



# 极端环境中异养硝化-好氧反硝化微生物的研究进展

吕鹏翼<sup>1</sup>, 李小曼<sup>2</sup>, 罗晓<sup>1\*</sup>, 刘云琦<sup>2</sup>, 林冬庆<sup>2</sup>

1 河北科技大学 环境科学与工程学院, 河北省污染防治生物技术重点实验室, 河北 石家庄 050018

2 河北科技大学 建筑工程学院, 河北 石家庄 050018

吕鹏翼, 李小曼, 罗晓, 刘云琦, 林冬庆. 极端环境中异养硝化-好氧反硝化微生物的研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(12): 4681-4700.

LYU Pengyi, LI Xiaoman, LUO Xiao, LIU Yunqi, LIN Dongqing. Heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying microorganisms in extreme environments[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(12): 4681-4700.

**摘要:** 异养硝化-好氧反硝化微生物(heterotrophic nitrification and aerobic denitrification microorganisms, HNADMs)在有氧条件下可以同时完成硝化和反硝化过程,为生物脱氮技术开发提供了新思路。研究发现部分 HNADMs 在极端环境下仍具有良好的脱氮效能,其在非典型污水脱氮领域表现出较高的应用价值,然而,当前关于极端环境中 HNADMs 的研究仍处于起步阶段。本文系统概述了 HNADMs 的多样性、生理生化特性和代谢路径的复杂性;重点对具有极端温度、pH、高盐、寡营养、重金属耐受性,以及同步脱氮除磷、降解复杂有机物、抗生素耐药性 HNADMs 的脱氮效能和耐受机理进行了综述;同时对极端环境耐受 HNADMs 的应用现状进行了总结;并基于当前极端环境耐受 HNADMs 研究中的瓶颈问题进行了展望,以期 HNADMs 在复杂污水处理中的应用提供基础资料。

**关键词:** 异养硝化-好氧反硝化; 极端环境; 脱氮效能; 耐受机理; 应用现状

资助项目: 河北省重点研发计划(21373904D); 河北科技大学引进人才科研启动基金(1181374)

This work was supported by the Key Research and Development Project of Hebei Province (21373904D) and the Doctoral Starting up Foundation of Hebei University of Science and Technology (1181374).

\*Corresponding author. E-mail: luoxiao@hebust.edu.cn

Received: 2024-06-28; Accepted: 2024-09-20; Published online: 2024-09-23

# Heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying microorganisms in extreme environments

LYU Pengyi<sup>1</sup>, LI Xiaoman<sup>2</sup>, LUO Xiao<sup>1\*</sup>, LIU Yunqi<sup>2</sup>, LIN Dongqing<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hebei Key Laboratory of Pollution Prevention Biotechnology, College of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, Hebei, China

<sup>2</sup> School of Civil Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, Hebei, China

**Abstract:** Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification microorganisms (HNADMs) can complete both nitrification and denitrification under aerobic conditions, which paves a new way for biological nitrogen removal. Researchers have discovered that some HNADMs maintain high nitrogen removal efficiency in extreme environments, exhibiting high application potential in the nitrogen removal of atypical wastewater. However, the available studies on HNADMs in extreme conditions remain in the initial stage. This article introduces the diversity, physiological and biochemical characteristics, and the complexity of metabolic pathways of HNADMs. Particularly, it reviews the research progress in HNADMs regarding the tolerance mechanisms to extreme temperature, pH, high salt, oligotrophic, and heavy metal stress conditions, nitrogen removal efficiency of simultaneous nitrogen and phosphorus removal, degradation of complex organic matter, and antibiotic resistance. Furthermore, the application status of HNADMs in extreme environments is summarized. Finally, the bottlenecks in the application of HNADMs in extreme environments are prospected. The review is expected to provide basic data for the application of HNADMs in complex wastewater treatment.

**Keywords:** heterotrophic nitrification and aerobic denitrification; extreme environments; nitrogen removal efficiency; tolerance mechanism; application status

传统生物脱氮(biological nitrogen removal, BNR)是当前国内外污水处理厂(wastewater treatment plants, WWTPs)主流的污水脱氮工艺。鉴于硝化过程与反硝化过程对溶解氧(dissolved oxygen, DO)及有机物需求的差异性, WWTPs需要将两者有机结合实现完整的生物脱氮。硝化过程主要由氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)和亚硝酸盐氧化菌(nitrite-oxidizing bacteria, NOB)驱动完成,此外,研究表明氨氧化古菌在污水处理系统中的作用同样不可小觑<sup>[1]</sup>。由于 AOB 及 NOB 自养菌的代

谢属性,其缓慢的生长速率使硝化过程成为 BNR 的限速步骤。传统的反硝化过程主要由异养反硝化微生物在厌氧/缺氧条件下将  $\text{NO}_3^-$ -N/ $\text{NO}_2^-$ -N 还原为  $\text{N}_2$ 。传统的 BNR 基于其效果显著、操作简单及技术成熟等优点在含氮废水的处理中应用最为广泛,然而在 WWTPs 迫切需要“提质增效”和“高效低耗”的大背景下,其占地面积大、设备和运营成本较高、硝化菌世代时间长以及对极端环境[高氨、高化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)、高盐、极端温度、极端 pH]的耐受性差等缺点亟待解决。

近年来,越来越多的氮代谢过程被发现,如厌氧氨氧化(anammox)、短程硝化-反硝化(short-cut nitrification denitrification)、全程硝化-反硝化(complete nitrification and denitrification)、硝酸盐异化还原成氨(dissimilatory nitrate reduction to ammonia, DNRA)、异养硝化-好氧反硝化(heterotrophic nitrification and aerobic denitrification, HNAD)等,其中,HNAD基于其在污水处理系统中的普遍存在性以及不可忽略的脱氮潜能日益被关注。与自养硝化菌和缺氧反硝化细菌相比,异养硝化-好氧反硝化微生物(heterotrophic nitrification and aerobic denitrification microorganisms, HNADMs)生长代谢快,有氧条件下可同时完成硝化和反硝化过程,并实现同步去除有机物等<sup>[2]</sup>,具有环境适应能力强和耐受多种污染物胁迫等优势。当前,关于HNADMs的研究主要聚焦于高效菌株的筛选、最优作用参数(碳源、碳氮比、DO浓度、温度及pH值等)的确定、应用模式的研究以及代谢机制的探究等。随着研究的深入,部分HNADMs表现出了较强的极端环境耐受性,如耐低温菌株谷氨酸杆菌(*Glutamicibacter* sp.) WS1<sup>[3]</sup>、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.) TAC-1<sup>[4]</sup>和恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*) Y-9<sup>[5]</sup>等在5–15 °C条件下对NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N的去除率均可达到80%以上;耐极端pH菌株*Acinetobacter* sp. JR1<sup>[6]</sup>在pH为4.5–10.0时,其总氮(total nitrogen, TN)去除率均能达到96%以上;菌株巨大芽孢杆菌(*Bacillus megatherium*) N07<sup>[7]</sup>在NaCl为8.00%的高盐环境中对NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N(初始浓度150 mg/L)的去除率可达到94.94%;*Pseudomonas putida* ZN1<sup>[8]</sup>对重金属Cu<sup>2+</sup>(浓度800 mg/L)具有较强耐受性;节杆菌属(*Arthrobacter* sp.) HHEP5<sup>[9]</sup>可去除海水养殖废水中99%的PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P和95%的TN。

耐受极端环境的HNADMs在极端环境含氮

废水的处理中表现出了较高的应用潜能。然而,目前针对耐受极端环境的HNADMs的研究仍处于起步阶段。本文系统概述了HNADMs的多样性、生态分布特征及其生理生化特征,总结了其代谢路径,重点综述了耐受极端环境的HNADMs的类型及其研究现状,讨论了其应用模式并对其前景进行了展望。

## 1 HNADMs的研究概述

### 1.1 HNADMs多样性

自1983年从活性污泥中分离鉴定出第1株HNAD菌泛养硫球菌(*Thiosphaera pantotropha*)<sup>[10]</sup>(现更名为*Paracoccus denitrificans*)以来,鉴于HNADMs独特的脱氮方式,近40年来引起了全球研究人员的极大关注。利用Web of Science、Google Scholar和ScienceDirect平台对自1983年以来报道的185株HNAD菌株进行统计,分析发现HNADMs广泛存在于细菌域中,少数为真菌及其他菌属,占比分别为79.1%、18.6%和2.3%(图1);细菌中变形菌门(*Proteobacteria*)为绝对优势菌属,占比为76.5%,其后依次为放线菌门(*Actinobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和厚壁菌门(*Firmicutes*),占比分别为14.7%、5.9%和2.9%;真菌中的优势菌门主要有子囊菌门(*Ascomycota*)、真菌门(*Eumycophyta*)及担子菌(*Basidiomycota*),占比分别为50.0%、33.3%和16.7%;变形菌门在纲水平的优势纲主要为γ-变形菌纲(59.26%)、β-变形菌纲(22.2%)以及α-变形菌纲(18.15%)。将绝对优势的变形菌门在属水平进一步统计分析(图1),当前分离株主要集中于假单胞菌属(*Pseudomonas*) (26.7%)、不动杆菌属(*Acinetobacter*) (24.7%)、芽孢杆菌属(*Bacillus*) (13.7%)和盐单胞菌属(*Halomonas*) (5.5%)。

氮元素作为最主要的生命元素及环境元素

在自然界中无处不在,由微生物驱动的氮循环是地球生物化学循环的重要组成部分,由微生物主导的脱氮过程是氮循环中不可或缺的重要环节。研究表明,HNADMs 在水生生态系统、陆地生态系统及大气生态系统中均有分布,尤其 WWTPs、水库、河流、海水等水生系统为 HNADMs 的主要生态位,不同类型水体及土壤中 HNADMs 的分布情况见表 1,明确 HNADMs

在上述不同类型水体中的分布情况、在氮循环中的贡献及作用是当前的研究热点。在土壤环境中 HNAD 过程主要由真菌驱动,常见于担子菌 (*Basidiomycetes*)<sup>[21]</sup>、曲霉菌(*Aspergillus*)<sup>[21]</sup>、青霉菌(*Penicillium*)<sup>[22]</sup>等。大量研究<sup>[25-26]</sup>报道,鉴于真菌比细菌具有更好的抗酸性和异养硝化性能,它们通常在氧化土壤中有机氮和铵态氮方面发挥重要作用。

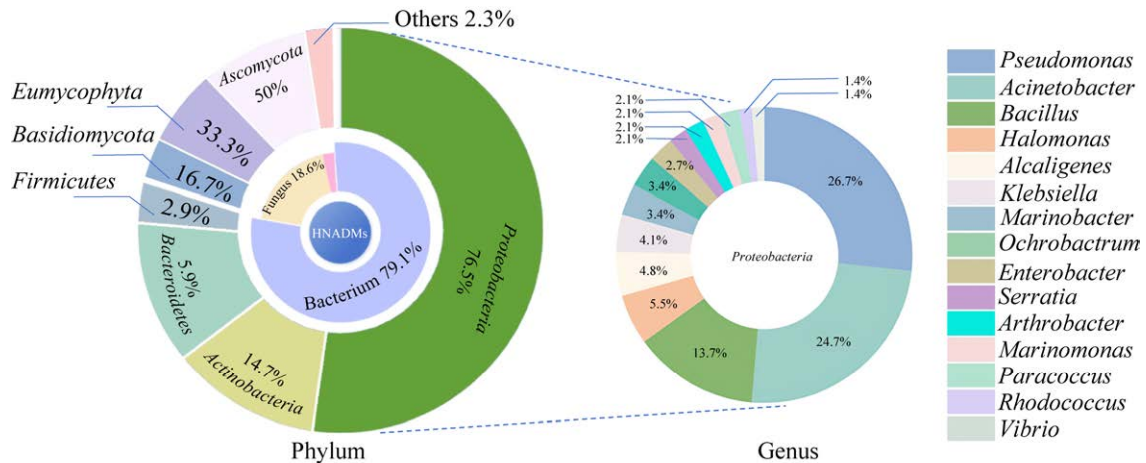


图 1 可培养 HNADMs 在门水平及属水平上的分类学信息

Figure 1 Taxonomic information of culturable HNADMs at phylum and genus levels.

