

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2023.22.007

全程氨氧化菌(Comammox)在污水生物脱氮中的应用进展

李 旭^{1,2}, 周 鑫^{1,2}, 王共磊^{1,2}, 陈加波^{1,2}

(1. 太原理工大学 环境科学与工程学院, 山西 晋中 030600; 2. 山西省市政工程研究生教育创新中心, 山西 晋中 030600)

摘 要: 探索高效污水生物脱氮技术一直是污水处理领域的热点问题,而对具有将氨氮直接氧化为硝酸盐氮能力的全程氨氧化菌(Complete ammonia oxidizers, Comammox)的发现重新定义了人们对氮循环的认识。如何将全程氨氧化应用于污水处理厂的生物脱氮可能是未来研究需要重点解决的问题。为此,系统地阐述了Comammox菌的微生物学分类、生化特性和代谢机制,分析了Comammox菌与其他脱氮功能微生物的相互作用,总结了Comammox的影响因素。最后提出了基于Comammox-厌氧氨氧化协同实现城市污水主流脱氮的初步设想,并对Comammox的未来研究方向进行了展望。

关键词: 全程氨氧化菌; 污水处理; 生物脱氮; 厌氧氨氧化

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2023)22-0046-09

Advances in the Application of Comammox in Biological Nitrogen Removal from Wastewater

LI Xu^{1,2}, ZHOU Xin^{1,2}, WANG Gong-lei^{1,2}, CHEN Jia-bo^{1,2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Taiyuan University of Technology, Jinzhong 030600, China; 2. Shanxi Municipal Engineering Graduate Education Innovation Center, Jinzhong 030600, China)

Abstract: Exploring efficient biological nitrogen removal technology in sewage treatment has always been the focus of people's attention. The discovery of complete ammonia oxidizers (Comammox), with an ability to completely oxidize ammonia to nitrate, redefined the understanding of the nitrogen cycle. How to apply Comammox to biological nitrogen removal in wastewater treatment plants may be the basic problem to be solved in future research. The microbial classification, biochemical characteristics and metabolic mechanism of Comammox were reviewed, the interaction between Comammox and other nitrogen-removing microorganisms was analyzed, and the influencing factors of Comammox were summarized. Finally, a preliminary idea of mainstream nitrogen removal from municipal wastewater using the Comammox-Anammox-based synergy technology and the prospect of the future research of Comammox are proposed.

Key words: Comammox; wastewater treatment; biological nitrogen removal; Anammox

基金项目: 山西省基础研究计划项目(20210302123198); 山西省研究生教育创新项目(2022Y255); 山西省研究生教育教学改革课题(2022YJJG069)

通信作者: 周鑫 E-mail: raymans2006@163.com

自然界中存在大量微生物,其中硝化细菌和反硝化细菌在氮循环中起着重要作用,保持了物质的平衡。长期以来,硝化作用被普遍认为是由氨氧化菌(AOA/AOB)和亚硝酸氧化细菌(NO_B)两类微生物独立完成的,即氨氧化菌将氨氮先氧化成亚硝酸盐氮,亚硝酸氧化菌再将亚硝酸盐氮进一步氧化成硝酸盐氮。然而,全程氨氧化菌(Complete ammonia oxidizers, Comammox)的发现打破了120多年以来人们对硝化作用分两步进行的固有观念,对生物脱氮领域研究产生了重大影响。目前的研究表明,全程氨氧化是由一种菌群独立完成氨氮到硝酸盐氮的氧化过程,Comammox更适宜生长在寡营养和低溶解氧环境。若将Comammox成功应用于城市污水处理厂,不仅可以处理低浓度氨氮污水,还能降低曝气能耗,简化工艺流程,符合面向高排放标准、节能型未来污水处理厂的需求。

基于此,通过大量国内外文献调研,系统地总结了Comammox的生化特性、代谢特征及其在水/污水生物处理系统的研究进展,并对其在新型生物脱氮工艺的应用前景进行了探讨。

1 Comammox的发现

自1890年“两步硝化理论”被提出后,一百多年来有关硝化作用的研究都遵循这一原理。2006年,Costa等根据理想代谢过程中的动力学,进一步提出了存在全程氨氧化(即将氨氮一步氧化为硝酸盐)微生物的假设。又经过近10年的不断探索和深入研究,Comammox的真实面目终于在2015年被成功揭示。

Daims等^[1]对石油勘探井管道壁生物膜样品中富集的微生物进行荧光原位杂交(FISH)和聚合酶链式反应(PCR)检测,发现其中只包含*Nitrospira*,而已知的氨氧化细菌和相关酶的基因并未被检测到,因此推测*Nitrospira*具有直接将氨氮转化为硝酸盐的能力。随后,对其进行了宏基因组测序,发现*Nitrospira*属占比最高,并发现这种菌中同时含有氨单加氧酶(AMO)基因、羟胺氧化还原酶(HAO)基因和亚硝酸盐氧化还原酶(NXR)基因,充分证明了其具有全程氨氧化的能力。van Kessel等^[2]从低氨循环水产养殖滴滤池的厌氧隔间取样,并建立生物反应器进行培养,采用12个月的低氧条件下提供低浓度氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐的富集策略,得到了稳

