对 NO_2^- 的高效利用^[30,41],有效减少了 NO_2^- 主导的 N_2O 生成总量.同时 comammox-Anammox 和 comammox 颗粒污泥等新型工艺的提出^[109-112],具有实现污水高效脱氮和 N_2O 减排的应用潜力,但目前还需要继续探究稳定运行的技术方法.

4 结论

4.1 Comammox 在多种生态系统中广泛存在且可能涉及多个不同物种,这说明 comammox 在不同污水处理工程环境中可能有较大的硝化贡献.

4.2 环境底物浓度,溶解氧及运行工艺是调控 comammox 富集的关键因子,其中构建寡营养环境为核心策略.生物膜工艺耦合缓慢连续进水模式,可优化底物通量并模拟寡营养生态位,实现 comammox 高效富集.

4.3 Comammox 在水体系统中的硝化贡献显著.氯酸盐和 1-辛炔构成的双抑制剂体系,可能是区分污水环境内硝化微生物贡献难题的有效工具.

4.4 Comammox-Anammox 等新型耦合工艺的提出,加深了学界对 comammox 应用潜力的理解.为了验证新工艺的效率和潜在问题,需要更深入地了解 comammox 在硝化过程中的具体贡献及稳定富集方法.

参考文献:

- [1] Massara T M, Malamis S, Guisasaola A, et al. A review on nitrous oxide (N_2O) emissions during biological nutrient removal from municipal wastewater and sludge reject water [J]. *Science of the Total Environment*, 2017,596-597:106-123.
- [2] 徐建宇,毛艳萍.从典型硝化细菌到全程氨氧化微生物:发现及研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2019,46(4):879-890.
Xu J, Mao Y. From canonical nitrite oxidizing bacteria to complete ammoniaoxidizer: discovery and advances [J]. *Microbiology China*, 2019,46(4):879-890.
- [3] Costa E, Pérez J, Kreft J U. Why is metabolic labour divided in nitrification? [J]. *Trends in Microbiology*, 2006,14(5):213-219.
- [4] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, et al. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria [J]. *Nature*, 2015,(7583):504-509.
- [5] Van Kessel M A H J V, Speth D R, Albertsen M, et al. Complete nitrification by a single microorganism [J]. *Nature*, 2015,528(7583):555-559.
- [6] Kits K D, Sedlacek C J, Han P, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle [J]. *Nature*, 2017,549(7671):269-272.
- [7] Xu Y, Liu G, Hua Y, et al. The diversity of comammox bacteria and the effect of sewage discharge on their abundance in eutrophic lake sediments [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020,20(5):2495-2503.
- [8] Ye J, Zhao S, Ren J, et al. Higher contribution by comammox bacteria than AOA and AOB to nitrification in the sediments of lake Taihu [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2024,187:105709.
- [9] Sun D, Tang X, Li J, et al. Chlorate as a comammox *Nitrospira* specific inhibitor reveals nitrification and N_2O production activity in coastal wetland [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022,173:108782.
- [10] Zhang A, Zhu M, Zheng Y, et al. The significant contribution of comammox bacteria to nitrification in a constructed wetland revealed by DNA-based stable isotope probing [J]. *Bioresource Technology*, 2024,399:130637.
- [11] Li C, Hu H, Chen Q, et al. Comammox *nitrospira* play an active role in nitrification of agricultural soils amended with nitrogen fertilizers [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019,138:107609.
- [12] Wagner F B, Diwan V, Dechesne A, et al. Copper-induced stimulation of nitrification in biological rapid sand filters for drinking water production by proliferation of *nitrosomonas spp* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019,53(21):12433-12441.
- [13] Wang Z, Cao Y, Zhu-Barker X, et al. Comammox *nitrospira* clade B contributes to nitrification in soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019,135:392-395.
- [14] Wang X, Wang S, Jiang Y, et al. Comammox bacterial abundance, activity, and contribution in agricultural rhizosphere soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2020,727:138563.
- [15] Tan C, Yin C, Zhang L, et al. Deciphering the functional importance of comammox vs. canonical ammonia oxidisers in nitrification and N_2O emissions in acidic agricultural soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024,193:109415.
- [16] Zhang K, Sun H, Kang Y, et al. Comammox plays a functionally important role in the nitrification of rice paddy soil with different nitrogen fertilization levels [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024,193:105120.
- [17] How S W, Nittami T, Ngho G C, et al. An efficient oxic-anoxic process for treating low COD/N tropical wastewater: Startup, optimization and nitrifying community structure [J]. *Chemosphere*,