表 1 不同类型水体及土壤中 HNADMs 的分布

Table 1 The distribution of HNADMs in different types of water and soil

Origin	Strains	Gram	
Wastewater	Coking wastewater	<i>Cupriavidus</i> sp. S1 <sup>[11]</sup>	G <sup>-</sup>
	Wastewater treatment plants	<i>Ochrobactrum anthropi</i> HND19 <sup>[12]</sup>	G <sup>-</sup>
	Aquaculture wastewater	<i>Pseudomonas mendocina</i> S16 <sup>[13]</sup>	G <sup>-</sup>
	Pig farm wastewater	<i>Acinetobacter</i> sp. T1 <sup>[14]</sup>	G <sup>-</sup>
	Eutrophic lake	<i>Pseudomonas</i> sp. N31942 <sup>[15]</sup>	G <sup>-</sup>
	The Songhua River	<i>Microbacterium esteraromaticum</i> SFA13 <sup>[16]</sup>	G <sup>+</sup>
	Artificial reservoir	<i>Acinetobacter</i> sp. H36 <sup>[17]</sup>	G <sup>-</sup>
	Activated sludge	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> TY1 <sup>[18]</sup>	G <sup>-</sup>
Soil	Paddy field soil	<i>Arthrobacter arilaitensis</i> Y10 <sup>[19]</sup>	G <sup>+</sup>
	Soil	<i>Pseudomonas</i> sp. PHR6 <sup>[20]</sup>	G <sup>-</sup>
	Soil	<i>Basidiomycetes</i> <sup>[21]</sup>	-
	Soil	<i>Penicillium</i> <sup>[22]</sup>	-
	Paddy soil	<i>Pseudomonas tolaasii</i> Y-11 <sup>[23]</sup>	G <sup>-</sup>
	Soil	<i>Bacillus cereus</i> PK5 <sup>[24]</sup>	G <sup>+</sup>
	Soil	<i>Bacillus subtilis</i> PK15 <sup>[24]</sup>	G <sup>+</sup>

G<sup>+</sup>: Gram-positive; G<sup>-</sup>: Gram-negative; - : Fungi without Gram-differentiation.

## 1.2 生理生化特性

HNADMs 种类繁多, 多数为革兰氏阴性菌(表 1), 如 *Pseudomonas*<sup>[27]</sup>、粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)<sup>[28]</sup>、无色杆菌属(*Achromobacter*)<sup>[29]</sup>等; 少数为革兰氏阳性菌, 例如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)<sup>[26]</sup>、甲基营养芽孢杆菌(*Bacillus methylotrophicus*)<sup>[30]</sup>等。研究表明, 碳源、C/N、温度、pH 和 DO 是影响 HNAD 细菌生长和代谢的主要因素。(1) HNADMs 为异养型, 在脱氮过程中能够以有机碳为基质用于细胞骨架的合成以及电子供体, 进而实现有机物的同步去除。HNADMs 可以利用多种碳源作为反应底物, 例如乙酸钠、琥珀酸钠、柠檬酸钠、草酸、蔗糖和葡萄糖等, 不同 HNAD 菌株的最适碳源类型不尽相同, 如以柠檬酸钠为碳源时, 食聚羟基丁酸酯有益杆菌(*Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans*) SL-20<sup>[31]</sup>的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  去除效率仅为 2.9%, 显著低于碳源为乙酸钠(90.8%)、琥珀酸钠(79.8%)和聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯) [poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV] (90.5%)。较宽的基质利用范围使其在不同类型有机物废水中具有很高的竞争力, 成为维持反硝化反应稳定进程的优势菌株。不同的 HNADMs 对特定的环境表现出不同的适应性。(2) 大多数 HNADMs 的 C/N 作用范围为 8–15, 然而, 部分 HNADMs 在寡营养条件下表现出很强的生存及脱氮能力, 如 *Acinetobacter* sp. Y16<sup>[32]</sup>、*Pseudomonas* sp. M-33<sup>[33]</sup>等; 除此之外, 一些耐高 COD 浓度的 HNAD 菌株如 *Pseudomonas aeruginosa* KDQ4<sup>[34]</sup>等也被分离。(3) 温度会影响酶的活性和细胞膜的特性, 大多数 HNADMs 的最适温度范围为 25–35 °C, 如施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*) ADP-19<sup>[35]</sup>和魔鬼弧菌(*Vibrio diabolicus*) SF16<sup>[36]</sup>等。近年来, 越来越多的耐低温菌株陆续被发现, 例如 *Acinetobacter* sp. HA2<sup>[37]</sup>、

*Acinetobacter* sp. Y16<sup>[32]</sup>等。(4) pH 主要通过影响细胞表面电荷和酶活性影响微生物代谢, 大多数菌株最适 pH 范围为 5.0–10.0, 代表菌株如 *Bacillus methylotrophicus* strain L7<sup>[38]</sup>、红球菌属(*Rhodococcus* sp.) CPZ24<sup>[39]</sup>和 *Pseudomonas* sp. N31942<sup>[19]</sup>等。随着 HNADMs 的关注度日益提高, 一些在极端环境中能够生存同时具有较高脱氮性能的 HNADMs 菌株, 如具备耐低(高)温、pH、高盐、寡营养、重金属以及同步脱氮除磷、去除难降解有机物及微塑料等的菌株陆续被分离筛选。

## 1.3 氮代谢路径

代谢过程的复杂性和氮代谢路径的多样性是 HNAD 研究中的又一热点和难点。当前关于 HNADMs 氮代谢路径的构建多是基于 PCR 技术对功能基因的定性结果、氮平衡理论的化学计量学方法或功能基因抑制剂的添加效果来进行的, 具有一定局限性。大量研究表明, 不同的 HNADMs 具有不同的氮代谢路径, 例如能够执行完全硝化反硝化过程<sup>[40]</sup>的菌株 *Pseudomonas aeruginosa*<sup>[41]</sup>、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) GS-5<sup>[42]</sup>和 *Arthrobacter* sp. HHEP5<sup>[9]</sup>具备完整的硝化及反硝化酶系, 当以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为氮源时, 菌株能够利用氨单加氧酶(ammonia monooxygenase, AMO)、羟胺氧化酶(hydroxylamine oxidase, HAO)及亚硝酸盐氧化还原酶(nitrite oxidoreductase, NXR)依次将  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  氧化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 硝化过程的终产物  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  在反硝化酶周质硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NAP)、亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NIR)、一氧化氮还原酶(nitric oxide reductase, NOR)及一氧化二氮还原酶(nitrous oxide reductase, NOS)的催化下最终还原生成  $\text{N}_2$  释放(图 2 中 Pathway 1); 执行羟胺氧化途径<sup>[43]</sup>(图 2 中 Pathway 2)氮代谢途径的菌株 *Halomonas* sp. DN3<sup>[44]</sup>、*Alcaligenes faecalis* strain NR<sup>[45]</sup>和 *Alcaligenes faecalis* TF-1<sup>[46]</sup>等能够

利用 AMO 将  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  氧化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ , 随后转化为  $\text{NO}$ , 在反硝化酶 NOR 和 NOS 的催化下还原生成  $\text{N}_2$  (图 2 中 Pathway 2), 该路径未检测到  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  与  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的相互转化过程, 一定程度上提高了氮转化效率; 部分 HNAD 菌株不具有完全的 HNAD 代谢途径, 例如通过基因组学分析发现 *Pseudomonas* sp. N31942<sup>[19]</sup> 不具备通过反硝化作用生成气态氮的能力, 如图 2 中 Pathway 3 所示, 当以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为氮源时, 其代谢路径为  $\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{Glutamate}$ , 菌株首先利用 AMO、HAO 及 NXR 依次将  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  氧化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 生成的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  通过硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NR)转化为  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ , 还原产物  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  被 NIR 转化为  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 最终, 新生成的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  被谷氨酸还原酶(glutamate dehydrogenase, GDH)转化为谷氨酸用于细胞生长, 在该氮代谢路径中同化作用是

$\text{NH}_4^+\text{-N}$  代谢的最主要途径。此外, HNAD 过程中可能存在的其他氮代谢路径详见表 2。

同一菌株在不同的条件下可能驱动不同的氮代谢过程。研究表明, 不同氮源类型下菌株会选择不同的氮代谢过程,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  或  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的存在会降低菌株的同化率, 例如将脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*) HY-1<sup>[53]</sup> 的氮源由  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  更换为  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  或  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  时, 同化率从 80.7% 分别降至 28.91% 和 30%; 当以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为唯一氮源时, 根瘤菌(*Rhizobium* sp.) WS7<sup>[54]</sup> 通过羟胺还原途径代谢  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 以  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  或  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  为氮源时, 菌株执行硝酸盐和亚硝酸盐反硝化途径; *Pseudomonas putida* Y-9<sup>[5]</sup> 以  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  为唯一氮源时, 通过同化以及 DNRA 代谢  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  及  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  为混合氮源时, 硝化、DNRA 和反硝化共存; 由此可知, 对于 HNAD 过程而言, “异养硝化”环节既可能发生硝化反应, 也可能将外源氮源合成自身生物体氮。不同 HNADMs

