

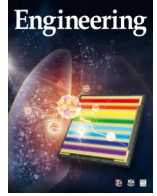


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Environmental Engineering—Review

全程氨氧化细菌在水和污水处理系统中的发生和作用综述

Naga Raju Maddela^{a,b,c}, 甘志浩^{a,c}, 孟雅冰^{a,c,*}, 范福强^{a,c}, 孟凡刚^{a,c,*}

^a School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

^b Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo 130105, Ecuador

^c Guangdong Provincial Key Laboratory of Environmental Pollution Control and Remediation Technology, Guangzhou 510006, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 February 2021

Revised 22 July 2021

Accepted 28 July 2021

Available online 18 November 2021

关键词

全程氨氧化细菌

污水处理

脱氮

微污染物降解

反应器运行

摘要

脱氮是水处理和污水处理厂的关键过程。作为一种新型的生物脱氮过程,全程氨氧化(comammox, CMX)细菌的发现颠覆了学术界对于NH₃需两步转化为NO₃⁻的传统认知,拓宽了学术界对NH₃生物氧化转化为NO₃⁻的传统理论。与典型硝化细菌相比,CMX细菌具有显著优势,如高生物量生产率、对营养和生长限制条件的强适应性等,引起了人们对CMX细菌在污水处理中应用潜力的广泛关注。鉴于目前较缺乏关于CMX细菌与可持续水和污水处理过程关联性的全面综述,本文旨在讨论CMX细菌在去除水和污水中氮和污染物的作用及应用。本文从分支和亚分支水平考察了CMX细菌的代谢多样性,并关注CMX细菌在工程系统中的分布、生态位分化、共生关系及CMX细菌与典型硝化细菌的相互作用,更好地了解CMX细菌的生理、生态学特征。此外,本文提出了基于CMX细菌应激反应与反应器适应性的理论过程,并评估了CMX细菌直接或协同降解微污染物的代谢潜力,为CMX细菌在污水处理厂中的广泛应用提供重要理论基础。最后,本文总结了未来的研究方向,这对于深入理解CMX细菌至关重要。

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

近年来, 高效生物脱氮引起人们广泛关注[1–3]。全程氨氧化 (comammox, CMX) 细菌的发现颠覆了人们对于脱氮过程的认知, 该细菌可将氨 (NH₃) 从亚硝酸盐 (NO₂⁻) 完全氧化成硝酸盐 (NO₃⁻)。CMX细菌在自然系统[4–7]和工程系统[8–11]中都有广泛的报道, 表明该细菌对不同硝化生境的广泛适应性及氮循环的重要作用。CMX细菌具有较高的生物量生产率[12], 对水处理厂 (WTP) 和污水处理厂 (WWTP) 具有较强的适应性, 特别适合

低溶解氧和低细胞损失率 (如生物膜) 相关的处理系统。因此, 对硝化环境的探索引起了人们的广泛关注, 这有助于了解CMX细菌 (特别是 *Nitrospira* sp. clade A) 的特性 [13–17]。Sato等[18]在使用耦合反应器系统将有机氮转化为高质量硝酸盐溶液 (用作水培肥料) 的过程中, 从硝化反应器中发现大量与CMX *Nitrospira* 相关的操作分类单元 (OTU); 其中, CMX氨单加氧酶 (AMO) 的表达量相较于传统反应器提高了500倍。而在另一项长期实验中, 4种抗生素 (即氨基青霉素、卡那霉素、林可霉素和甲氧苄啶) 也可成功富集活性污泥中不同系统发育关系的CMX

* Corresponding authors.

E-mail addresses: mengyb6@mail.sysu.edu.cn (Y. Meng), mengfg@mail.sysu.edu.cn (F. Meng).

2095-8099/© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

英文原文: Engineering 2022, 17(10): 196–206

引用本文: Naga Raju Maddela, Zhihao Gan, Yabing Meng, Fuqiang Fan, Fangang Meng. Occurrence and Roles of Comammox Bacteria in Water and Wastewater Treatment Systems: A Critical Review. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.07.024>

Nitrospira [19]。类似地, 最新研究表明, CMX 细菌在污水处理厂中独具优势, 如抗生素的生物转化[20–21]和重金属耐受性[22]、减少实验室规模间歇曝气序批式反应器中氧化亚氮 (N_2O) 的产生[23]、低温耐受性[24]、在三级生物转盘 (RBC) 的生物膜中占优势地位[10]、可存在于尿液处理膜生物反应器中[25]等, 表明 CMX 细菌具有全面多样的功能。

关于 CMX 细菌存在的假说于 2006 年提出[26], 随后于 2015 年得到证实, 而基于 CMX 细菌的污水处理厂或污水处理厂的应用尚未见报道[7,27]。目前, 学者已从不同角度对 CMX 细菌进行了研究, 如生态位偏好和分化[28–30]、共存关系[31–32]、合作与竞争作用[11,33–34]、代谢多样性[35]、污染物转化[36]、酶学[37–39]、生物化学和生理学[40–41], 以及分支水平的分子检测等[42]。此外, 针对 CMX 细菌对季节变化和外部扰动的响应也得到了广泛探索[21,43–47]。这些研究揭示了 CMX 工艺应用于污水处理厂或污水处理厂的潜在前景。