- 2020,259:127444.
- [18] Zheng M, Wang M, Zhao Z, et al. Transcriptional activity and diversity of comammox bacteria as a previously overlooked ammonia oxidizing prokaryote in full-scale wastewater treatment plants [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,656(1):717-722.
- [19] He S, Zhao Z, Tian Z, et al. Comammox bacteria predominate among ammonia-oxidizing microorganisms in municipal but not in refinery wastewater treatment plants [J]. *Journal of Environmental Management*, 2022,316:115271.
- [20] Wang M, Huang G, Zhao Z, et al. Newly designed primer pair revealed dominant and diverse comammox *amoA* gene in full-scale wastewater treatment plants [J]. *Bioresource Technology*, 2018,270(1):580-587.
- [21] Pinto A J, Marcus D N, Ijaz U Z, et al. Metagenomic evidence for the presence of comammox nitrospira-like bacteria in a drinking water system [J]. *mSphere*, 2016,1(1):e00054-00015.
- [22] Hu J, Zhao Y, Yang W, et al. Surface ammonium loading rate shifts ammonia-oxidizing communities in surface water-fed rapid sand filters [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2020,96(10):9.
- [23] Wang Y, Ma L, Mao Y, et al. Comammox in drinking water systems [J]. *Water Research*, 2017,116:332-341.
- [24] Ben M, Timothy M L, Taegy K, et al. Multi-scale investigation of ammonia-oxidizing microorganisms in biofilters used for drinking water treatment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023,57(9):3833-3842.
- [25] Tatari K, Uuml, Lay A, et al. Challenges in using allylthiourea and chlorate as specific nitrification inhibitors [J]. *Chemosphere*, 2017,182:301-305.
- [26] Liu S, Cai H, Wang J, et al. In-situ expressions of comammox Nitrospira along the Yangtze River [J]. *Water Research*, 2021,200:117241.
- [27] Wang D, Zhou C, Nie M, et al. Abundance and niche specificity of different types of complete ammonia oxidizers (comammox) in salt marshes covered by different plants [J]. *Science of the Total Environment*, 2021,768:144993.
- [28] Xia F, Gao J, Wang J, et al. Ubiquity and diversity of complete ammonia oxidizers (comammox) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018,84(24):e01390-01318.
- [29] Zhao Z, Huang G, He S, et al. Abundance and community composition of comammox bacteria in different ecosystems by a universal primer set [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,691:146-155.
- [30] Sakoula D, Koch H, Frank J, et al. Enrichment and physiological characterization of a novel comammox Nitrospira indicates ammonium inhibition of complete nitrification [J]. *ISME Journal*, 2021,15(4):1010-1024.
- [31] 孙东耀. 河口潮滩湿地全程硝化菌群落特征及其生态功能研究 [D]. 上海:华东师范大学, 2022.
- Sun D. Distribution pattern and ecological function of Comammox *Nitrospira* bacteria in estuarine tidal flat wetlands [D]. Shanghai: East China Normal University, 2022.
- [32] Wang Y, Zhao R, Liu L, et al. Selective enrichment of comammox from activated sludge using antibiotics [J]. *Water Research*, 2021, 197:117087.
- [33] Gonzalez-Martinez A, Rodriguez-Sanchez A, Loosdrecht M, et al. Detection of comammox bacteria in full-scale wastewater treatment bioreactors using tag-454-pyrosequencing [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016,23(24):25501-25511.
- [34] Pjevac P, Schauburger C, Poghosyan L, et al. *AmoA*-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox nitrospira in the environment [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017,8:1508.
- [35] Wang M, Huang G, Zhao Z, et al. Newly designed primer pair revealed dominant and diverse comammox *amoA* gene in full-scale wastewater treatment plants [J]. *Bioresource Technology*, 2018,270:580-587.
- [36] Yang Y, Daims H, Liu Y, et al. Activity and metabolic versatility of complete ammonia oxidizers in full-scale wastewater treatment systems [J]. *Mbio*, 2020,11(2):e03175-19.
- [37] Spasov E, Tsuji J M, Hug L A, et al. High functional diversity among Nitrospira populations that dominate rotating biological contactor microbial communities in a municipal wastewater treatment plant [J]. *ISME Journal*, 2020,14(7):1857-1872.
- [38] Tsuchiya Y, Nakagawa T, Takahashi R. Quantification and phylogenetic analysis of ammonia oxidizers on biofilm carriers in a full-scale wastewater treatment plant [J]. *Microbes and Environments*, 2020,35(2):ME19140.
- [39] Roots P, Wang Y, Rosenthal A F, et al. Comammox nitrospira are the dominant ammonia oxidizers in a mainstream low dissolved oxygen nitrification reactor [J]. *Water Research*, 2019,157:396-405.
- [40] Li J, Hua Z, Liu T, et al. Selective enrichment and metagenomic analysis of three novel comammox Nitrospira in a urine-fed membrane bioreactor [J]. *ISME Communications*, 2021,1(1):7-7.
- [41] Fujitani H, Nomachi M, Takahashi Y, et al. Successful enrichment of low-abundant comammox Nitrospira from nitrifying granules under ammonia-limited conditions [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2020, 367(1).
- [42] Cui H, Zhang L, Zhang Q, et al. Enrichment of comammox bacteria in anammox-dominated low-strength wastewater treatment system within microaerobic conditions: Cooperative effect driving enhanced nitrogen removal [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,453:139851.
- [43] Shao Y, Wu J, Chen H. Comammox nitrospira cooperate with anammox bacteria in a partial nitrification - anammox membrane bioreactor treating low-strength ammonium wastewater at high loadings [J]. *Water Research*, 2024,257:121698.
- [44] Huang T, Xia J, Liu T, et al. Comammox nitrospira bacteria are dominant ammonia oxidizers in mainstream nitrification bioreactors emended with sponge carriers [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(17):12584-12591.
- [45] Zhao Y, Wang J, Liu Z, et al. Biofilm: A strategy for the dominance of comammox Nitrospira [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 363:132361.
- [46] Guo Z, Ma X, El-Baz A, et al. Revolutionizing comammox enrichment: Novel approaches for comammox enrichment through reactor configuration and ammonia concentration mediation [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024,60:105172.
- [47] Hou J, Zhu Y, Liu J, et al. Competitive enrichment of comammox Nitrospira in floccular sludge [J]. *Water Research*, 2024,251:121151.
- [48] Camejo P Y, Domingo J S, McMahon K D, et al. Genome-enabled insights into the ecophysiology of the comammox bacterium "*Candidatus Nitrospira nitrosa*" [J]. *Msystems*, 2017,2(5):e00059-17.
- [49] Zhao Y, Hu J, Yang W, et al. The long-term effects of using nitrite and urea on the enrichment of comammox bacteria [J]. *Science of the Total Environment*, 2021,755(2):142580.
- [50] Zhao J, Zheng M, Su Z, et al. Selective enrichment of comammox nitrospira in a moving bed biofilm reactor with sufficient oxygen supply [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(18):13338-13346.