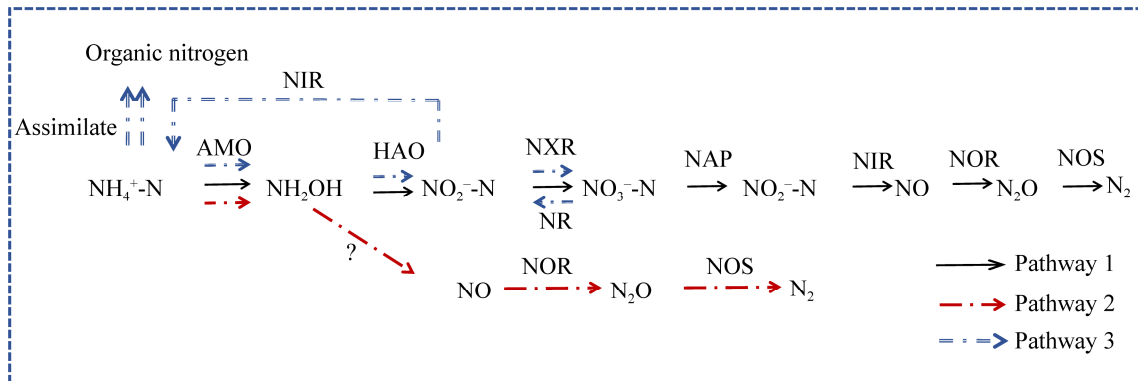


图 2 异养硝化-好氧反硝化氮代谢路径<sup>[9,19,40-47]</sup>

Figure 2 The nitrogen metabolism pathways of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification<sup>[9,19,40-47]</sup>. AMO, HAO, NXR, NR, NAP, NIR, NOR, and NOS represent the functional enzymes involved in HNAD. The question mark (?) represents the specific pathway is unclear.

表 2 HNAD 过程中可能存在的其他氮代谢途径

Table 2 Other possible nitrogen metabolism pathways in the HNAD processes

Number	Metabolic pathway	References
1	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	[4]
2	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{N}_2$	[48]
3	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	[49]
4	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3^-\text{-N} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	[50]
5	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O}$	[51]
6	$\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	[52]

发生好氧反硝化的 DO 不尽相同: *Pseudomonas* sp. G16<sup>[55]</sup>的反硝化能力随 DO 升高而增强, 在 0 r/min 时  $\text{NO}_3^-$ -N 去除效果仅为 10%,  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率为 98.26%, 当摇床转速提高到 150 r/min 或更高时, G16 对  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 去除效率均趋于 100%; *Pseudomonas* sp. AND-42<sup>[56]</sup>的最佳 DO 为 3.0 mg/L, 过高或过低的 DO 浓度均会导致  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率降低; 当将振荡速度从 160 r/min 降低到 50 r/min 时, *Pseudomonas stutzeri* T13<sup>[57]</sup>对 TN 的去除效率从 23.47% 显著提高到 99.21%; 因此, 严格来说, “好氧反硝化”更准确地表述应为“有氧反硝化”。越来越多的研究证实, HNADMs 为兼性厌氧菌, *Thiosphaera pantotropha* 在厌氧和有氧条件分别通过催化膜结合硝酸盐还原酶 (respiratory nitrate reductase, NAR) 和周质硝酸盐还原酶 NAP 进行硝酸盐还原<sup>[58]</sup>; Huan 等<sup>[59]</sup>利用全基因组测序证实菌株 *Paracoccus denitrificans* HY-1 同时具有 *napA* (周质硝酸盐还原酶 NAP 编码基因) 及 *narG* (编码膜结合硝酸盐还原酶 NAR), 并在有氧和厌氧条件下均具有良好的反硝化能力; 由此推测大部分 HNADMs 在不同的 DO 环境下可通过驱动不同的酶系进行硝酸盐还原过程。

上述研究表明, HNADMs 的氮代谢途径是高度动态且受环境条件调控的。氮源类型及 DO 是驱动 HNADMs 选择氮代谢路径的关键环境因子。代谢过程的多样性及灵活性使得 HNADMs 能够在复杂氮源环境中繁殖并进行脱氮, 该特性也导致了 HNADMs 代谢机理研究的复杂性。当前基于氮源利用、氮平衡来推测 HNAD 途径的方法有一定的局限性, 随着分子生物学技术的发展, 基因组学、转录组学、代谢组学和蛋白质组学在 HNAD 代谢路径的研究中提供了更多可能性, 同时同位素法在氮代谢路径的构建中提高产

物的辨识度。

## 2 极端环境中的 HNADMs

近年来, 一些耐受极端环境的 HNADMs 如耐低温/高温、耐酸/碱、耐盐、耐重金属、同步脱氮除磷菌株等陆续被分离筛选, 以上特殊优势使 HNADMs 在非典型废水 BNR 领域的应用展现出了巨大的潜力。

### 2.1 极端温度耐受 HNADMs

温度是影响微生物新陈代谢的最主要因素之一。温度通过影响酶活性、基因的表达影响其生长及代谢, 高温会导致核酸蛋白质组分变性, 破坏菌体生理结构, 而低温会抑制微生物酶的活性<sup>[60-61]</sup>, 降低微生物世代时间。大多数 HNADMs 最佳的生长及脱氮温度范围为 25–37 °C<sup>[62]</sup>, 然而部分 HNADMs 对温度表现出较高耐受性: 如耐高温菌株大邱螯合球菌 (*Chelatococcus daeguensis*) TAD1<sup>[63]</sup>, 将其与生物滤池相结合, 在最优运行参数下 50 °C 时其对  $\text{NH}_4^+$ -N 及 TN 的去除效率均达到了 100%; 55 °C 时污染无氧芽孢杆菌 (*Anoxybacillus contaminans*) HA<sup>[64]</sup>对  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 的去除率分别为 71.00% 和 74.70%; 大多数研究将其归因于高温下与 HNAD 过程相关的酶活性的增加<sup>[65]</sup>。同时, 越来越多的耐低温菌陆续被发现, 耐低温菌株 *Acinetobacter* sp. Y16 在 2 °C 下对  $\text{NH}_4^+$ -N 及  $\text{NO}_2^-$ -N 的去除率仍可达到 66.00% 和 56.73%; 杨墨等<sup>[33]</sup>从冬季松花江底泥中分离出能够在 10 °C 条件下实现高效脱氮的菌株 *Pseudomonas* sp. M-33, 该菌株在中性偏碱性的条件对  $\text{NH}_4^+$ -N 的去除率高达 95%; 2 °C 条件下菌株 *Pseudomonas* sp. M-11<sup>[66]</sup>产生低温应激反应并合成能维持其低温反应的特有酶, 如冷激蛋白。上述耐低温菌株在低温下可正常生长同时可实现高效脱氮, 关于其耐冷机制的解释总结



如下：(1) 细胞膜脂肪酸的调控机制<sup>[67]</sup>，*Acinetobacter* sp. TAC-1<sup>[4]</sup>的膜转运蛋白和不饱和脂肪酸脱氢酶相关基因在 5 °C时显著上调，使其能够在低温下存活；(2) 内含抗冻蛋白和耐低温酶的编码基因<sup>[68]</sup>，例如拉恩氏菌属(*Rahnella* sp.) R3 产生 β-半乳糖苷酶，使其在 4 °C时依然能保持最适宜温度下的 80%的酶活性<sup>[69]</sup>；(3) 冷休克蛋白(cold shock proteins, CSPs)<sup>[70]</sup>的表达在低温下显著上调。然而，当前相关功能基因的类型尚不明确，未来可以通过基因敲除和全基因组分析等生信手段确定。更多极端环境耐受 HNADMs 详见表 3。以上研究表明，部分耐极端温度的 HNAD 功能菌株有相对较广的温度适应范围，在低温或高温胁迫下均表现出了优秀的脱氮效能，该类微生物在冬季低温废水(10–15 °C<sup>[75]</sup>)及工业废水(高于 40 °C)等污水处理领域中具有广泛的应用前景。

## 2.2 极端 pH 耐受 HNADMs

脱氮微生物是一类 pH 敏感菌，pH 波动会改变细胞表面的电荷，进而影响营养物质的吸收，其次，细菌中相关酶的活性也会受到 pH 的影响。强酸(pH<5.0)或强碱(pH>10.0)条件对 HNAD 细菌的生长有负面影响<sup>[76–79]</sup>。基于 AMO 对氨的利用率大于铵根的理论，在微碱性环境中，较多的游离氨可能更有利于异养硝化作

用<sup>[80]</sup>，因此，大多数 HNADMs 一般适应于中性或弱碱条件(pH 7.0–9.0)。然而，一些 HNADMs 表现出了较高的 pH 耐受性：如陈茂霞等<sup>[81]</sup>从活性污泥中分离出的气单胞菌属(*Aeromonas*) HN-02，其最佳 pH 范围为 6.0–9.0，24 h 时对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的去除率为 82.93%–90.20%，当 pH 为 2.3 和 4.0，24 h 时对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的去除率仍能达到 61%和 73%；*Acinetobacter* sp. JR1<sup>[6]</sup>在 pH 4.5–10.0 时，对 TN 的最大去除效率均能达到 96%以上。综上可知，部分 HNADMs 在强酸或强碱环境中仍表现出了较高的脱氮能力，该类菌株在酸性含氮废水(如食品废水)及碱性含氮废水(如海产养殖废水)处理中具有广阔的应用潜能。

## 2.3 耐盐 HNADMs

理论上，高盐环境会导致菌体内渗透压升高，影响细胞的结构、酶活性和代谢活性<sup>[36]</sup>。高盐会影响营养物质进入细胞内的运输效率，导致生物脱氮效率降低，难以达到排放标准。然而令人惊讶的是，许多 HNADMs 如墨西哥微小杆菌(*Exiguobacterium mexicanum*) SND-01<sup>[82]</sup>和门多萨假单胞菌(*Pseudomonas mendocina*) TJPU04<sup>[83]</sup>在高盐(盐度大于 1%)含氮废水中仍然可以进行高效的氮代谢和氮去除。*Bacillus methylotrophicus* L7<sup>[38]</sup>进行异养硝化过程的最适

表 3 极端温度耐受 HNAD 菌株及其脱氮效能

Table 3 Extreme temperature tolerant HNAD strains and their nitrogen removal performance

Strain	T/°C	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N removal	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N removal
<i>Acinetobacter</i> sp. TAC-1 <sup>[4]</sup>	5	94.6%	40%
<i>Microbacterium</i> sp. SFA13 <sup>[71]</sup>	5	1.6 mg/(L·h)	0.24 mg/(L·h)
<i>Pseudomonas</i> sp. M-11 <sup>[66]</sup>	10	98%	–
<i>Pseudomonas putida</i> Y-9 <sup>[5]</sup>	15	99.36%	82%
<i>Acinetobacter</i> sp. HA2 <sup>[37]</sup>	10	100%	–
<i>Pseudomonas migulae</i> AN-1 <sup>[72]</sup>	10	1.6 mg/(L·h)	1.5 mg/(L·h)
<i>Acinetobacter</i> TY1 <sup>[73]</sup>	8	97.4%	81.85%
<i>Acinetobacter</i> sp. Z1 <sup>[74]</sup>	10	96%	97.5%
<i>Chelatococcus daeguensis</i> TAD1 <sup>[63]</sup>	50	100%	100%
<i>Anoxybacillus contaminans</i> HA <sup>[64]</sup>	55	71%	74.7%

–: It is not mentioned in the literature.



