齐嵘,刘娟,杨敏,等. 2013. 无机废水硝化过程中原生动物群落结构特征及其变化规律[J]. 环境科学学报,33(1):53-57 Qi R,Liu J, Yang M, *et al.* 2013. Study on protozoan community structures during the inorganic wastewater nitrification process [J]. Acta Scientiae Circumstantiae,33(1):53-57

无机废水硝化过程中原生动物群落结构特征及其变 化规律

齐嵘1,刘娟1,杨敏1,*,许木启2

1. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室,北京100085

2. 中国科学院动物研究所,北京100101

收稿日期:2012-05-19 修回日期:2012-06-04 录用日期:2012-06-21

摘要:研究了处理人工氨氮配水的反应器硝化过程中原生动物种群结构特征及其变化规律.研究发现,来自城市污水厂的接种污泥随着运行时间的延长,原生动物的种群多样性不断降低.在亚硝酸盐积累阶段,表壳虫(Arcella)成为优势种;在硝酸盐成为主要硝化产物时,原生动物的优势种主要为累枝虫(Epistyli)和匣壳虫(Centropyxis);污泥粒径大小是决定匣壳虫成为优势种的主要原因.

关键词:原生动物;硝化过程;种群结构

文章编号:0253-2468(2013)01-53-05 中图分类号:X172 文献标识码:A

Study on protozoan community structures during the inorganic wastewater nitrification process

QI Rong¹, LIU Juan¹, YANG Min^{1,*}, XU Muqi²

1. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco - Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085

2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101

Received 19 May 2012; received in revised form 4 June 2012; accepted 21 June 2012

Abstract: Protozoan community structure was investigated during the nitrification process. The results showed that abundance of protozoan was low in the lab-scale reactor with feeding synthetic ammonic wastewater system. The dominant species were *Arcella*, *Epistyli* and *Centropyxis* during the whole operation period. The main factors for protozoan community dynamics were nitrite, nitrate concentrations and sludge size. *Arcella* was dominated during the nitrite accumulation period, while *Centropyxis* was dominated affecting by sludge size.

Keywords: protozoan; nitrification; community structure

1 引言(Introduction)

污水处理过程中发挥关键作用的活性污泥是 由细菌、真菌和原生动物、后生动物等各类微生物 组成的一个复杂生态系统(Boris et al.,1998).通常 细菌在污染物转化中发挥关键作用,污染物的组成 会对细菌群落结构发生重要影响(Jaume et al., 2007),这种影响有可能会通过食物链的传递而影 响到处于食物链顶端的原生动物的群落结构 (Esteban et al., 2001).相关研究指出,特定条件下 有壳肉足虫可以作为硝化状态的指示物种(丁国际 等,2006),但对于整体原生动物种群的考察还鲜有 报道.我们在前期的研究中发现(刘娟等, 2009),城 市污水处理厂硝化状态的变化会影响原生动物的 群落结构,当亚硝酸盐(NO₂-N)出现积累时,表壳 虫的含量会明显上升.然而,城市污水厂进水成分 非常复杂,原生动物群落结构的这种变化是否完全 归因于污水厂的硝化状态仅靠针对实际污水厂的

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KZCX2-YW-JC407)

Supported by the Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences (No. KZCX2-YW-JC407)

作者简介:齐嵘(1975—),男,博士,助研, E-mail: qirong@ rcees. ac. cn; * 通讯作者(责任作者), E-mail: yangmin@ rcees. ac. cn

Biography: QI Rong(1975—), male, Ph. D., assistant professor, E-mail: qirong@ rcees. ac. cn; * **Corresponding author**, E-mail: yangmin@ rcees. ac. cn

调查难以判断.