- [51] Koch H, Van-Kessel M, Lückner S, et al. Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox Nitrospira [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2019,103(1):177-189.
- [52] Zhang H, Cheng F, Sun S, et al. Diversity distribution and characteristics of comammox in different ecosystems [J]. *Environmental Research*, 2022,214:113900.
- [53] 胡万超,赵琛,王巧娟,等.饮用水快速砂滤池优势微生物群落的代谢功能解析 [J]. *环境科学*, 2019,40(8):3604-3611.
- Hu W, Zhao C, Wang Q, et al. Metabolic functional analysis of dominant microbial communities in the rapidSand filters for drinking water [J]. *Environmental Science*, 2019,40(8):3604-3611.
- [54] Emilie S, Jackson M T, Laura A H, et al. High functional diversity among Nitrospira populations that dominate rotating biological contactor microbial communities in a municipal wastewater treatment plant [J]. *The ISME Journal*, 2020,14(7):1857-1872.
- [55] Guo Z, Ma X, El-Baz A, et al. Revolutionizing comammox enrichment: Novel approaches for comammox enrichment through reactor configuration and ammonia concentration mediation [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024,60:105172.
- [56] Li J, Hua Z, Liu T, et al. Selective enrichment and metagenomic analysis of three novel comammox Nitrospira in a urine-fed membrane bioreactor [J]. *ISME Communications*, 2021,1(1):7.
- [57] Zhao Y, Hu J, Yang W, et al. The long-term effects of using nitrite and urea on the enrichment of comammox bacteria [J]. *Science of the Total Environment*, 2021,755:142580.
- [58] 李旭,周鑫,王共磊,等.全程氨氧化菌(Comammox)在污水生物脱氮中的应用进展 [J]. *中国给水排水*, 2023,39(22):46-54.
- Li X, Zhou X, Wang G, et al. Advances in the application of comammox in biological nitrogen removal from wastewater [J]. *China Water & Wastewater*, 2023,39(22):46-54.
- [59] 张亮,于静仪,李朝阳,等.污水生物处理系统中全程氨氧化菌的研究进展 [J]. *北京工业大学学报*, 2020,46(4):402-411.
- Zhang L, Yu J, Li C, et al. Progress and prospects of the research of complete ammonia oxidizers in biological wastewater treatment [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2020,46(4):402-411.
- [60] Zhang S, Wang J, Wang D, et al. Abundance and niche differentiation of comammox in the sludges of wastewater treatment plants that use the anaerobic-anoxic-aerobic process [J]. *Life-Basel*, 2022,12(7):954.
- [61] Dimitra S, Hanna K, Jeroen F, et al. Enrichment and physiological characterization of a novel comammox Nitrospira indicates ammonium inhibition of complete nitrification [J]. *The ISME Journal*, 2021,15(4):1010-1024.
- [62] Hou J, Zhu Y, Liu J, et al. Competitive enrichment of comammox Nitrospira in floccular sludge [J]. *Water Research*, 2024,251:121151.
- [63] Cui H, Zhang L, Zhang Q, et al. Enrichment of comammox bacteria in anammox-dominated low-strength wastewater treatment system within microaerobic conditions: Cooperative effect driving enhanced nitrogen removal [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,453:139851.
- [64] Zheng M, Mu G, Zhang A, et al. Predominance of comammox bacteria among ammonia oxidizers under low dissolved oxygen condition [J]. *Chemosphere*, 2022,308:136436.
- [65] Zhao J, Zheng M, Su Z, et al. Selective enrichment of comammox Nitrospira in a moving bed biofilm reactor with sufficient oxygen supply [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(18):13338-13346.
- [66] 池玉蕾,石焯,任童,等.溶解氧对低碳源城市污水处理系统脱氮性能与微生物群落的影响 [J]. *环境科学*, 2021,42(9):4374-4382.