定有效去除氨氮和亚硝酸盐的微生物群落。FISH检测结果显示,类*Nitrospira*属的亚硝酸盐氧化菌的占比高达15%。通过DNA测序发现,该微生物群落中有2种不同的*Nitrospira*种,且都含有完整的AMO基因、HAO基因和NXR基因,这些充分表明了这两种菌都具有全程氨氧化的潜能。由此Comammox的成功发现彻底改变了对硝化过程的传统认识,更重要的是对现有生物脱氮工艺的升级改造具有重要的理论价值和实践指导意义。

2 Comammox的富集与培养

目前,Comammox的分离和纯种培养仍然较困难,*Nitrospira inopinata*是唯一一种经富集培养而成功分离的纯种Comammox^[3]。但已经有不少研究对Comammox进行了成功富集。Takahashi等^[4]将土壤样品悬浮在低氨(0.4 mmol/L)和酸性(pH<6)条件的无机培养基中进行一个月的预培养,随后将培养物分别转移至连续进料(NH₄Cl和NaNO₂)生物反应器,最终从含有大量氨的茶园酸性土壤中成功富集Comammox。Zhao等^[5]建立了2个3 L的SBR生物反应器,在温度为24℃、pH为7.2的条件下进行了为期390 d的实验,结果表明不同氨源下Comammox始终占据优势。Li等^[6]利用以尿液为底物的反应器成功富集三种新型的Comammox,也证实以尿素为底物时可以实现Comammox的富集。此外,Sakoula等^[7]将Comammox富集培养物接种至连续流生物膜反应器,控制系统pH=7.5,以NH₄Cl为唯一底物并将其浓度逐步增加至2.5 mmol/L,在室温条件下进行了39个月的富集培养实验,成功富集一种新型的Comammox,并命名为*Candidatus Nitrospira kreffii*。未来寻找Comammox的纯种培养方法和富集条件对进一步了解Comammox生理生化特性具有重要意义。

3 Comammox的微生物学分类及生化特性

Comammox在微生物学上隶属于硝化螺菌属(*Nitrospira*),目前已发现的Comammox都属于*Nitrospira*谱系II^[1],并未形成一个单系的分支,因此无法通过16S rRNA基因的系统发育分析区分Comammox硝化螺菌属和传统的硝化螺菌属^[8-9],并且二者的核心基因存在部分重合,包括亚硝酸盐氧化途径、还原性三羧酸循环和糖异生途径等^[10]。但是,与传统的硝化螺菌不同之处是Comammox硝化螺菌基因组

缺乏同化亚硝酸盐还原的基因,这表明它们已经失去了使用外部亚硝酸盐作为氮源的潜力^[11]。同时,Comammox拥有的氨单加氧酶的编码基因(*amoA*)在系统发育上有别于传统硝化菌(AOA、AOB)的基因编码方式^[8],根据这一特点,Comammox可分为两个分支(clade A和clade B)^[1,2],其详细的系统发育如图1所示。

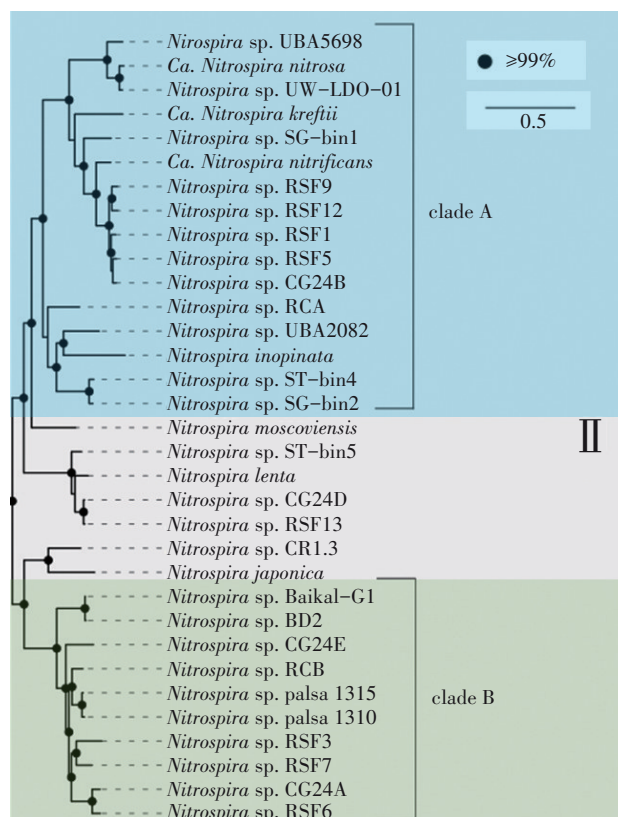


图1 Comammox系统发育信息(罗马数字表示*Nitrospira*谱系)