本研究通过考察以无机氨氮(NH₄⁺-N)配水为 处理对象的实验室活性污泥系统,系统解析硝化过 程及状态对原生动物种群结构的影响.本研究可以 为针对污水生物处理系统的调控提供科学基础.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 实验装置与流程

构建了实验室活性污泥系统(Conventional activated sludge system, CAS)实验装置,工艺流程如图1所示.曝气池的有效容积为13L,二次沉淀池的容积为6L.溶解氧浓度(DO)维持在5.0~6.5 mg·L⁻¹左右.维持 pH 值于7.5~8.0 的范围内,控制水力停留时间(Hydraulic Retention Time, HRT)为8h,恒温(20±1)℃下进行.



图1 实验工艺流程图

Fig. 1 Schematic diagram of lab-scale nitrification system

2.2 实验用水及种污泥来源

实验种污泥取自北京某城市污水处理厂,经人 工配制的无机氨氮废水驯化,期间连续进水运行. 实验过程采用的人工无机 NH⁺-N 配水成分见表1.

Table 1	components of sy	numeric Mn_4 - N w	astewater
配水成分	浓度 /(mg·L ⁻¹)	微量元素 成分	浓度 /(mmol·L ⁻¹)
$\rm NH_4HCO_3$ -N	0~2000	$H_3 BO_3$	0.80
NaHCO ₃	0~8500	$ZnSO_4$	0.15
$K_2 HPO_4$	$290\sim\!2100$	$(\rm NH_4)\rm Mo_7\rm O_{24}$	0.03
$\mathrm{MgSO_4}{\boldsymbol{\cdot}7\mathrm{H}_2\mathrm{O}}$	195 ~1400	$CuSO_4$	0.10
$\mathrm{CaCl}_2 {\boldsymbol{\cdot}} 2\mathrm{H}_2\mathrm{O}$	42 ~ 300		
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	38~276		
$\mathrm{Fe}~\mathrm{SO}_4{\boldsymbol{\cdot}}7\mathrm{H}_2\mathrm{O}$	$45 \sim 400$		

表1 无机 NH₄⁺-N 废水配水成分

Common onto of anythetic NH+

2.3 分析项目与方法

Table 1

水温、溶氧(DO)、pH、浊度、污泥浓度(MLSS)、

化学需氧量(COD)、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、硝态氮(NO₃⁻-N)等常规指标的分析测定方法按照《水和废水监测 分析方法》标准方法每周测定 3 次. 污泥粒径(采用 NDJ-1型旋转式粒度分布计,取悬浮液 20 mL 于 0 号转子中,选用 1800 r·min⁻¹按照使用说明进行测 试)、污泥微生物相观察(在各个水力周期稳定状态 时进行采样)均周期性测定,同时对系统中的污泥 样品在驯化期与稳定运行期连续取样,对原生动物 群落结构进行动态跟踪,每周 2 次解析.原生动物计 数及种群分析方法参见文献(刘娟等,2009).

3 结果(Results)

3.1 反应器的硝化效果

反应器接种启动 10 d内,污泥浓度从 1161 $mg \cdot L^{-1}$ 降低至 200~350 $mg \cdot L^{-1}$ 并保持至整个实验 周期.反应器平均污泥氨氮负荷为 1.0 $g \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$. 硝化反应器实验期间运行效果如图 2a 所示.进水 NH₄⁺-N 浓度平均为 100 $mg \cdot L^{-1}$. 在反应器运行阶段 I(0~30 d),出水中 NO₂⁻-N 出现明显积累,并在第 10 天达到最高值 68 $mg \cdot L^{-1}$,随后有所下降,浓度平 均值为(40±13) $mg \cdot L^{-1}$;同期出水 NO₃⁻-N 浓度较 低,为(8±5) $mg \cdot L^{-1}$.反应器运行阶段 II(30~60 d)是硝化反应的一个过渡期,系统出水中的 NO₂⁻-N 浓度呈显著下降,第 60 天时浓度为 11 $mg \cdot L^{-1}$;同 时 NO₃⁻-N 浓度明显上升并稳定在 60 $mg \cdot L^{-1}$ 左右. 在反应器运行阶段 III,系统出水中的 NO₂⁻-N 浓度 继续下降,最终小于 1 $mg \cdot L^{-1}$;出水中 NO₃⁻-N 浓度 则略有上升,平均值为(65±5) $mg \cdot L^{-1}$.