盐度为 0.0 g/L NaCl, 而在好氧反硝化过程中, 其最适盐度为 10.0 g/L NaCl。从海洋沉积物中分离出的嗜盐 *Vibrio diabolicus* SF16<sup>[36]</sup>在高盐条件下具有良好的异养硝化-好氧反硝化能力, 盐度为 1%–5%时能够去除 91.82%的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (119.77 mg/L)和 99.71%的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  (136.43 mg/L)。 *Aeromonas* sp. HN-02<sup>[84]</sup>的抗氧化酶体系活性上升以减少高盐对菌体造成的损伤, 使其具有一定的耐盐性。鞘氨醇盒菌 (*Sphingopyxis* sp.) CY-10<sup>[85]</sup>去除  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的最佳盐度在 0–5%之间, 最大脱氮速率为 6.25 mg/(L·h), 代谢组学数据显示, 在 5%盐度条件下, 蔗糖和 D-塔格糖 (D-tagatose)的代谢水平显著升高, 使菌株能够调节渗透压并在高盐环境中生存。 *Pseudomonas aeruginosa* P-1<sup>[86]</sup>表现出了较强的高盐度耐受性, 当盐度低于 40.0 g/L 时, 在 24 h 内可去除高达 90%的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。当前, 关于耐盐 HNADMs 的研究仍聚焦于实验室规模的分离和性能验证, 对于该类菌株的耐盐机制及在实际废水处理中的应用仍需进一步研究。

## 2.4 寡营养耐受 HNADMs

在传统的污水处理厂中, 较低的碳氮比 (C/N)有利于氨氧化过程, 因为较高的有机负荷可能对自养硝化菌 (autotrophic nitrifying bacteria, ANB)产生不利影响。与 ANB 相比, HNADMs 需要更高的 C/N, 且适当的 C/N 可以显著加快硝化过程中的硝化速率。不同 HNADMs 的最佳 C/N 各不相同, 大多数研究表明, 较高的 C/N 更有利于铵的去除。一般情况而言, 大多数 HNADMs 的最佳 C/N 比在 8–20<sup>[87]</sup>之间, 菌株可获得较好的生长速率和反硝化效率。对于 HNAD 而言, 碳源一部分作为电子供体, 一部分作为生物体碳来源, 匮乏的碳源环境会显著抑制反硝化作用并降低反硝化微生物的生物量。C/N 为 5 时, *Pseudomonas* sp. M-33<sup>[33]</sup>对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率达

90%。C/N 为 4 时, *Pseudomonas stutzeri* ADP-19<sup>[35]</sup>的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  去除率为 96.5%。 *Acinetobacter* sp. Y16<sup>[32]</sup>的最适 C/N 为 2, 在寡营养环境下其对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除效率最高可达 63%, 是目前发现的 HNADMs 进行氮代谢的最低 C/N。寡营养菌株的发现扩大了 HNADMs 在饮用水水源地、寡营养湖泊等水体中的应用范围。

## 2.5 重金属耐受 HNADMs

Fe、Mg、Cu 等重金属是全酶的辅助因子, 在催化生化反应中非常重要, 然而金属含量过高会抑制微生物活性<sup>[88]</sup>。例如当  $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为 1.5 mg/L 时, 气单胞菌属 (*Aeromonas* sp.) HN-02<sup>[84]</sup>对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除几乎停止。工业废水中通常含有  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等重金属离子, 因此, 应更加重视含氮工业废水系统中重金属的影响。部分 HNADMs 表现出了较强的重金属耐受特性: 添加  $\text{Fe}^{2+}$  (11.2 mg/L)可显著减少多能副球菌 (*Paracoccus versutus*) LYM<sup>[89]</sup>反硝化过程中  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  的积累。贪铜菌属 (*Cupriavidus* sp.) S1<sup>[15]</sup>对分别含有  $\text{Cu}^{2+}$  (8.0 mg/L)和  $\text{Zn}^{2+}$  (20.0 mg/L)的废水可实现 90%以上  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除; 0.5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$  (31.8 mg/L)和 0.5 mmol  $\text{Zn}^{2+}$  (32.5 mg/L)对 *Bacillus* sp. PK15<sup>[26]</sup>的生长以及  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除未产生影响; 80.0 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 和  $\text{Zn}^{2+}$ 单独存在时对 *Pseudomonas putida* ZN1 的生长和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除几乎未产生不利影响, *copB-1* 成功表达是 ZN1 耐受较高  $\text{Cu}^{2+}$  的原因<sup>[8]</sup>; 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) PCN-2<sup>[90]</sup>在好氧及 pH 8.0–9.0 条件下, 9 h 内能同时去除 400 mg/L 的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  并还原 5.0 mg/L 的  $\text{Cr}^{6+}$ ; *ChrR* (铬酸还原酶基因)和反硝化基因的表达使 PCN-2 具备了同时还原  $\text{Cr}^{6+}$ 和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的能力。当  $\text{Cr}^{3+}$ 浓度低于 60 mg/L 时, 褪色沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) CL1502<sup>[91]</sup>的异养硝化能力不受影响, 当浓度增加到 150 mg/L 时, 异养硝化能力仅降低了

10%；*Pseudomonas aeruginosa* P-1<sup>[87]</sup>表现出了较强的  $\text{Cu}^{2+}$  及  $\text{Cr}^{6+}$  耐受性，当  $\text{Cu}^{2+}$  为 30.0 mg/L 和 50.0 mg/L 时，菌株 P-1 对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率分别为 100% 和 52.18%，在 50 mg/L 的高  $\text{Cr}^{6+}$  环境下，80% 以上的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  能够被 P-1 去除；在 60 mg/L 的  $\text{Cr}^{6+}$  条件下，*Pseudomonas putida* ZN1<sup>[92]</sup> 可削减 94.86% 的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。一方面，低浓度的重金属如  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  等会以辅助因子的身份参与到酶的催化过程进而促进生物反应的进行，另一方面，重金属抗性基因的表达使其对相应的重金属具有抗性；然而，当其浓度超过安全阈值时会通过损伤微生物细胞膜，阻碍代谢和分子合成从而抑制生物过程；有毒有害重金属如  $\text{Cr}^{6+}$  及 Cd 等在生物体中可以导致自由基的形成并损伤 DNA<sup>[93]</sup>。耐重金属的 HNADMs 基于其经济、高效和环境友好的优势，在处理含 Cr、Cd 等重金属的污染水体领域引起了广泛关注，关于其应用模式有待进一步完善。

## 2.6 同步脱氮除磷的 HNADMs

近年来，部分 HNADMs 在有氧条件下进行硝化反硝化的同时也可利用  $\text{O}_2$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  或  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  作为电子受体氧化有机物获得能量促进磷的吸收，即在硝化反硝化脱氮的同时实现过量吸磷作用<sup>[94]</sup>，例如 *Pseudomonas stutzeri* YG-24<sup>[79]</sup>、*Bacillus cereus* GS-5<sup>[42]</sup>、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) HW-15<sup>[95]</sup> 和 *Acinetobacter* sp. strain C-13<sup>[79]</sup> 等菌株具有同步脱氮除磷的功能，打破了传统聚磷菌 (phosphorus accumulating organisms, PAOs) 和反硝化聚磷 (denitrifying P-accumulating organisms, DPAOs) 需要厌氧、缺氧/好氧交替的环境条件限制，该类微生物被归类为异养硝化-好氧反硝化脱氮除磷菌 (heterotrophic nitrification-aerobic denitrification and aerobic P removal, HNADPR)。菌株 *Pseudomonas putida* strain NP5<sup>[96]</sup> 可将水体中的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  几乎全部去除，催化除磷的

关键酶多聚磷酸激酶 (polyphosphate kinase, PPK)、外切聚磷酸酶 (polyphosphate esterase, PPX) 的酶活性显著升高，进一步说明了该菌株同步脱氮除磷的代谢机制。PPK 可催化三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的末端磷酸转化为长链多聚磷酸 (polyphosphate, Poly-p)，PPX 是催化多磷酸盐释放磷酸的主要酶<sup>[35]</sup>，在菌株 *Pseudomonas stutzeri* ADP-19<sup>[35]</sup> 中，PPK 的酶活性远高于 PPX，表明聚磷为 ADP-19 除磷的主要方式。ppk 基因已在 *Pseudomonas putida* strain NP5<sup>[96]</sup>、*Bacillus cereus* GS-5<sup>[42]</sup>、*Enterobacter cloacae* HW-15<sup>[95]</sup> 和 *Acinetobacter* sp. strain C-13<sup>[79]</sup> 等 HNADMs 中被成功扩增。虽然生物脱磷基因 ppk 和 ppx 已被成功扩增，但上述基因究竟是如何发挥功能的尚不清楚。因此，需要进一步深入探究。

传统的聚磷菌 PAOs 储存的细胞内磷高达 90%，并且 Poly-p [约占总磷 (total P, TP) 的 50%] 是生物除磷 (biological phosphorus removal, BPR) 过程微生物细胞中磷的主要形式<sup>[97]</sup> (图 3 Pathway 2)；好氧除磷菌如希瓦氏菌属 (*Shewanella* sp.) CF8-6<sup>[98]</sup>、皱褶念珠菌 (*Diutina rugosa*) BL3<sup>[99]</sup> 等吸收磷酸盐主要存在于胞外多聚物 (extracellular polymeric substance, EPS) (60%–70%) 中 (图 3 Pathway 3)，例如菌株 *Diutina rugosa* BL3 的 EPS 提取物中正磷酸盐 (orthophosphate, Ortho-P) 和 Poly-p 的 TP 占比分别为 41.5% 和 38.6%。当前关于 HNADPR 菌的磷代谢路径研究相对匮乏，*Pseudomonas stutzeri* ADP-19 主要依赖 EPS 中过量 P 积累以及磷酸盐同化<sup>[35]</sup>。Huang 等<sup>[41]</sup> 通过 P 平衡分析推测出 HNADPR 菌株 *Pseudomonas aeruginosa* strain SNDPR-01 吸收  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  后，14%–41% 转化为了细胞膜磷脂 (图 3 Pathway 1)、10%–14% 转化为了细胞质脂类以及 37%–46% 转化为 EPS，其中磷酸单酯是 EPS 中 P 的主要存在形式；氮源会影响 HNADMs 的磷代谢，例如

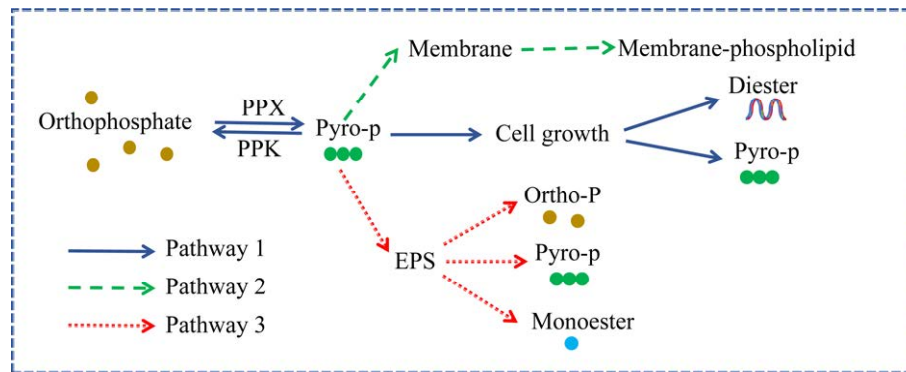


图3 磷转移途径

Figure 3 Phosphorus transfer pathways.