Fig.1 Phylogenomic analysis of Comammox(Sublineage of *Nitrospira* is indicated by roman numerals)

为了进一步探究Comammox的亲缘关系,高复云等^[11]利用885条Comammox *amoA* 蛋白和核酸序列构建系统发育树,发现序列明显地分成了两个进化枝。Pinto等^[12]在饮用水系统中发现Comammox的富集物*Nitrospira* sp. strain Ga0074138。Xia等^[13]通过*amoA* 基因高通量测序进一步将clade A分为clade A1和clade A2两支,其中clade A1包括“*Candidatus Nitrospira nitrosa*”“*Candidatus Nitrospira nitrificans*”和“*Candidatus Nitrospira inopinata*”,但并未发现属于clade A2的典型富集物。此外,Sakoula等^[7]成功富集一种新型Comammox clade A的菌种并取名“*Candidatus Nitrospira kreffii*”。目前还未发现属于clade B的典

型富集物和代表菌株。未来需加强不同生境中全程硝化菌的富集培养和分类工作,以丰富其菌种资源,便于更加全面准确地了解Comammox的微生物学特性。

在Comammox被发现前,氨氧化古菌(AOA)对氨的亲合力被认为高于氨氧化菌(AOB),因此在氨浓度较低的自然环境中,AOA更具竞争优势,对氨氮氧化具有重要贡献。然而,Kits等^[3]对经过4年富集培养并分离出的纯种Comammox(*Nitrospira inopinata*)进行硝化动力学研究,发现Comammox对氨的亲合力远远高于其他传统的氨氧化菌(AOA、AOB),其对氧气的亲和能力也高于AOA和AOB,因此更适应低氨氮、低溶解氧的环境。此外,Comammox虽然与传统亚硝化菌(NO)的关系十分密切,但是对亚硝酸盐的亲合力却很差。研究者还发现每氧化一个氨分子,Comammox(*Nitrospira inopinata*)生物量的增加量高于AOA和AOB,这也证明了Costa等的假设,全程氨氧化途径相较于分步氧化中单一氧化途径产生的ATP更多,微生物获得的可以用于支持自身生长的能量也就越多,其生物量增长也就越大。Kits等^[3]认为有效的固碳途径(吸收二氧化碳用于生物量的增长)也是Comammox型*Nitrospira inopinata*大量生长的一个重要原因。

4 Comammox 功能基因

amoA 基因是Comammox具有高度的唯一性和特异性的功能基因,这使其成为鉴别全程氨氧化微生物特异性功能和系统发育的重要标记。然而,甲烷单加氧酶(PMO)的*pmoA* 基因并不能被全程氨氧化*amoA* 基因特异性识别,这也导致了生物信息库中许多未被识别的Comammox *amoA* 基因被当作不寻常的*pmoA* 基因。

目前,关于Comammox的微生物引物总结^[1-2,8,13-18]见表1,针对Comammox的微生物特异性引物设计工作也取得了重要进展,然而这些引物只能针对已知Comammox *amoA* 基因的一小部分,因此如何通过检测其他特异性基因来鉴别未知的Comammox仍然是一个巨大挑战。此外,值得注意的是,Pinto等^[12]在Comammox中发现了之前从未在AOB基因中发现的血红素和细胞色素(ccmA to-H),这极有可能是Comammox的独有的一个微生物学特征。