3.2 原生动物的种群结构

在整个反应过程中,系统中原生动物的类群数 量及种类总量与城市污水处理厂相比显著减少.原 生动物种类数量变化明显,在反应器运行初期,原 生动物种类数量从最初接种时的 31 种迅速减少到 12 种(鞭毛虫消失,附着型纤毛虫数量明显减少,肉 食性纤毛虫及匍匐型纤毛虫数量有所减少);并随 着驯化时间的延长逐渐减少,在 20 d 内便减少至 5 种以内,并在之后很长的运行时期内维持较低的物 种总量.系统中观察到的主要原生动物种类为附着 型纤毛虫类和有壳肉足虫类.

图 2b 表示的是系统中原生动物相对丰度随运 行时间的演变规律. 附着型纤毛虫和有壳肉足虫这 两种功能类群原生动物的优势度演变随运行时间 呈现出明显的规律性. 其丰度优势的演替过程大致 可以分为3个典型阶段:阶段 I(0~30 d),有壳类 肉足虫的相对丰度由最初种污泥中不到10%逐渐 升高直至接近90%,成为系统中绝对优势的功能类 群,而此时的附着型纤毛虫以50%左右的相对丰度 次之;阶段 II的硝化反应过渡期,有壳类肉足虫的 相对丰度逐渐降低直至几乎消失,其绝对优势被附 着型纤毛虫取而代之,并以接近100%的丰度优势 一度成为系统中唯一可见的原生动物;在以硝酸盐 为主要硝化产物的阶段 III,附着型纤毛虫的相对丰 度逐渐降低,并最终维持在30%左右,而此间有壳 类肉足虫再次出现,继而迅速大量繁殖,并最终以 70%左右的相对丰度再次成为系统中绝对优势的功 能类群.

进一步将系统中优势的两大功能类群具体鉴定到种属,在不同的时间阶段,随着系统中各种氮 类污染物的相互转化,分别对应着3种典型的原生 动物,即有壳类肉足虫中的表壳虫(Arcella),附着型 纤毛虫中的累枝虫(Epistylis),以及有壳类肉足虫中 的匣壳虫(Centropyxis).



图2 硝化效果及原生动物分布(a. 氨氮处理效果图; b. 原生 动物相对丰度图)

Fig. 2 The nitrification performance and protozoan community structure (a. nitrification performance; b. abundance of protozoan)

4 讨论 (Disscusion)

4.1 氮化合物与典型原生动物的相关关系

实验结果表明,优势原生动物种类数量变化与 出水氨氮浓度没有明显的相关性,而与 NO₂-N、 NO, -N 浓度波动存在一定联系. 在阶段 I, 伴随着 NO₂⁻-N的大量累积,表壳虫生长繁殖旺盛,密度最 高达 575 ind. • mL⁻¹, 成为系统中绝对优势的原生动 物. 阶段 II 中, 当 NO2-N 浓度降至 10 mg·L-1以下 时,几乎很少发现表壳虫,而系统中的另一种典型 原生动物——累枝虫,则伴随着 NO, -N 浓度的持续 增加而逐渐增长. 当 NO₃-N 浓度大幅升至 56.2 $mg \cdot L^{-1}$ 时,累枝虫的密度也随之增加至 150 ind.·mL⁻¹. 累枝虫成为系统中唯一可见大量存在的 优势原生动物.阶段 III 中,系统出水以 NO₃-N 为 主,原生动物种群结构继续发生改变,大量出现了 875 ind.·mL⁻¹.并成为此期间系统中绝对优势的原 生动物.