SNDPR-01 以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为唯一氮源时, 细胞膜中的 P 含量(41%)略高于 EPS (37%), 以  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  或  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  为唯一氮源时, 细胞膜中的 P 含量(14% 或 17%)显著低于 EPS (45%和 46%)。上述研究表明, 细胞膜、细胞体和 EPS 在 P 代谢中起着重要作用, HNADPR、DPAOs 和 PAOs 之间的磷代谢可能存在差异, 并且氮源类型会影响 HNADPR 菌株的磷代谢途径, 但是他们的磷代谢机制目前尚未明确。尽管近年来关于 HNADMs 的分离和脱氮除磷能力的研究较多, 但对生物除磷机制的研究较少, 目前针对磷代谢的研究大多是通过通过对 HNADPR 磷酸盐代谢过程中的磷分布、磷种类和相关功能基因的表达来推断, 但该基因究竟是如何发挥功能的尚不清楚, 亟须进一步研究。

### 2.7 复杂有机物降解 HNADMs

在反硝化过程中, 有机物是反硝化的重要电子供体来源。可利用碳源类型的多样性使 HNADMs 在生物脱氮体系中具有很高的竞争力及优势。除了琥珀酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠和葡萄糖等常规碳源外, 研究发现部分异养硝化菌、好氧反硝化菌还能利用其他难降解有机物作为碳源, 例如苯酚、喹啉、芳香族化合物、抗生素和全氟化合物等。动胶菌样申氏菌(*Shinella*

*zoogloeoidea*) BC026<sup>[100]</sup>能够以难降解的吡啶为唯一碳源、氮源和能量供给自身的生长, 在最佳条件下该菌株能够在 45.5 h 内完全降解 1 806 mg/L 的吡啶, 产物检测和遗传分析表明有 58%的吡啶转化为铵。食吡啶红球菌(*Rhodococcus pyridinivorans*) RL-GZ01<sup>[101]</sup>可以通过利用外部碳源, 如邻苯二甲酸酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)等有机化合物, 同时去除氮和磷, 84 h 内对 TN (71.2 mg/L)、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  (10.89 mg/L)和 DEHP (5.0 mg/L)的去除率分别达到 64.45%、76.30%和 98.94%, DEHP 中间体和代谢途径的鉴定表明该菌株将 DEHP 转化为邻苯二酚作为碳源进行细胞生长, DEHP 提供的碳源可作为碳骨架用于合成谷氨酸。HNADMs *Pseudomonas aeruginosa* KDQ4<sup>[34]</sup>在未外加碳源的条件下能够去除 800 mg/L 的喹啉以及 400 mg/L 的苯酚。HNADMs 的发现, 扩大了 HNADMs 在难降解有机废水中的应用, HNADMs 在含有复杂有机物废水领域具有良好的应用潜能。

### 2.8 抗生素耐药性 HNADMs

抗生素作为四大新污染物之一, 其过量排放问题受到了世界范围内的广泛关注。研究表明, HNADMs 在环境中广泛存在, 抗生素对 HNADMs 的影响与抗生素的类型和浓度有关。

残留的抗生素通过阻碍硝化或反硝化细菌来影响生物脱氮。在序列批反应器接种肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) y6, 当氨苄西林浓度为 5 mg/L 时, 反应器脱氮速率和有机物去除率分别为 0.79 kg/(m<sup>3</sup>·d)和 7.17 kg/(m<sup>3</sup>·d), 当提高氨苄西林浓度为 25 mg/L 后, 反应器脱氮率和有机物去除率分别下降了 23.8%和 13.4%, 进一步增加抗生素浓度至 50 mg/L 时去除率分别下降 48.6%和 50.9%<sup>[65]</sup>。与外源分离株相比, 土著 HNADMs 具有更高的抗生素耐药性, Huang 等<sup>[102]</sup>对从水产养殖废水中分离的 HNADMs 的耐药性进行评估, 发现由普遍海单胞菌(*Marinomonas communis*)和泰坦尼克号盐单胞菌(*Halomonas titanicae*)组成的 MCH、由海水海单胞菌(*Marinomonas aquimarina*)和 *Halomonas titanicae* 组成的 MAH 微生物复合菌群以及单菌株在最适条件下对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的去除率均高于 95%, 同时对多肽类、四环素类、磺胺类、呋喃类和大环内酯类抗生素均具有较强耐药性。在地表水体环境中, 磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole, SMX)因其高检测频率、强稳定性和高流动性成为最受关注的抗生素之一, 研究表明, 在 2 mg/L 的 SMX 环境下, 与糖酵解、三羧酸循环、反硝化相关基因(*narG*、*narH*、*narI*和 *nirK*)和电子转移链相关基因(*nuoA*、*nuoB*、*nuoD*、*nuoF*、*nuoG*、*nuoI*和 *nuoL*)均发生了下调<sup>[103]</sup>。部分 HNADMs 可以通过调节抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的表达来缓解抗生素的负面影响<sup>[103]</sup>。Zhao 等<sup>[104]</sup>通过转录组分析将好氧反硝化微生物 *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2 对 SMX 的抗性归结为以下原因: (1) 多药物外排系统的表达, 在较高的 SMX 条件下, 更多的 SMX 可以被泵出细胞膜; (2) 生物膜的形成; (3) 其他机制, 如群体感应(quorum sensing, QS)以及脓青素的产生, QS 系统和脓青

素合成相关基因(如 *lasB*、*lasR*、*lasI*、*rhlR*和 *rhlI*)均显著上调, 表明它们参与了菌株 PCN-2 对 SMX 的抗性。目前, 尽管少数对抗生素具有抗性的 HNADMs 已被筛选, 但抗生素对 HNADMs 的影响并未受到广泛关注, 关于 HNADMs 与抗生素的互作影响及互作机制有待进一步揭示。

### 3 极端环境耐受 HNADMs 的应用现状

不同于传统含氮废水, 冬季低温废水、高氨氮废水、养殖废水、高浓度有机废水、抗生素废水、重金属废水等由于其特殊性, 采用传统的生物脱氮方式很难达到良好的处理效果。将具有极端环境耐受性的 HNADMs 进行富集、驯化并应用于非典型废水处理中可大幅度降低运行成本并提高污染物去除效率。例如 Yao 等<sup>[35]</sup>为了解决低温条件下污水处理厂脱氮效率低下问题, 将耐冷的 HNAD 菌群投加到反应器中进行生物强化并增加 DO 浓度, 10 °C 下每升污水对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的去除率分别高达 2.44 mg/h 和 7.68 mg/h。将 *Acinetobacter* sp. Z1<sup>[71]</sup>接种于经处理的新疆某污水处理厂水样中, 10 °C (中国北部冬季典型污水温度)条件下 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 的去除率分别达到 70%和 40%以上, 证明其在冬季污水处理中有良好的应用潜力; 当前关于耐低温 HNADMs 的应用研究仍以实验室小试为主, 仍需进一步加快高效耐低温 HNADMs 的研发及应用方式的探究。传统脱氮微生物对 10‰以上的盐度高度敏感<sup>[105]</sup>, 海水养殖废水由于其高盐度抑制了自养硝化菌的活性, 硝化速率显著降低, 因此, 亟须开发耐盐、高活性的脱氮微生物。Xiang 等<sup>[106]</sup>筛选出一株新型嗜盐菌佐贝尔菌(*Zobellella*) B307, 盐度的增加对 B307 的生长无抑制作用, 菌株 B307 在盐度为 65‰时可去除 90%以上的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 97.1%的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, 将其投

加于移动床生物膜反应器(moving bed biofilm reactor, MBBR)中处理人工合成海水养殖废水(盐度 30‰), 投加前后 MBBR 系统对 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  的去除率由 83.01%、83.10%、76.68%和 80.98%分别提高至 95.57%、94.44%、85.67%和 87.44%, 且接种菌株后 HNADMs 的丰度及参与氮代谢的功能基因的丰度均有所提高。Zhang 等<sup>[107]</sup>利用 HNADMs 混合菌与小球藻建立共生体系处理高氨沼液, TN 和 TP 的去除率分别达到了 79.4%和 90.4%, 相较于对照组(HNADMs 混合菌单独处理)分别提高了 28.9%和 67.6%。Wang 等<sup>[108]</sup>利用 *Pseudomonas mendocina* K0、布鲁氏菌属(*Brucella* sp.) K1、*Pseudomonas putida* T4 和 *Paracoccus* sp. T9 构建高效 HNADMs 复合菌群处理石油废水, 固定化的复合菌群显著增强了好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge, AGS)的脱氮效果,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和 TN 的去除率分别为 92.4%和 79.8%, 与对照组相比 AGS 的形成量提高了 16.7%。其他 HNADMs 应用案例见表 4。

综上所述, 虽然部分 HNADMs 在一些极端污染水环境中表现出了巨大的应用优势, 但仍以

小试规模为主, 且小试实验中微生物的作用环境是人为可控的, 从理论研究到实际工程应用需要综合考虑污水类型的多样性、水质条件的复杂性以及在实际污水处理过程中如何保持功能微生物稳定且长期地发挥作用等现实问题。未来研究可集中于极端 HNADMs 的资源开发(高效单菌株、复合功能菌群)、HNADMs 代谢路径的明晰以及应用模式的开发及工艺参数的优化等方向。