表 1 Comammox 功能基因引物
Tab.1 Functional gene primers of Comammox

目标基因	引物	测序
<i>Ca. N. inopinata amoA</i>	Nino_amoA_19F Nino_amoA_252R	ATAATCAAAGCCGCCAAGTTGC AACGGCTGACGATAATTGACC
<i>Ca. N. nitrosa, Ca. N. nitrificans</i>	Ntspa476	CTGCAGGTACCGTCCGAA
<i>Comammox Nitrospira</i> clade A <i>amoA</i>	comaA-244F comaA-659R	TAYAAYTGGGTSAAYTA ARATCATSGTGCTRTG
<i>Comammox Nitrospira</i> clade B <i>amoA</i>	comaB-244F comaB-659R	TAYTTCTGGACRTTYTA ARATCCARACDGTGTG
Comammox UWM <i>amoA</i>	UWM_comammox_amoA_F1 UWM_comammox_amoA_R1	CGGACTACATGGGCTTTGC GAGCCCACTTCGATCATCC
Comammox <i>amoA</i>	Ntsp- <i>amoA</i> 162F Ntsp- <i>amoA</i> 359R	GGATTCTGNTSGATTGGA WAGTTNGACCACCASTACCA
Comammox <i>amoA</i>	comamoA AF comamoA SR	AGGNGAYTGGGAYTTCTGG CCGVACATACATRAAGCCCAT
Comammox <i>amoA</i> (Partial nested PCR)	A189Y C576r (first step) CA209f C576r-barcode (second step)	GGNGACTGGGAYTTYTGG GAAGCCCATRTARTCNGCC GAYTGGGAARGAYCGNCA XXXXXXXXXXXXGAAGCCCATRTARTCNGCC
Comammox clade A <i>amoA</i>	A378f C616r	TGCTGCTGCTGCTCNAAYTAT ATCATCCGRATGTACTCHGG
Comammox <i>amoAB</i> (THDP-PCR)	A378f-tag HDamo/ <i>pmoB</i> (first step) tag-barcode(second step)	GCCGGAGCTCTGCAGATATCTGCTGCTGCTGCTCNAAYTAT GCCGGAGCTCTGCAGATATCCKCATBCKNADRAAYGGYTC XXXXXXXXXGCCGGAGCTCTGCAGATATC
Comammox clade A <i>amoA</i>	COMAF COMAR	TGCGGIGACTGGGAYTTC AGATCATAGTGCTRTGICC
Comammox <i>amoA</i>	comamoA F comamoA R	AGGNGAYTGGGAYTTCTGG CGGACAWABRTGAABCCCAT
Comammox clade A <i>amoB</i>	cmx_amoB 148F cmx_amoB 485R	TGGTAYGAYACNGAATGGG CCCGTGATRTCCATCCA
注: ①K:G/T,R:A/G,Y:C/T,S:C/G,W:A/T,V:G/A/C,B:C/G/T,D:A/G/T,H:A/C/T,I/N:A/T/G/C;②XXXXXXXXXX和XXXXXXXXXXXXX 分别代表 8nt 和 12nt 条形码,用来在焦磷酸测序过程中区分混合物中的样品。		

5 Comammox 代谢机制

目前的研究证实 Comammox 的微生物代谢过程相当复杂,具体如图 2 所示。基因组学分析显示,*Nitrospira* 属全程氨氧化菌含有编码脲酶蛋白和相应的 ABC 转运系统,说明其可以利用尿素作为能源和生物合成的替代氮源^[1-2,10],也表明了除无机氮源外,Comammox 具备直接利用或共代谢简单无机物和有机物的能力。Kits 等^[3]通过全基因组序列分析发现,Comammox 具有氧化和发酵氢气及硫化物的能力。Palomo 等^[10]还发现只有 Comammox 含有碱性磷酸酶,而在 AOB 和 AOA 中并未检测到,表明在磷浓度较低的环境下,Comammox 更加具有竞争优势。

此外,虽然缺乏铜会降低 AMO 的活性,但 Comammox 含有铜稳态基因(*copCD* 和 *copAB*)^[10],因此 Comammox 更适应铜匮乏的环境。对于一些微污染物,如黄草灵、环酰菌胺、米安色林和雷尼替丁等,Comammox 也可以通过代谢作用将其去除。值得一提的是,*Nitrospira inopinata* 是目前唯一可以纯种培养的全程氨氧化菌,Comammox 的微生物动力学数据也均来源于 *Nitrospira inopinata*,因此具有一定局限性^[19]。

未来,应对更多种类的 Comammox 菌株进行纯种培养并对其进行研究与分析,才能更清楚地认识其生理生化特性以及与传统硝化微生物的相互作用

用机理。

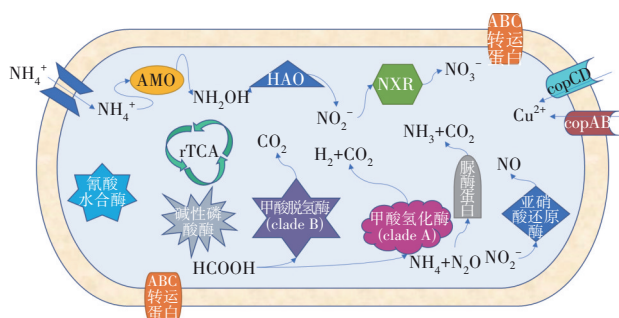


图2 Comammox代谢机制

Fig.2 Comammox metabolic mechanism

6 Comammox与其他脱氮微生物的关系

6.1 Comammox和AOA/AOB

长期以来,无论是在自然环境还是工程生态系统中,AOB一直被认为是硝化作用中氨氧化的主要贡献者,尽管在少数情况下AOA的丰度超过了AOB。然而,随着Comammox的发现以及对其不断的深入研究,这一观念逐渐发生改变。根据对硝化系统中氨氧化细菌相对丰度的研究,Comammox很少会在氨氧化过程中单独存在,而是常常与AOA和AOB和平共处,这从理论上表明它们是可以共存并且可能存在功能分化现象^[20]。从系统发育上来看,Comammox与AOA和AOB都存在着进化关联,即Comammox含有的 $amoA$ 和 hao 基因与Beta-AOB最为相似^[20],而其含有氧化酶基因也表明Comammox和部分AOA一样具有裂解硝酸盐进行氨氧化的能力^[21]。由于这三类微生物的代谢底物都是 NH_4^+-N ,因此Comammox与传统氨氧化菌也必然存在竞争关系。研究发现,在低氨氮、低溶解氧的环境中,Comammox对氨具有更高的亲和力及能量转化率,可以竞争过AOA和AOB而成为主要的氨氧化细菌^[21-23]。另一方面,在短程硝化反硝化工艺中,由于AOB的氧气亲和能力比NOB强,污水短程硝化的启动往往通过降低溶解氧来抑制和淘洗NOB,从而实现AOB的富集,进而提高亚硝酸盐的积累率^[24]。然而,低氨氮和低溶解氧浓度的环境也有利于Comammox的富集,从而导致亚硝酸盐积累率的破坏,降低脱氮效率。因此,如何控制反应参数来实现NOB和Comammox的抑制并强化AOB的富集需进一步深入研究。