- Chi Y, Shi X, Ren T, et al. Effects of dissolved oxygen on nutrient removal performance and microbial community in low carbon/nitrogen municipal wastewater treatment process [J]. *Environmental Science*, 2021,42(9):4374-4382.
- [67] 赖永恒,刘敏.A/O-MBBR工艺处理生活污水性能及菌群结构 [J]. *中国环境科学*, 2022,42(5):2120-2128.
- Lai Y, Liu M. Performance and microbial community of anoxic/oxic-moving bed biofilm reactor(A/O-MBBR) process treating domestic sewage [J]. *China Environmental Science*, 2022,42(5):2120-2128.
- [68] Zhu Y, Hou J, Liu J, et al. Model-based development of strategies enabling effective enrichment and application of comammox bacteria in floccular sludge under mainstream conditions [J]. *Science of the Total Environment*, 2023,895:165051.
- [69] Irmari C, Zihan D, Linxuan H, et al. Long solids retention times and attached growth phase favor prevalence of comammox bacteria in nitrogen removal systems [J]. *Water Research*, 2020,169:115268.
- [70] Wang D, Wang Y, Liu L, et al. Niche differentiation and symbiotic association among ammonia/nitrite oxidizers in a full-scale rotating biological contactor [J]. *Water Research*, 2022,225:119137.
- [71] Zhou X, Liu H, Fan X, et al. Comparative analysis of bacterial information of biofilms and activated sludge in full-scale MBBR-IFAS systems [J]. *Microorganisms*, 2024,12(6):1121.
- [72] Huang T, Xia J, Liu T, et al. Comammox Nitrospira bacteria are dominant ammonia oxidizers in mainstream nitrification bioreactors emended with sponge carriers [J]. *Environmental science & technology*, 2022,56(17):12584-12591.
- [73] Sotto R D, Bae S. Nutrient removal performance and microbiome of an energy-efficient reciprocation MLE-MBR operated under hypoxic conditions [J]. *Water Research*, 2020,182:115991.
- [74] How S W, Nittami T, Ngoh G C, et al. An efficientoxic-anoxic process for treating low COD/N tropical wastewater: Startup, optimization and nitrifying community structure [J]. *Chemosphere*, 2020,259:127444.
- [75] Li H, Zhang Y, Yang M, et al. Effects of hydraulic retention time on nitrification activities and population dynamics of a conventional activated sludge system [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2013,7(1):43-48.
- [76] Zhao Y, Wang J, Liu Z, et al. Biofilm: A strategy for the dominance of comammox Nitrospira [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022,363:132361.
- [77] Fowler S J, Palomo A, Dechesne A, et al. Comammox Nitrospira are abundant ammonia oxidizers in diverse groundwater-fed rapid sand filter communities [J]. *Environmental Microbiology*, 2018,20(3):1002-1015.
- [78] Zhou X, Li B L, Wei J, et al. Temperature influenced the comammox community composition in drinking water and wastewater treatment plants [J]. *Microbial Ecology*, 2021,82(4):870-884.
- [79] Pan K, Gao J, Fan X, et al. The more important role of archaea than bacteria in nitrification of wastewater treatment plants in cold season despite their numerical relationships [J]. *Water Research*, 2018,145:552-561.
- [80] Li B, Godfrey B J, Redcorn R, et al. Mainstream nitrogen removal from low temperature and low ammonium strength municipal wastewater using hydrogel-encapsulated comammox and anammox [J]. *Water Research*, 2023,242:120303.
- [81] Massara T M, Malamis S, Guisasaola A, et al. A review on nitrous oxide (N₂O) emissions during biological nutrient removal from municipal wastewater and sludge reject water [J]. *Science of the Total Environment*, 2017,596:106-123.
- [82] Ni B, Yuan Z. Recent advances in mathematical modeling of nitrous