表 2 优势原生动物种相对密度与氮类化合物浓度拟合结果

Table 2	Correlation	coefficient	and	relevance	of	dominant	protozoan	to
	NO -N							

, t			
	统计显著性 P	判别系数 <i>R</i> ²	相关系数 r
表壳虫—NO2-N	p < 0.05	0.74	0.87
累枝虫—NO3N	p < 0.05	0.78	0.88

由于系统中表壳虫的演替规律与 NO_2^- -N 的浓 度密切关联,将表壳虫密度与 NO_2^- -N 浓度的变化趋 势进行拟合及统计分析,结果分别如图 3a 及表 2 所 示. 表壳虫随 NO_2^- -N 浓度的增加而增长,且相关性 显著($R^2 = 0.74, p < 0.05, r = 0.87$),表明亚硝酸盐 积累可能对表壳虫数量有较大影响.

累枝虫的生长繁殖与 NO₃⁻-N 的浓度密切相关, 对其与 NO₃⁻-N 之间的相关性进行拟合及统计分析, 结果分别如图 3b 及表 3 所示. 累枝虫随 NO₃⁻-N 浓 度的增加而增长($R^2 = 0.78, p < 0.05, r = 0.88$),表 明在硝化正常时累枝虫数量出现显著增加.

因此,在无机氨氮废水硝化系统中表壳虫与累 枝虫可能与两种功能菌——氨氧化菌(AOB)和亚 硝酸盐氧化菌(NOB)具有某种特异性的捕食行为. 阶段 I 中亚硝酸盐出现累积,表明此时系统中 AOB 大量繁殖.已有研究表明,表壳虫对于 AOB 具有明



图 3 亚硝酸盐/硝酸盐与表壳虫/累枝虫的相关关系 Fig. 3 Correlation with nitrite/nitrate concentration and Arcella abundance/Epistylis abundance

 $NO_{3}^{-}-N/(mg \cdot L^{-1})$

显的捕食偏好(丁国际等,2006;Li et al., 2000a;Li et al., 2000b). 在亚硝酸盐积累的情况下, 相对于 NOB, AOB 会产生数量上的优势, 这可能是导致阶 段1中亚硝酸盐出现积累时,表壳虫数量出现显著 增加的一个重要原因.但是,累枝虫数量与硝酸盐 浓度之间的正相关性是否是由于累枝虫对 NOB 的 捕食偏好所致还有待进一步研究.

4.2 粒度分布的影响

阶段 Ⅲ 中,尽管亚硝酸盐浓度有所波动,硝酸 盐浓度与阶段Ⅱ相比变化不大,但此时匣壳虫成为 了优势种.原生动物由于受其自身个体形态、口器 性状大小,以及摄食方式等因素的影响,对细菌的 形态及大小进行选择性捕食(Esteban et al., 1991). 事实上,3种优势原生动物的体态大小均有较大差 异.其中 I 阶段优势种表壳虫的虫体最小, 而 III 阶 段优势种匣壳虫虫体及摄食胞口均最大.同时匣壳 虫不仅具有体态上较大的特点,作为一种肉足虫, 其独特的伪足吞食方式也为其捕食较大体积的污 泥颗粒提供了可能与便利. 而对于系统中另一类典 型原生动物——累枝虫而言,虽然其体态也较大 (表3),但是作为一种纤毛虫,其高度发达的滤食口 纤毛却很大程度上限制了可以摄食的颗粒物大小. 从而只能选择捕食较小的食物.

由于硝化细菌具有易聚团(Cluster)的特性,在 硝化系统中,性状良好的活性污泥会形成结构紧实 的絮粒体(Clauss et al., 1998). 随着运行时间的延 长,无机氨氮系统中污泥排列紧密有序.图4显示3 个阶段中污泥粒径的分布情况. 随着实验时间的延 长,污泥的粒径显著增大,其中占系统颗粒90%的 粒径直径由阶段 I 内约 100 μm 逐渐增大至阶段 Ⅲ 的约 300 µm.