6.2 Comammox和厌氧氨氧化菌(AnAOB)

van Kessel等^[2]在FISH成像下发现了Comammox

与AnAOB的共聚集体,这表明二者很可能存在共生关系。Wu等^[25]在处理污泥消化液的SBR反应器中也发现了Comammox与AOB、AnAOB三者共存的现象。最近,Gottshall等^[26]以水凝胶颗粒为载体,合成了Comammox *N. inopinata* 和 Anammox *Brocadia anammoxidans* 的复合群落(见图3),进一步探究了环境条件对其二者协同作用的影响。结果证实,Comammox和AnAOB在水凝胶珠内发生了空间分离,即:Comammox分布在好氧外层,而AnAOB分布在厌氧内层,并且形成了良好、稳定的合作关系。Wu等^[25]成功耦合亚硝化、厌氧氨氧化和全程氨氧化处理污泥消化液,实现了98%的氨氮和95%的TN去除。这些重要发现将对未来开发基于全程氨氧化和厌氧氨氧化耦合的生物脱氮新技术提供了重要的理论基础。

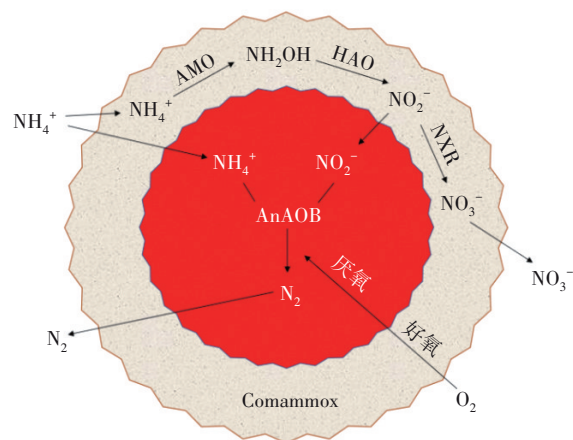


图3 Comammox和AnAOB在水凝胶颗粒内的空间分布和底物转化

Fig.3 Spatial distribution and substrate transformation of Comammox and AnAOB in hydrogel particles

6.3 Comammox和NOB

与NOB-*Nitrospira*相比,Comammox含有的氮循环基因更加丰富,其不仅与NOB具有相同的氧化亚硝酸盐的能力,还可以进行氨氮氧化、尿素分解和亚硝酸盐氮的氧化还原反应。但是,Comammox对亚硝酸盐的亲和力较差,缺乏利用亚硝酸盐作为氮源的能力^[1]。Black等^[27]通过分析贻贝栖息地的微生物群落,进一步探究了Comammox与NOB的关系。在好氧-厌氧环境中,Comammox clade A不含甲酸脱氢酶,也不能利用甲酸,而NOB可以利用发酵产生的甲酸,更具有生存优势。Fowler等^[15]发现在地下水砂滤系统中的低氨浓度($\mu\text{mol/L}$ 水平)环

境下出现了亚硝酸盐积累的现象,认为这是由于 Comammox 摄食 NOB 进行生长繁殖而造成的亚硝酸盐积累。而 Camejo 等^[28]发现 Comammox 具有将硝酸盐还原成 NO_2^- -N 和 NO 的能力,而 NOB 的基因具有降解 NO 和 N_2O 的潜力,二者能够共存,并可能降低气态产物的排放。此外,NOB 独有氰酸酯水合酶基因,因此在含有氰酸酯的环境中,其生长可能优于 Comammox^[29]。

7 Comammox 的影响因素

7.1 氨氮浓度

Comammox 是在低氨氮浓度环境中被发现的^[1-2],并且目前已证明 Comammox 成为主要氨氧化菌的研究都是在低氨氮条件下完成的,这也符合 Kits 等^[3]通过代谢动力学分析得出的 Comammox 菌对氨氮亲和力更高的结论。Cotto 等^[9]检测了 14 个脱氮系统中的微生物群落组成,结果发现在高氨氮浓度(>600 mg/L)系统中,Comammox 占比很少,这说明了高氨氮浓度的环境可能会抑制 Comammox 的生长。He 等^[30]设计实验探究了土壤中氨浓度对 Comammox 的影响,结果表明氨浓度的变化(0~500 $\mu\text{g/g}$)对 Comammox 丰度的影响显著,其丰度随着氨浓度的升高而逐渐降低,表明了其寡营养的生态位特性。总体来说,Comammox 微生物的丰度与氨浓度呈负相关^[17]。