- oxides emissions from wastewater treatment processes [J]. *Water Research*, 2015,87:336–346.
- [83] Mehrani M J, Lu X, Kowal P, et al. Incorporation of the complete ammonia oxidation (comammox) process for modeling nitrification in suspended growth wastewater treatment systems [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021,297:113223.
- [84] Yang X, Yu X, He Q, et al. Niche differentiation among comammox (*Nitrospira inopinata*) and other metabolically distinct nitrifiers [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022,13:956860.
- [85] Mehrani M J, Kowal P, Sobotka D, et al. The coexistence and competition of canonical and comammox nitrite oxidizing bacteria in a nitrifying activated sludge system—Experimental observations and simulation studies [J]. *Science of the Total Environment*, 2023,864:161084.
- [86] Mei P, Wang Z, Guo W, et al. The ASM2d model with two-step nitrification can better simulate biological nutrient removal systems enriched with complete ammonia oxidizing bacteria (comammox *Nitrospira*) [J]. *Chemosphere*, 2023,335:139169.
- [87] Al-Ajeel S, Spasov E, Sauder L A, et al. Ammonia-oxidizing archaea and complete ammonia-oxidizing *Nitrospira* in water treatment systems [J]. *Water Research X*, 2022,15:100131.
- [88] Chao Y, Mao Y, Yu K, et al. Novel nitrifiers and comammox in a full-scale hybrid biofilm and activated sludge reactor revealed by metagenomic approach [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016,100(18):8225–8237.
- [89] 余杰.全程氨氧化菌的分布、活性及 N₂O 释放的影响研究——以典型白洋淀岸边带为例 [D]. 无锡:江南大学, 2023.
Yu J. Distribution, activity and N₂O production of Comammox: take a typical Baiyangdian riparian zone as an example [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [90] Metch J W, Wang H, Ma Y J, et al. Insights gained into activated sludge nitrification through structural and functional profiling of microbial community response to starvation stress [J]. *Environmental Science–Water Research & Technology*, 2019,5(5):884–896.
- [91] Orellana L H, Hatt J K, Iyer R, et al. Comparing DNA, RNA and protein levels for measuring microbial dynamics in soil microcosms amended with nitrogen fertilizer [J]. *Scientific Reports*, 2019,9(1):17630.
- [92] Gülay A, Fowler S J, Tatari K, et al. DNA- and RNA-SIP Reveal *Nitrospira* spp. as Key Drivers of Nitrification in Groundwater-Fed Biofilters [J]. *Mbio*, 2019,10(6):e01870–19.
- [93] Ding X, Lan W, Li Y, et al. An internal recycling mechanism between ammonia/ammonium and nitrate driven by ammonia-oxidizing archaea and bacteria (AOA, AOB, and Comammox) and DNRA on Angkor sandstone monuments [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021,165:105328.
- [94] Maria M, Katharina K, Arno S, et al. Flow-through stable isotope probing (Flow-SIP) minimizes cross-feeding in complex microbial communities [J]. *The ISME Journal*, 2021,15(1):348–353.
- [95] 张奇春,巩龙达,牛天新.氨氧化微生物对土壤硝化贡献的测量方法, 202210561194.7 [P]. 2022-05-23.
Zhang C, Gong L, Niu T. Measurement of the contribution of ammonia-oxidizing microorganisms to soil nitrification, 202210561194.7 [P]. 2022-05-23.
- [96] Zheng M, Tian Z, Chai Z, et al. Ubiquitous occurrence and functional dominance of comammox *Nitrospira* in full-scale wastewater treatment plants [J]. *Water Research*, 2023,236:119931.