表3 硝化系统中典型原生动物的形态特征及生活特性 (Seviour et al. ,2008)

	Table 3 Character	istics of dominant p	rotozoan
特征	表壳虫 Arcella	累枝虫 Epistylis	匣壳虫 Centropyxis
功能类别	有壳肉足虫	附着型纤毛虫	有壳肉足虫
个体大小	$45 \sim 50 \ \mu \mathrm{m}$	$60 \sim 80 \ \mu {\rm m}$	$100 \sim 150 \ \mu \mathrm{m}$
胞口直径	$20 \sim 25 \ \mu \mathrm{m}$	$20 \sim 30 \ \mu \mathrm{m}$	$40 \sim 50 \ \mu \mathrm{m}$
捕食特性	靠原生质 伪足吞食	靠胞口纤毛 扰动滤食	靠原生质 伪足吞食
生活习性	静止悬浮 于污泥中	柄着生于 污泥絮体上	静止悬浮 于污泥中

因此,阶段 III 内, 匣壳虫最终成为绝对优势的 原生动物,可能是由于其可以捕食较大颗粒污泥团 的特性决定的.从捕食与竞争的营养调节机制角度 进行分析,这种对食物大小有所选择的捕食特性, 使得匣壳虫较之其它两类原生动物而言,在污泥颗 粒较大的硝化系统中,获得了更多的捕食机会与营 养来源,从而在竞争中占据有利地位,逐渐成长为 优势种群.该类原生动物对任何形态较大的菌体均 会进行选择性捕食,且正是这种捕食特性,推动系 统优势种群的演替.



Fig. 4 Sludge size distribution during the various periods

绝对丰度 /(ind·mL⁻¹)

5 结论 (Conclusion)

无机氨氮废水系统硝化过程中原生动物的种 群多样性低,以附着型纤毛虫及有壳肉足虫为主; 典型原生动物为表壳虫、累枝虫和匣壳虫;影响硝 化系统典型原生动物种群结构变化的因素有 NO₂⁻-N 浓度、NO₃⁻-N 浓度以及污泥粒径. 表壳虫丰度与 NO₂⁻-N 浓度呈正相关;累枝虫丰度与 NO₃⁻-N 浓度 呈线性相关;匣壳虫的优势度与污泥颗粒度密切相 关,进而表明其对体积较大的颗粒可以进行选择性 捕食.

责任作者简介:杨敏(1964—),男,研究员,博士,主要从事 环境微生物与环境水质学研究.

参考文献(References):

- Boris Z, Geoffrey M, Annatina H, et al. 1998. Analysis of bacterial and protozoan communities in an aquifer contaminated with monoaromatic hydrocarbons [J]. FEMS Microbiology Ecology, 27: 141-152
- Clauss F, Helaine D, Balavoine C, et al. 1998. Improving activated sludge floc structure and aggregation for enhanced settling and thickening performances [J]. Water Science and Technology. 38(8/ 9): 35-44
- 丁国际,李军.2006. SBR 工艺中原生动物肉足虫的硝化指示作用

[J]. 环境工程,24(3):13-15

- Esteban G, Téllez C, Bautista L M. 1991. Dynamics of ciliated protozoa communities in activated-sludge process [J]. Water Research. 25: 962-967
- Hahn M W, Höfle M G. 2001. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecology, 35:113-121
- Jaume P, Humbert S, Xavier T, et al. 2007. Effects of particulate and soluble substrates on microfauna populations and treatment efficiency in activated sludge systems [J]. Water Research, 41 (14): 3168 -3176
- Jürgens K, Pernthaler J, Schalla S, et al. 1999. Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhanced protozoan grazing [J]. Applied Environmental Microbiology, 65: 1241-1250
- Li X N, Kohama A, Chiba N, et al. 2000a. Testacealobosia arcella vulgaris as an indicator in nitrification process [J]. Proceedings of Environmental Engineering Research, 37:41-49
- Li X N, Kohama A, Kim J H, et al. 2000b. Grazing characteristic of nitrifying bacteria by Testacealobosia Arcella vulgaris and its effect on nitrification [J]. Journal of Japan Society on Water Environment, 23 (11):661-667
- 刘娟,杨敏,齐嵘,等. 2009. 污泥膨胀状态下原生动物群落结构分 析[J]. 环境工程学报,3(2):229-233
- Seviour R J, Nielsen H P. 2008. Microbial Ecology of Activated Sludge [M]. UK: IWA Publishing. 127-138