7.2 溶解氧

低氧环境更有利于 Comammox 生长,其原因之一一是 Comammox 通过还原性三羧酸(rTCA)循环固定 CO_2 ,所需氧气较少(AOA:3-羟基丙酸酯/4-羟基丁酸酯循环;AOB:卡尔文循环),此外,Comammox 体内具有高氧亲和力的 bd 型末端氧化酶^[10]。van Kessel 等^[2]通过长期的低氧条件(O_2 浓度<3.1 $\mu\text{mol/L}$)有效富集了 Comammox 微生物群落。Shi 等^[31]通过探究 Comammox 在不同生境下的分布,发现其更适应氧气浓度较低的边缘河岸带。Roots 等^[22]在低溶解氧(<1 mg/L)的 SBR 反应器中成功富集 Comammox,并由其主导氨氧化。Wang 等^[32]进一步探究了溶解氧对 Comammox 的影响,发现当溶解氧浓度从 0.5 mg/L 升高至 8.5 mg/L 时,Comammox 的微生物丰度并未减少,但是出现了亚硝酸盐积累,这可能是由于高浓度的溶解氧会影响 Comammox 的最大氨氧化速率,导致 AOB 又重新主导氨氮的氧化,从而生成

较多的亚硝酸盐并积累。

7.3 污泥停留时间(SRT)

研究^[15,22]表明,较长的 SRT 有利于 Comammox 微生物的生长,因此,往往在附着生长型生物膜工艺的脱氮系统中可以检测出较高的 Comammox 丰度,这可能是由于生物膜增加了微生物的抗冲击负荷,对微生物起到一定的保护作用,同时其内部形成的氧浓度梯度也更加有利于 Comammox 和各类硝化细菌的协同代谢。此外,Cotto 等^[9]发现长 SRT(>12.5 d)和附着生长系统可以增加 Comammox 的丰度,并且 AOB 或 NOB 的丰度变化与 Comammox 的丰度变化没有密切联系,这表明 Comammox 可能在复杂的硝化菌群落中占据独立于典型硝化细菌的生态位。

7.4 温度和 pH

尽管还没有文献研究温度和 pH 在废水生物脱氮系统中对 Comammox 的影响,但其影响作用已在自然水体中被报道。Shi 等^[31]在对 Comammox 的区域分布特征和影响因素的探究中发现,冬季(7℃)巢湖中 Comammox 的丰度和多样性比夏季(22℃)高,这也与之前的研究结果^[33]相同,即氨氧化细菌在 4~8℃下的增长速率较快。此外,青藏高原的样品检测结果显示,Comammox 的丰度仅与海拔呈正相关,海拔的升高势必导致温度下降,这也间接说明了 Comammox 可能更适合在低温生境下生长。目前 pH 对 Comammox 的影响研究主要集中在土壤环境,Hu 等^[29]通过对 300 个森林土壤样品的检测发现,酸性条件(pH<6)下,Comammox 菌 clade A 的丰度最高,其次是 clade B 和 AOA。Takahashi 等^[4]也在 pH 为 5.5 的酸性土壤中成功富集 Comammox,表明 Comammox 更喜好酸性环境。因此,温度和 pH 对 Comammox 的生长发育以及代谢影响也不容忽视。这些研究很可能对 Comammox 处理低温、低 pH 城市污水实现强化生物脱氮具有较强的应用潜力。

8 Comammox 在污水处理系统中的应用

Comammox 分布广泛,存在于自然环境和人工生态系统中,如湿地和河床等淡水生境、地下含水层^[15]、湖泊沉积物、森林土壤、稻田和其他农业土壤、沿海和河口水域^[13]。此外,饮用水系统及污水处理厂也发现了 Comammox 的存在^[2,18,31]。在污水处理方面, van Kessel 等^[2]报道了低氨循环水产养殖

滴滤池内存在着能够有效去除氨氮和亚硝酸盐的“特殊”氨氧化微生物群落,通过FISH及DNA测序进一步证实了Comammox的存在,这是Comammox在污水处理系统中的首次发现。Zheng等^[34]对8座污水处理厂的微生物群落进行分析,利用PCR、qPCR和高通量测序技术,发现Comammox的 $amoA$ 基因转录丰度远高于AOA和AOB,说明全程氨氧化可能是污水处理厂中氨氧化的主要途径。Cotto等^[9]通过对14个脱氮系统生物群落的检测,发现Comammox在主流脱氮系统或附着生长的系统中普遍存在,并且所有系统中检测到的Comammox均属于clade A。Roots等^[22]建立12 L的SBR反应器,以回用水厂预处理的初级出水为进水,利用qPCR、16S rRNA和FISH等技术,证明了Comammox在氨氧化过程中起主导作用。Wu等^[25]建立10 L的SBR处理实际污泥消化液,通过PCR和聚合酶系统和高通量测序分析,发现了部分硝化、厌氧氨氧化和全程氨氧化可以协同脱氮。这些表明Comammox微生物在污水生物处理系统中广泛存在,并且可能主导氨氧化过程。