- [97] Neufeld J D, Dumont M G, Vohra J, et al. Methodological considerations for the use of stable isotope probing in microbial ecology [J]. *Microbial Ecology*, 2007,53(3):435–442.
- [98] Liu S, Han P, Hink L, et al. Abiotic conversion of extracellular NH₂OH contributes to N₂O emission during ammonia oxidation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017,51(22):13122–13132.
- [99] Kits K D, Sedlacek C J, Lebedeva E V, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle [J]. *Nature*, 2017,549(7671):269–272.
- [100] Li D, Fang F, Liu G. Efficient nitrification and low-level N₂O emission in a weakly acidic bioreactor at low dissolved-oxygen levels are due to comammox [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021,87(11):1–13.
- [101] Ren Z, Li D, Zhang Z, et al. Enhancing the relative abundance of comammox *Nitrospira* in ammonia oxidizer community decreases N₂O emission in nitrification exponentially [J]. *Chemosphere*, 2024,356:141883.
- [102] Kits K D, Jung M, Vierheilig J, et al. Low yield and abiotic origin of N₂O formed by the complete nitrifier *Nitrospira inopinata* [J]. *Nature Communications*, 2019,10(1):1–12.
- [103] Wan X, Yang X, Zhang Y, et al. Lithology-driven soil properties control of N₂O production by ammonia oxidizers in subtropical forest soils [J]. *Geoderma*, 2024,446:116910.
- [104] Tan C, Yin C, Li W, et al. Comammox *Nitrospira* play a minor role in N₂O emissions from an alkaline arable soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022,171:108720.
- [105] Vasilaki V, Massara T M, Stanchev P, et al. A decade of nitrous oxide (N₂O) monitoring in full-scale wastewater treatment processes: A critical review [J]. *Water Research*, 2019,161:392–412.
- [106] Chen W, Yang J, Yuan C, et al. Toward better understanding and feasibility of controlling greenhouse gas emissions from treatment of industrial wastewater with activated sludge [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016,23(20):20449–20461.
- [107] Pan Y, Van Den Akker B, Ye L, et al. Unravelling the spatial variation of nitrous oxide emissions from a step-feed plug-flow full scale wastewater treatment plant [J]. *Scientific Reports*, 2016,6:20792.
- [108] Mampaey K E, De Kreuk M K, Van Dongen U, et al. Identifying N₂O formation and emissions from a full-scale partial nitrification reactor [J]. *Water Research*, 2016,88:575–585.
- [109] Zhu Y, Hou J, Meng F, et al. Role of comammox bacteria in granular bioreactor for nitrogen removal via partial nitrification/anammox [J]. *Bioresource Technology*, 2024,406:131070.
- [110] Shao Y, Wu J. Comammox *Nitrospira* species dominate in an efficient partial nitrification-anammox bioreactor for treating ammonium at low loadings [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021,55(3):2087–2098.
- [111] Vilardi K, Cotto I, Bachmann M, et al. Co-occurrence and cooperation between comammox and anammox bacteria in a full-scale attached growth municipal wastewater treatment process [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023,57(12):5013–5023.
- [112] Gottshall E Y, Bryson S J, Cogert K I, et al. Sustained nitrogen loss in a symbiotic association of comammox *Nitrospira* and anammox bacteria [J]. *Water Research*, 2021,202:117426.

作者简介: 赫梓轩(1999-),男,甘肃金昌人,武汉理工大学硕士研究生,主要从事污水低碳处理脱氮研究.837814450@qq.com.