## 4 结论与展望

HNADMs 鉴于其高效的脱氮效能及特殊的氮转化特征引起了广泛的关注, 大量研究表明, HNADMs 在水体、土壤等不同环境介质中具有普遍存在性, HNADMs 表现出了系统发育多样性、底物基质类型多样、环境适应性强和氮代谢路径复杂的特征。随着研究的深入, 部分 HNADMs 表现出了较强的极端温度、pH、盐度、寡营养、重金属等环境胁迫耐受性, 同时表现出了高效同步脱氮除磷、复杂有机物降解和抗生素耐药性, 以上新功能的发现不仅丰富了微生物资源, 同时为 HNADMs 在非典型含氮废水处理中的应用提供了更多的可能性。当前关于极端 HNADMs 的研究多集中在单一环境胁迫下功能菌株的分离筛选、胁迫因子耐受范围的确定及耐受机理的初步探究等方面, 其应用研究主要集中于实验室规模, 尚无关于其中试及全规模应用的报道。综上所述, HNADMs 在污水脱氮尤其是复杂水体生物脱氮领域展示出了较高的研究价值和应用潜能, 然而在基础理论及应用技术层面仍存在一定瓶颈, 建议后续研究可聚焦于以下方向: (1) 目前极端环境耐受 HNADMs 的研究刚刚起步, HNADMs 功能菌种资源相对匮乏, 且由于污染水体中的污染物类型愈加复杂多样, 应进一步加大不同极端环境下 HNADMs 的筛选, 驯化更多环境适应性好且污染物去除效能高的

表 4 HNADMs 应用案例

Table 4 HNADMs application cases

HNADMs	Wastewater type	Scale
<i>Chelatococcus daeguensis</i> TAD1 <sup>[63]</sup>	Synthetic wastewater	Lab
<i>Zobellella</i> B307 <sup>[106]</sup>	Mariculture wastewater	Lab
<i>Acinetobacter</i> sp. TN-14 <sup>[109]</sup>	Pig farm wastewater	Lab
<i>Pseudomonas</i> sp. HJ3 <sup>[110]</sup>	Coal gasification wastewater	Lab
HNADMs flora <sup>[111]</sup>	Livestock wastewater	Lab
<i>Bacillus subtilis</i> GHSP10 <sup>[112]</sup>	Aquaculture sewage	Lab
<i>Acinetobacter</i> sp. Z1 <sup>[75]</sup>	Wastewater treatment plants	Lab
<i>pseudomonas</i> sp. DM02 <sup>[76]</sup>	Aquaculture wastewater	Lab

菌株以丰富 HNADMs 菌种库；(2) 鉴于 HNADMs 代谢过程复杂且研究基础相对薄弱的现状，应积极利用基因组学、转录组学等平台并与反应动力学、质谱技术等相结合，多角度、全方位绘制 HNAD 模式菌株的氮代谢通路，同时结合基因敲除、基因重组及异源表达技术破译功能菌株对环境胁迫因子的耐受机制；(3) 继续探究 HNADMs 的应用模式，深入研究 HNADMs 与当前主流污水处理工艺如厌氧-缺氧-好氧工艺(anaerobic-anoxic-oxic, A<sup>2</sup>O)、MBBR、序批式反应器(sequencing batch reactor, SBR)的兼容性、确定运行参数并制定工艺优化调控策略，开发极端 HNADMs 在复杂污染水体中定殖并长期起主导作用的应用方式，重点关注基于生物膜的生物强化技术与极端 HNADMs 相结合的应用可行性。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] AL-AJEEL S, SPASOV E, SAUDER LA, McKNIGHT MM, NEUFELD JD. Ammonia-oxidizing archaea and complete ammonia-oxidizing *Nitrospira* in water treatment systems[J]. *Water Research X*, 2022, 15: 100131.
- [2] CHEN J, GU SY, HAO HH, CHEN JM. Characteristics and metabolic pathway of *Alcaligenes* sp. TB for simultaneous heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(22): 9787-9794.
- [3] 魏渤惠, 罗晓, 吕鹏翼, 马文凯, 苏金卫, 李伟, 崔建升. 高效异养硝化-好氧反硝化菌 *Glutamicibacter* sp. WS1 低温下对多种氮源的脱氮特性及氮代谢机制[J]. *环境科学*, 2023, 44(9): 5006-5016.
- WEI BH, LUO X, LÜ PY, MA WK, SU JW, LI W, CUI JS. Nitrogen removal characteristics and nitrogen metabolism mechanism of highly heterotrophic nitrifying aerobic denitrifying bacteria *Glutamicibacter* sp. WS1 at low temperature to multiple nitrogen sources[J]. *Environmental Science*, 2019, 44(9): 5006-5016 (in Chinese).
- [4] ZHAO TT, CHEN PP, ZHANG LJ, ZHANG L, GAO YH, AI S, LIU H, LIU XY. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. TAC-1 at low temperature and high ammonia nitrogen[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 339: 125620.
- [5] HUANG XJ, JIANG DH, NI JP, XIE DT, LI ZL. Removal of ammonium and nitrate by the hypothermia bacterium *Pseudomonas putida* Y-9 mainly through assimilation[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 22: 101458.
- [6] YANG JR, WANG Y, CHEN H, LYU YK. Ammonium removal characteristics of an acid-resistant bacterium *Acinetobacter* sp. JR1 from pharmaceutical wastewater capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 274: 56-64.
- [7] 高宇轩, 靳静晨, 徐利杉, 高雅娟, 张闻天, 李晨晨, 张国伟, 靳永胜. 耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 *Bacillus megatherium* N07 的分离及脱氮特性[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(7): 247.
- GAO YX, JIN JC, XU LS, GAO YJ, ZHANG WT, LI CC, ZHANG GW, JIN YS. Isolation and nitrogen removal characteristics of salt-tolerant heterotrophic nitrifying aerobic denitrifying bacterium *Bacillus megatherium* N07[J]. *Bulletin of Biotechnology*, 2002, 38(7): 247 (in Chinese).
- [8] 张霓. 异养硝化-好氧反硝化细菌 *Pseudomonas putida* ZN1 的脱氮及耐重金属特性研究[D]. 太原: 太原理工大学硕士学位论文, 2019.
- ZHANG N. Study on nitrogen removal and heavy metal tolerance of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria *Pseudomonas putida* ZN1[D]. Taiyuan: Master's Thesis of Taiyuan University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [9] ZHANG MY, PAN LQ, LIU LP, SU C, DOU L, SU ZP, HE ZY. Phosphorus and nitrogen removal by a novel phosphate-accumulating organism, *Arthrobacter* sp. HHEP5 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification: safety assessment, removal characterization, mechanism exploration and wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 312: 123633.
- [10] ROBERTSON LA, KUENEN JG, KLEIJNTJENS R. Aerobic denitrification and heterotrophic nitrification by *Thiosphaera pantotropha*[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1985, 51(4): 445.

- [11] SUN ZY, LV YK, LIU YX, REN RP. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel metal resistant bacterium *Cupriavidus* sp. S1[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 220: 142-150.
- [12] REN JL, BAI XY, LIU YC, HUANG X. Simultaneous nitrification and aerobic denitrification by a novel isolated *Ochrobactrum anthropi* HND19[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 340: 125582.
- [13] SHU: H, SUN HM, HUANG W, ZHAO Y, MA YH, CHEN W, SUN YP, CHEN XY, ZHONG P, YANG HR, WU XP, HUANG MW, LIAO ST. Nitrogen removal characteristics and potential application of the heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria *Pseudomonas mendocina* S16 and *Enterobacter cloacae* DS'5 isolated from aquaculture wastewater ponds[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 345: 126541.
- [14] CHEN SH, HE SY, WU CJ, DU DY. Characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacterium *Acinetobacter* sp. T1 and its application for pig farm wastewater treatment[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2019, 127(2): 201-205.
- [15] LIU SX, LIU Q, WU H, JIANG WY, KAHAER A, TANG Q, HU ZQ, HONG C, LIU DQ. Integrative chemical and omics analysis of the ammonia nitrogen removal characteristics and mechanism of a novel oligotrophic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 852: 158519.
- [16] ZHANG DY, HUANG XF, LI WG, QIN W, WANG P. Characteristics of heterotrophic nitrifying bacterium strain SFA13 isolated from the Songhua River[J]. *Annals of Microbiology*, 2016, 66(1): 271-278.
- [17] SU JF, SHI JX, MA F. Aerobic denitrification and biomineralization by a novel heterotrophic bacterium, *Acinetobacter* sp. H36[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 116(1/2): 209-215.
- [18] WU LH, DING XY, LIN Y, LU XS, LV H, ZHAO MP, YU RH. Nitrogen removal by a novel heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* TY1 under low temperatures[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 353: 127148.
- [19] HE TX, XIE DT, LI ZL, NI JP, SUN Q. Ammonium stimulates nitrate reduction during simultaneous nitrification and denitrification process by *Arthrobacter arilaitensis* Y-10[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 239: 66-73.
- [20] DALY I, JELLALI S, MEHRI I, REIS MAM, FREITAS EB, OEHMEN A, CHATTI A. Phosphorus and ammonium removal characteristics from aqueous solutions by a newly isolated plant growth-promoting bacterium[J]. *Environmental Technology*, 2020, 41(20): 2603-2617.
- [21] ZHANG Y, DAI SY, HUANG XQ, ZHAO Y, ZHAO J, CHENG Y, CAI ZC, ZHANG JB. pH-induced changes in fungal abundance and composition affects soil heterotrophic nitrification after 30 days of artificial pH manipulation[J]. *Geoderma*, 2020, 366: 114255.
- [22] WANG LQ, YU QL. Study on characteristics of a strain of *Penicillium* sp. capable of heterotrophic ammonium oxidation[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9(12): 1816-1820.
- [23] HE TX, LI ZL, SUN Q, XU Y, YE Q. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Pseudomonas tolaasii* Y-11 without nitrite accumulation during nitrogen conversion[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 200: 493-499.
- [24] KIM JK, PARK KJ, CHO KS, NAM SW, PARK TJ, BAJPAI R. Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(17): 1897-1906.
- [25] ZHANG HH, ZHAO ZF, KANG PL, WANG Y, FENG J, JIA JY, ZHANG ZH. Biological nitrogen removal and metabolic characteristics of a novel aerobic denitrifying fungus *Hanseniaspora uvarum* strain KPL108[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 267: 569-577.
- [26] ZHANG Y, WANG J, DAI SY, ZHAO J, HUANG XQ, SUN YQ, CHEN J, CAI ZC, ZHANG JB. The effect of C:N ratio on heterotrophic nitrification in acidic soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 137: 107562.
- [27] ZHANG JB, WU PX, HAO B, YU ZN. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(21): 9866-9869.
- [28] CHEN LF, CHEN LX, PAN D, LIN HB, REN YL, ZHANG J, ZHOU B, LIN JQ, LIN JQ. Heterotrophic nitrification and related functional gene expression characteristics of *Alcaligenes faecalis* SDU20 with the potential use in swine wastewater treatment[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2021, 44(10): 2035-2050.