9 Comammox耦合厌氧氨氧化脱氮设想

目前,厌氧氨氧化(Anammox)已成为未来城市污水处理厂主流生物脱氮的关键核心技术,其最重要的技术难点在于 NO_2^- -N的稳定积累,然而城市污水先天不足的条件(低氨氮)不利于NOB的抑制和亚硝酸盐的积累;另一方面,为实现亚硝化,低DO运行容易使活性污泥系统产生污泥沉降变差甚至污泥膨胀和污泥流失等问题,导致主流Anammox面临巨大挑战。实际上,低氨氮的进水水质和低氧运行方式为Comammox筛选富集提供了得天独厚的先天条件,因而以Comammox为主导的氨氧化耦合厌氧氨氧化可能是城市污水主流脱氮新的解决途径。

在耦合工艺中如何形成Anammox的关键底物—— NO_2^- -N是一个关键问题。在单级生物膜/颗粒污泥体系(见图4)中,由于传氧受限,在体系内部形成了不同的DO浓度梯度,这样可以创造出有利于硝化(Comammox)、反硝化和厌氧氨氧化发生的微环境空间。在低氨进水和低氧运行条件下,一部分 NH_4^+ -N通过Comammox直接氧化为 NO_3^- -N,城市污水由于碳源有限,能够在进入缺氧微环境中发生

短程反硝化(PD),从而积累 NO_2^- -N,这样剩余的 NH_4^+ -N和产生的 NO_2^- -N促使Anammox在厌氧内层发生。Comammox在氨氧化过程中也可能会出现亚硝酸盐瞬时积累^[32],此外,某些Comammox同时具有将硝酸盐还原为亚硝酸盐的反硝化能力^[27],这些途径提供的亚硝酸盐也可能被厌氧氨氧化菌利用。因此,在单级生物膜/颗粒污泥体系中,可利用Comammox、反硝化菌和AnAOB功能菌在不同生态位的共存关系,从而实现多途径耦合的深度脱氮。目前基于Comammox/PD/Anammox协同脱氮作用已在高氨氮污泥消化液处理系统中得到证实^[30],在部分硝化耦合厌氧氨氧化(PNA)系统中也发现Comammox发挥了主导作用,而将其应用于处理低氨氮等城市污水将是未来研究的重点方向。

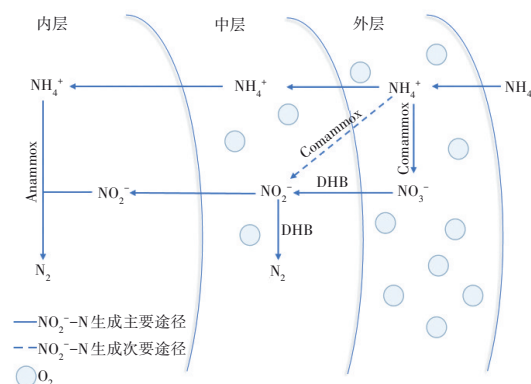


图4 基于Comammox-Anammox的单级生物膜/颗粒污泥体系耦合脱氮

Fig.4 Coupling nitrogen removal by Comammox-Anammox-based single-stage biofilm/granular sludge system

10 结语

Comammox被发现以来,越来越多的证据显示其在污水生物脱氮过程中发挥着重要作用。这种新型的氨氧化微生物不仅打破了对污水生物脱氮过程的传统认识,更对污水生物脱氮新工艺的设计和运行提出了新的机遇。如何构建Comammox-Anammox耦合工艺体系并提出长效控制策略是未来城市污水处理厂实现主流脱氮需要重点思考的问题。基于此,对未来研究提出以下展望:

- ① 探索Comammox分离培养的生物学方法,采用先进的分子生物学技术精确定性定量识别Comammox;
- ② 提高Comammox识别技术的准确性和特异

性,重点是引物的设计和实现功能基因的特异性识别。此外,是否有新谱系的Comammox的存在也需要新探针的开发和检测方法的不断完善;

③ 在Comammox与AOB(AOA)、NOB相互作用机制的研究基础上,进一步探究其不同生长环境下的生物动力学及代谢机制;

④ 研究低氨氮进水条件下Comammox的快速培养和富集方式,研发Comammox适宜的反应器型式,优化关键运行条件;

⑤ 进一步评估全程氨氧化-厌氧氨氧化协同脱氮过程中 N_2O 的排放特性和温室气体减排潜力。

参考文献:

- [1] DAIMS H, LEBEDEVA E V, PJEVAC P, *et al.* Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria [J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 504-509.
- [2] VAN KESSEL M A, SPETH D R, ALBERTSEN M, *et al.* Complete nitrification by a single microorganism [J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 555-559.
- [3] 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.
- [4] TAKAHASHI Y, FUJITANI H, HIRONO Y, *et al.* Enrichment of Comammox and nitrite-oxidizing *Nitrospira* from acidic soils [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11:1737.
- [5] ZHAO Y X, HU J J, YANG W L, *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.
- [6] LI J, HUA Z S, 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] SAKOULA D, KOCH H, FRANK J, *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.
- [8] PJEVAC P, SCHAUBERGER 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.
- [9] COTTO I, DAI Z H, HUO L X, *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.
- [10] PALOMO A, PEDERSEN A G, FOWLER S J, *et al.* Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the evolutionary history of Comammox *Nitrospira* [J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(7): 1779-1793.
- [11] 高复云, 李雅颖, 姚槐应. 完全氨氧化菌的分子生态学研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2020, 31(8): 2831-2840.
- GAO Fuyun, LI Yaying, YAO Huaiying. Research progress on primers and molecular ecology of Comammox *Nitrospira* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(8): 2831-2840 (in Chinese).
- [12] 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): e00054-15.
- [13] XIA F, WANG J G, ZHU T, *et al.* Ubiquity and diversity of complete ammonia oxidizers (Comammox) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(24): e01390-18.
- [14] BARTELME R P, MCLELLAN S L, NEWTON R J. Freshwater recirculating aquaculture system operations drive biofilter bacterial community shifts around a stable nitrifying consortium of ammonia-oxidizing *Archaea* and Comammox *Nitrospira* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 101.
- [15] 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.
- [16] WANG M Y, HUANG G, ZHAO Z R, *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.
- [17] YU C D, HOU L J, ZHENG Y L, *et al.* Evidence for complete nitrification in enrichment culture of tidal sediments and diversity analysis of clade A Comammox *Nitrospira* in natural environments [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(21):

- 9363-9377.
- [18] ZHAO Z R, HUANG G H, HE S 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.
- [19] 许少怡, 肖锐, 柴文波, 等. 全程硝化菌微生物特性及在水处理领域的应用潜力探究 [J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 315-332.
- XU Shaoyi, XIAO Rui, CHAI Wenbo, *et al.* Microbial characteristics and application potential of complete ammonia oxidation bacteria in water treatment system [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 315-332 (in Chinese).
- [20] KOCH H, VAN KESSEL M A H J, LÜCKER S. Complete nitrification: insights into the ecophysiology of Comammox *Nitrospira* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(1): 177-189.
- [21] YANG Y C, 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.
- [22] ROOTS P, WANG Y B, 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.
- [23] WANG Y L, MA L P, MAO Y P, *et al.* Comammox in drinking water systems [J]. *Water Research*, 2017, 116: 332-341.
- [24] 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 Liang, YU Jingyi, LI Chaoyang, *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 (in Chinese).
- [25] WU L N, SHEN M Y, LI J, *et al.* Cooperation between partial-nitrification, complete ammonia oxidation (Comammox), and anaerobic ammonia oxidation (Anammox) in sludge digestion liquid for nitrogen removal [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254: 112965.
- [26] 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.
- [27] BLACK E M, JUST C L. The genomic potentials of NOB and Comammox *Nitrospira* in river sediment are impacted by native freshwater mussels [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2061.
- [28] CAMEJO P Y, SANTO DOMINGO J, 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.
- [29] HU H W, HE J Z. Comammox—a newly discovered nitrification process in the terrestrial nitrogen cycle [J]. *Journal of Soil and Sediment*, 2017, 17(12): 2709-2717.
- [30] HE S S, LI Y W, MU H B, *et al.* Ammonium concentration determines differential growth of Comammox and canonical ammonia-oxidizing prokaryotes in soil microcosms [J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 157: 103776.
- [31] SHI Y, JIANG Y Y, WANG S Y, *et al.* Biogeographic distribution of Comammox bacteria in diverse terrestrial habitats [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 717: 137257.
- [32] WANG Z, ZHANG L, ZHANG F Z, *et al.* Nitrite accumulation in Comammox-dominated nitrification-denitrification reactors: effects of DO concentration and hydroxylamine addition [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384: 121375.
- [33] ALVES R J E, KEROU M, ZAPPE A, *et al.* Ammonia oxidation by the arctic terrestrial thaumarchaeote *Ca. Nitrosocosmicus arcticus* is stimulated by increasing temperatures [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1571.
- [34] ZHENG M S, WANG M Y, ZHAO Z R, *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: 717-722.

作者简介: 李旭(1997-), 男, 山西太原人, 硕士研究生, 研究方向为生物脱氮新技术。

E-mail: 471911387@qq.com

收稿日期: 2021-03-29

修回日期: 2021-04-20

(编辑: 丁彩娟)