- [29] ZHU L, DING W, FENG LJ, KONG Y, XU J, XU XY. Isolation of aerobic denitrifiers and characterization for their potential application in the bioremediation of oligotrophic ecosystem[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108: 1-7.
- [30] YAO YC, ZHANG QL, LIU Y, LIU ZP. Simultaneous removal of organic matter and nitrogen by a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterial strain in a membrane bioreactor[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 143: 83-87.
- [31] MA T, CHEN Q, GUI MY, LI C, NI JR. Simultaneous denitrification and phosphorus removal by *Agrobacterium* sp. LAD9 under varying oxygen concentration[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(7): 3337-3346.
- [32] HUANG XF, LI WG, ZHANG DY, QIN W. Ammonium removal by a novel oligotrophic *Acinetobacter* sp. Y16 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146: 44-50.
- [33] 杨墨, 刘乾亮, 吕东伟, 马军, 刘惠玲. 低温异养硝化-好氧反硝化菌筛选及其脱氮特性[J]. *中国给水排水*, 2019, 35(23): 100-104.
- YANG M, LIU QL, LYU DW, MA J, LIU HL. Isolation of cold-resistant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain and its nitrogen removal performance[J]. *China Water & Wastewater*, 2019, 35(23): 100-104 (in Chinese).
- [34] ZHANG PH, JIA R, ZHANG YX, SHI PL, CHAI TY. Quinoline-degrading strain *Pseudomonas aeruginosa* KDQ4 isolated from coking activated sludge is capable of the simultaneous removal of phenol in a dual substrate system[J]. *Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2016, 51(13): 1139-1148.
- [35] YAO S, NI JR, CHEN Q, BORTHWICK AGL. Enrichment and characterization of a bacteria consortium capable of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 127: 151-157.
- [36] DUAN JM, FANG HD, SU B, CHEN JF, LIN JM. Characterization of a halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and its application on treatment of saline wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 421-428.
- [37] YAO S, NI J, MA T, LI C. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature by a newly isolated bacterium, *Acinetobacter* sp. HA2[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 139: 80-6.
- [38] ZHANG QL, LIU Y, AI GM, MIAO LL, ZHENG HY, LIU ZP. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108: 35-44.
- [39] WANG JL, CHEN PZ, LI SP, ZHENG XQ, ZHANG CX, ZHAO WJ. Mutagenesis of high-efficiency heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterium *Rhodococcus* sp. strain CPZ 24[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127692.
- [40] QIAO ZX, WU YG, QIAN J, HU SH, CHAN JW, LIU XY, SUN R, WANG WD, ZHOU B. A lab-scale study on heterotrophic nitrification-aerobic denitrification for nitrogen control in aquatic ecosystem[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2020, 27(9): 9307-9317.
- [41] HUANG MQ, CUI YW, HUANG JL, SUN FL, CHEN S. A novel *Pseudomonas aeruginosa* strain performs simultaneous heterotrophic nitrification-aerobic denitrification and aerobic phosphate removal[J]. *Water Research*, 2022, 221: 118823.
- [42] ROUT PR, BHUNIA P, DASH RR. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous from domestic wastewater using *Bacillus cereus* GS-5 strain exhibiting heterotrophic nitrification, aerobic denitrification and denitrifying phosphorous removal[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 244: 484-495.
- [43] JIN P, CHEN YY, YAO R, ZHENG ZW, DU QZ. New insight into the nitrogen metabolism of simultaneous heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium in mRNA expression[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 371: 295-303.
- [44] XIE YM, TIAN XL, HE Y, DONG SL, ZHAO K. Nitrogen removal capability and mechanism of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Halomonas* sp. DN3[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 387: 129569.
- [45] ZHAO B, AN Q, HE YL, GUO JS. N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> production during heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* strain NR[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 116: 379-385.
- [46] ZHANG Q, ZHU YN, YUAN CB, ZHANG C, CUI ML, ZHAO TT. Nitrogen removal and mechanism of an extremely high-ammonia tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Alcaligenes faecalis* TF-1[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127643.

- [47] ZHOU XQ, WANG YL, TAN X, SHENG YQ, LI YB, ZHANG Q, XU JL, SHI ZS. Genomics and nitrogen metabolic characteristics of a novel heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterium *Acinetobacter oleivorans* AHP123[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 375: 128822.
- [48] SHI Z, ZHANG Y, ZHOU JT, CHEN MX, WANG XJ. Biological removal of nitrate and ammonium under aerobic atmosphere by *Paracoccus versutus* LYM[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 148: 144-148.
- [49] ZHAO B, HE YL, HUGHES J, ZHANG XF. Heterotrophic nitrogen removal by a newly isolated *Acinetobacter calcoaceticus* HNR[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(14): 5194-5200.
- [50] LI D, LIANG XH, JIN Y, WU CD, ZHOU RQ. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Klebsiella* sp. TN-10[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2019, 188(2): 540-554.
- [51] HUANG XJ, XU Y, HE TX, JIA HJ, FENG M, XIANG SD, WANG ST, NI JP, XIE DT, LI ZL. Ammonium transformed into nitrous oxide via nitric oxide by *Pseudomonas putida* Y-9 under aerobic conditions without hydroxylamine as intermediate[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 277: 87-93.
- [52] HE TX, XIE DT, NI JP, LI Z, LI ZL. Nitrous oxide produced directly from ammonium, nitrate and nitrite during nitrification and denitrification[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 388: 122114.
- [53] HUAN CC, YAN ZY, SUN J, LIU Y, ZENG Y, QIN W, CHENG YP, TIAN XP, TAN ZL, LYU QY. Nitrogen removal characteristics of efficient heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and application in biological deodorization[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 363: 128007.
- [54] WEI BH, LUO X, MA WK, LV PY. Biological nitrogen removal and metabolic characteristics of a novel cold-resistant heterotrophic nitrification and aerobic denitrification *Rhizobium* sp. WS7[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 362: 127756.
- [55] GAO Y, ZHU JW, WANG KY, MA Y, FANG J, LIU G. Discovery of a heterotrophic aerobic denitrification *Pseudomonas* sp. G16 and its unconventional nitrogen metabolic pathway[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 387: 129670.
- [56] JIN RF, LIU TQ, LIU GF, ZHOU JT, HUANG JY, WANG AJ. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the marine origin bacterium *Pseudomonas* sp. ADN-42[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 175(4): 2000-2011.
- [57] SUN YL, LI A, ZHANG XN, MA F. Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(7): 3243-3248.
- [58] BELL LC, RICHARDSON DJ, FERGUSON SJ. Periplasmic and membrane-bound respiratory nitrate reductases in *Thiosphaera pantotropha*. The periplasmic enzyme catalyzes the first step in aerobic denitrification[J]. *FEBS Letters*, 1990, 265(1/2): 85-87.
- [59] HUAN CC, LYU QY, WANG ZH, TIAN XP, YAN ZY, JI GS. Conversion behavior of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Paracoccus denitrificans* HY-1 in nitrogen and phosphorus removal[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024, 62: 105347.
- [60] HE TX, YE Q, SUN Q, CAI X, NI JP, LI ZL, XIE DT. Removal of nitrate in simulated water at low temperature by a novel psychrotrophic and aerobic bacterium, *Pseudomonas taiwanensis* strain J[J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018: 4984087.
- [61] 雷婷婷, 陈良仲, 陈绍兴, 沈亮. 微生物对低温极端环境适应性的研究进展[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2150-2164.
- LEI TT, CHEN LZ, CHEN SX, SHEN L. Progress in research on the adaptability of microorganisms to extremely cold environments[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2150-2164 (in Chinese).
- [62] JI B, YANG K, ZHU L, JIANG Y, WANG H, ZHOU J, ZHANG H. Aerobic denitrification: a review of important advances of the last 30 years[J]. *Biotechnology Bioengineering*, 2015, 20: 643-651.
- [63] YANG YL, HUANG SB, ZHANG YQ, XU FQ. Nitrogen removal by *Chelatococcus daeguensis* TAD1 and its denitrification gene identification[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 172(2): 829-839.
- [64] CHEN J, ZHENG J, LI Y, HAO HH, CHEN JM. Characteristics of a novel thermophilic heterotrophic bacterium, *Anoxybacillus contaminans* HA, for nitrification-aerobic denitrification[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(24): 10695-10702.
- [65] XIA L, LI XM, FAN WH, WANG JL. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel

- Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122749.
- [66] 杨墨. 耐冷菌 *Janthinobacterium* sp. M-11 的异养硝化好氧反硝化特性及耐冷机制研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学博士学位论文, 2019.
- YANG M. Study on heterotrophic nitrification and aerobic denitrification characteristics and cold tolerance mechanism of cold-tolerant bacterium *Janthinobacterium* sp. M-11[D]. Harbin: Doctoral Dissertation of Harbin Institute of Technology, 2019 (in Chinese).
- [67] 金鑫, 范海丽, 陈建丽, 黄天培, 关雄. 细菌冷激蛋白研究进展[J]. *生物技术进展*, 2016, 6(1): 10-13.
- JIN X, FAN HL, CHEN JL, HUANG TP, GUAN X. Progress on bacterial cold shock proteins[J]. *Current Biotechnology*, 2016, 6(1): 10-13 (in Chinese).
- [68] 于鹏, 刘静雯. 微生物适冷酶及其应用研究新进展[J]. *微生物学杂志*, 2014, 34(2): 77-81.
- YU P, LIU JW. Advances in cold-adaptable enzymes and its applications[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 34(2): 77-81 (in Chinese).
- [69] 范宇婷. 冰川微生物 *Rahnella* sp. R3 产低温  $\beta$ -半乳糖苷酶的结构及性质研究[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2018.
- FAN YT. Structure and properties of cryogenic  $\beta$ -galactosidase produced by glacier microorganism *Rahnella* sp. R3[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2018 (in Chinese).
- [70] DZIEWIT L, BARTOSIK D. Plasmids of psychrophilic and psychrotolerant bacteria and their role in adaptation to cold environments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 596.
- [71] ZHANG DY, LI WG, HUANG XF, QIN W, LIU M. Removal of ammonium in surface water at low temperature by a newly isolated *Microbacterium* sp. strain SFA13[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 137: 147-152.
- [72] LIU YB, QU D, WEN YJ. Low-temperature biodegradation of aniline by freely suspended and magnetic modified *Pseudomonas migulae* AN-1[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99: 5317-5326.
- [73] 丁晓宇, 卢兴顺, 吕航, 林岩, 武琳慧. 耐低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性[J]. *水处理技术*, 2022, 48(12): 65-70, 6.
- DING XY, LU XS, LYU H, LIN Y, WU LH. Isolation, identification and denitrification characteristics of low-temperature heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacteria[J]. *Water Treatment Technology*, 2022, 48(12): 65-70, 6 (in Chinese).
- [74] 赵紫荆, 张玉, 周集体. 菌株 *Acinetobacter* sp. Z1 低温脱氮除磷性能及氮磷转化途径[J]. *大连理工大学学报*, 2023, 63(2): 261-272.
- ZHAO ZJ, ZHANG Y, ZHOU JT. Nitrogen and phosphorus removal performance and transformation pathway of strain *Acinetobacter* sp. Z1 at low temperature[J]. *Journal of Dalian University of Technology*, 2023, 63(2): 261-272 (in Chinese).
- [75] KE F. Predicting winter surface air temperature in Northeast China[J]. *Atmospheric and Oceanic Science Letters*, 2009, 2(1): 14-17.
- [76] DENG M, ZHAO XL, SENBATI Y, SONG K, HE XG. Nitrogen removal by heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas* sp. DM02: removal performance, mechanism and immobilized application for real aquaculture wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 322: 124555.
- [77] YANG L, REN YX, LIANG X, ZHAO SQ, WANG JP, XIA ZH. Nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrifier *Acinetobacter junii* YB and its potential application for the treatment of high-strength nitrogenous wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 193: 227-33.
- [78] CHEN HJ, ZHOU WZ, ZHU SN, LIU F, QIN L, XU C, WANG ZM. Biological nitrogen and phosphorus removal by a phosphorus-accumulating bacteria *Acinetobacter* sp. strain C-13 with the ability of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 322: 124507.
- [79] LI CE, YANG JS, WANG X, WANG ET, LI BZ, HE RX, YUAN HL. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 182: 18-25.
- [80] LI SS, HE ZM, LI C, LICHTFOUSE E, SUN CM, ZHANG YS, YU JP. Nitrogen removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria: a review[J]. *Desalination and Water Treatment*, 2024, 317: 100227.
- [81] 陈茂霞, 王欢, 周后珍, 李杨, 谭周亮, 李旭东. 异养硝化-好氧反硝化菌 HN-02 的筛选及其特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(4): 688-693.
- CHEN MX, WANG H, ZHOU HZ, LI Y, TAN ZL, LI XD. Screening and characteristics of heterotrophic

- nitrification-aerobic denitrification strain HN-02[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(4): 688-693 (in Chinese).
- [82] CUI Y, CUI YW, HUANG JL. A novel halophilic *Exiguobacterium mexicanum* strain removes nitrogen from saline wastewater via heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Bioresource Technology, 2021, 333: 125189.
- [83] HE XL, SUN Q, XU TY, DAI M, WEI DS. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel halotolerant bacterium *Pseudomonas mendocina* TJPU04[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2019, 42(5): 853-866.
- [84] CHEN MX, WANG WC, FENG Y, ZHU XH, ZHOU HZ, TAN ZL, LI XD. Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Aeromonas* sp. HN-02[J]. Bioresource Technology, 2014, 167: 456-461.
- [85] CHEN PP, ZHANG FP, ZHANG LJ, LIU H, ZHANG Q, XING ZL, ZHAO TT. Characterization of a novel salt-tolerant strain *Sphingopyxis* sp. CY-10 capable of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Bioresource Technology, 2022, 358: 127353.
- [86] WEI R, HUI C, ZHANG YP, JIANG H, ZHAO YH, DU LN. Nitrogen removal characteristics and predicted conversion pathways of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* P-1[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2021, 28(6): 7503-7514.
- [87] LOU L, LUO HY, FANG J, LIU G. The advance of heterotrophic nitrification aerobic denitrification microorganisms in wastewater treatment[J]. Bioresource Technology Reports, 2023, 22: 101495.
- [88] SADLER WR, TRUDINGER PA. The inhibition of microorganisms by heavy metals[J]. Mineralium Deposita, 1967, 2(3): 158-168.
- [89] ZHANG Y, SHI Z, CHEN MX, DONG XY, ZHOU JT. Evaluation of simultaneous nitrification and denitrification under controlled conditions by an aerobic denitrifier culture[J]. Bioresource Technology, 2015, 175: 602-605.
- [90] HE D, ZHENG MS, MA T, LI C, NI JR. Interaction of Cr(VI) reduction and denitrification by strain *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2 under aerobic conditions[J]. Bioresource Technology, 2015, 185: 346-352.
- [91] HUANG GD, OU LM, PAN F, WANG YQ, FAN GF, LIU GG, WANG W. Isolation of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Serratia marcescens* CL1502 from deep-sea sediment[J]. Environmental Engineering Science, 2017, 34(6): 453-459.
- [92] ZHANG N, CHEN H, LYU YK, WANG Y. Nitrogen removal by a metal-resistant bacterium, *Pseudomonas putida* ZN1, capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2019, 94(4): 1165-1175.
- [93] CAI XC, ZHENG X, ZHANG DN, IQBAL W, LIU CK, YANG B, ZHAO X, LU XY, MAO YP. Microbial characterization of heavy metal resistant bacterial strains isolated from an electroplating wastewater treatment plant[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 181: 472-480.
- [94] 郑春霞, 王侧容, 张漫漫, 吴启凤, 陈梦莘, 丁晨雨, 何腾霞. 反硝化聚磷菌及其脱氮除磷机理研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(3): 1009-1025.
- ZHENG CX, WANG CR, ZHANG MM, WU QF, CHEN MP, DING CY, HE TX. Denitrifying phosphate accumulating organisms and its mechanism of nitrogen and phosphorus removal[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(3): 1009-1025 (in Chinese).
- [95] WAN WJ, HE DL, XUE ZJ. Removal of nitrogen and phosphorus by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a denitrifying phosphorus-accumulating bacterium *Enterobacter cloacae* HW-15[J]. Ecological Engineering, 2017, 99: 199-208.
- [96] YANG L, WANG XH, CUI S, REN YX, YU J, CHEN N, XIAO Q, GUO LK, WANG RH. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorus by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a metal resistant bacterium *Pseudomonas putida* strain NP5[J]. Bioresource Technology, 2019, 285: 121360.
- [97] ZHANG HL, FANG W, WANG YP, SHENG GP, CHENG WX, ZENG RG, YU HQ. Species of phosphorus in the extracellular polymeric substances of EBPR sludge [J]. Bioresource Technology, 2013, 142: 714-718.
- [98] JIANG L, WANG M, WANG YR, LIU FJ, QIN M, ZHANG YZ, ZHOU WZ. The condition optimization and mechanism of aerobic phosphorus removal by marine bacterium *Shewanella* sp.[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 345: 611-620.

- [99] SUN SF, HAN JL, HU MF, GAO MC, QIU Q, ZHANG SB, QIU LP, MA J. Removal of phosphorus from wastewater by *Diutina rugosa* BL3: efficiency and pathway[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 801: 149751.
- [100] BAI YH, SUN QH, ZHAO C, WEN DH, TANG XY. Aerobic degradation of pyridine by a new bacterial strain, *Shinella zoogloeoides* BC026[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2009, 36(11): 1391-1400.
- [101] REN L, GUO Z, ZHANG L, HU H, LI C, LIN Z, ZHEN Z, ZHOU JL. A novel aerobic denitrifying phosphate-accumulating bacterium efficiently removes phthalic acid ester, total nitrogen and phosphate from municipal wastewater[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2023, 52: 103532.
- [102] HUANG F, PAN LQ, HE ZY, ZHANG MY, ZHANG MZ. Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characteristics and antibiotic resistance of two bacterial consortia from *Marinomonas* and *Halomonas* with effective nitrogen removal in mariculture wastewater[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 279: 111786.
- [103] LI T, LI Y, LI M, WANG N, SUN ZY, LI XL, LI BA. Effects of sulfamethoxazole on nitrogen transformation and antibiotic resistance genes in short-cut nitrification and denitrification process treating mariculture wastewater[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 454: 140517.
- [104] ZHAO YY, MIN HC, LUO KY, CHEN H, CHEN Q, SUN WL. Insight into sulfamethoxazole effects on aerobic denitrification by strain *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2: from simultaneous degradation performance to transcriptome analysis[J]. *Chemosphere*, 2023, 313: 137471.
- [105] GONZALEZ-SILVA BM, JONASSEN KR, BAKKE I, ØSTGAARD K, VADSTEIN O. Nitrification at different salinities: biofilm community composition and physiological plasticity[J]. *Water Research*, 2016, 95: 48-58.
- [106] XIANG ZZ, CHEN X, BAI J, LI BH, LI H, HUANG X. Bioaugmentation performance for moving bed biofilm reactor (MBBR) treating mariculture wastewater by an isolated novel halophilic heterotrophic nitrification aerobic denitrification (HNAD) strain (*Zobellella* B307)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 325: 116566.
- [107] ZHANG Q, ZHANG C, ZHU YN, YUAN CB, ZHAO TT. Effect of bacteria-to-algae volume ratio on treatment performance and microbial community of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria-chlorella symbiotic system[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 342: 126025.
- [108] WANG QH, KONG JW, LIANG JH, GAMAL EL-DIN M, ZHAO P, XIE WY, CHEN CM. Nitrogen removal intensification of aerobic granular sludge through bioaugmentation with “heterotrophic nitrification-aerobic denitrification” consortium during petroleum wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127719.
- [109] 信欣, 姚力, 鲁磊, 冷璐, 周迎芹, 郭俊元. 耐高氨氮异养硝化-好氧反硝化菌 TN-14 的鉴定及其脱氮性能[J]. *环境科学*, 2014, 35(10): 3926-3932.
- XIN X, YAO L, LU L, LENG L, ZHOU YP, GUO JY, GUO JY. Identification and denitrification performance of high ammonia nitrogen heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacteria TN-14[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(10): 3926-32 (in Chinese).
- [110] MA WW, HAN YX, MA WC, HAN HJ, XU CY, ZHU H. Simultaneous nitrification and denitrification (SND) bioaugmentation with *Pseudomonas* sp. HJ3 inoculated for enhancing phenol and nitrogen removal in coal gasification wastewater[J]. *Water Science and Technology*, 2019, 80(8): 1512-1523.
- [111] ZHANG Q, CHEN X, ZHANG ZY, LUO WD, WU H, ZHANG LJ, ZHANG XP, ZHAO TT. Performance and microbial ecology of a novel moving bed biofilm reactor process inoculated with heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria for high ammonia nitrogen wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123813.
- [112] ZHANG MY, PAN LQ, SU C, LIU LP, DOU L. Simultaneous aerobic removal of phosphorus and nitrogen by a novel salt-tolerant phosphate-accumulating organism and the application potential in treatment of domestic sewage and aquaculture sewage[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 758: 143580.