虽然, CMX 细菌的反应机制[38]和用于将 NH_3 氧化为 NO_3^- 的酶[27]具有独特性, 但该类菌在其他方面也存在较大差异。例如, 菌株水平的研究发现, 并非所有类型的 CMX *Nitrospira* 都可以体外培养[48]。此外, clade A 和 clade B 的 CMX 细菌对外部扰动的响应性也存在显著差异[49]。因此, CMX *Nitrospira* 具有独特的生态位需求[13, 16,30], 了解这些需求不仅有助于认识 CMX 细菌如何抵御来自典型硝化细菌[如氨氧化古细菌 (AOA)、氨氧化细菌 (AOB) 和亚硝酸盐氧化细菌 (NOB)] 的竞争, 同时揭示它们与典型硝化细菌的共存机制[8,32,50–51]。值得注意的是, 多物种组合是群落功能的关键驱动因素, 这可能引发一些对 CMX 细菌生态位的疑虑, 即所有分支或者子分支的 CMX 细菌是否具有相似类型的共存细菌。因此, CMX 细菌的功能和生态位决定因素之间应当具有密切的联系。另外, 生理、生化和分子研究表明, CMX 细菌具有广泛的代谢潜力, 如通过代谢途径[36,52–53]和共代谢途径[54–58]增强对污水中微污染物的去除。上述研究为 CMX 细菌在可持续污水处理过程中的工程应用提供理论指导。

迄今为止, 污水处理厂和污水处理厂中 CMX 细菌的存在已被广泛报道[8,10,15,17,59–67]。先前的综述主要从 CMX 细菌的基因组[8]、 N_2O 排放[64]、酶学和代谢模型[65]进行阐述。然而, 对于 CMX 细菌在自然和工程系统中的分布、生态位分化、共存关系、代谢功能多样性、与其他细菌的相互作用、反应器适应性、应激反应和共代谢生物转化等方面尚未完全了解。因此, 本文旨在综述以上

因素, 有助于 CMX 细菌在水处理和污水处理厂中的应用。

2. CMX 细菌的普遍性

2.1. 自然和工程系统

本文总结了 CMX 细菌在不同自然和工程系统中的分布和丰度, 以揭示氮循环中微生物硝化反应的生态学原理 (图 1) [48,68]。基于编码氨单加氧酶 (*amoA*) 系统发育亚基 A 的基因, 两种新型 CMX *Nitrospira* 代表两种不同的分支, 即 clade A 和 clade B [7]。在多种生态系统中均可检测到隶属于 clade A 和 clade B 的 CMX 细菌[68], 表明它们广泛存在于环境。近年来, 可培养和不可培养的 *Nitrospira* 分别存在于 subclade A1 和 subclade A2 [48]。在土壤和淡水生态系统[69]、水处理厂和污水处理厂[31]、地下水砂滤器[9]、水产养殖池[70]和硝化生物膜[64]等环境中均检测到 CMX *Nitrospira*, 表明这些生态环境可用作硝化反应的平台。与污水处理厂[60]和土壤[71]相比, 水处理厂[9]中 CMX *Nitrospira* 似乎更丰富。此外, clade A 和 clade B 在相同微环境中的丰度往往不同。例如, 森林土壤中, clade B 比 clade A 更丰富。相比之下, 水稻土中 clade B 的丰度比 clade A 的丰度减少了 14 倍[49]。值得注意的是, clade B 比 clade A 对外部环境更敏感。例如, NH_4^+ 调整对 clade A 的丰度没有显著影响, 而 clade B 的丰度显著增加 ($P < 0.05$) [49]。类似地, 饮用水分配系统中残留氯胺 [$(1.74 \pm 0.21) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$] 的存在有利于向类 *Nitrospira* 的 OTU 转变[72]。值得注意的是, 不同引物对于识别 CMX 细菌的分支信息具有不同的匹配率 (图 2) [48]。例如, 引物 A378f 与 CMX clade A (subclade A1 和 subclade A2) 具有较高的匹配率 (与 *amoA* 基因匹配率为 80%–90%), 但与 clade B 和 AOB 的匹配率较低 (图 2), 表明 clade A 和 clade B 之间的遗传潜力存在巨大差异。

在大型污水处理厂中, CMX 细菌是一类重要的 NH_3 氧化菌[7]。一对专门针对 CMX *amoA* 基因设计的引物显示, 污水处理厂中 *Nitrospira nitrosa* 数量占细菌总数的 94.34% [60], 是定量聚合酶链反应 (qPCR) 所得 AOB *amoA* 基因的 183 倍。与 AOB 相比, CMX *Nitrospira* 的优势也体现在市政污水处理硝化池中, 研究发现, 运行 400 d 时, CMX *Nitrospira* 在氨氧化菌群中占比达 94% [73]。类似地, 在有机碳充足的硝化-反硝化系统中, CMX *Nitrospira* 也比 AOB *Nitrospira* 更具优势[74]。与其他硝化群落相比, CMX 细菌在污水处理厂 (尤其在水处理厂) 中具有显著的竞争优势, 表明主流 CMX 的工程应用是有希望

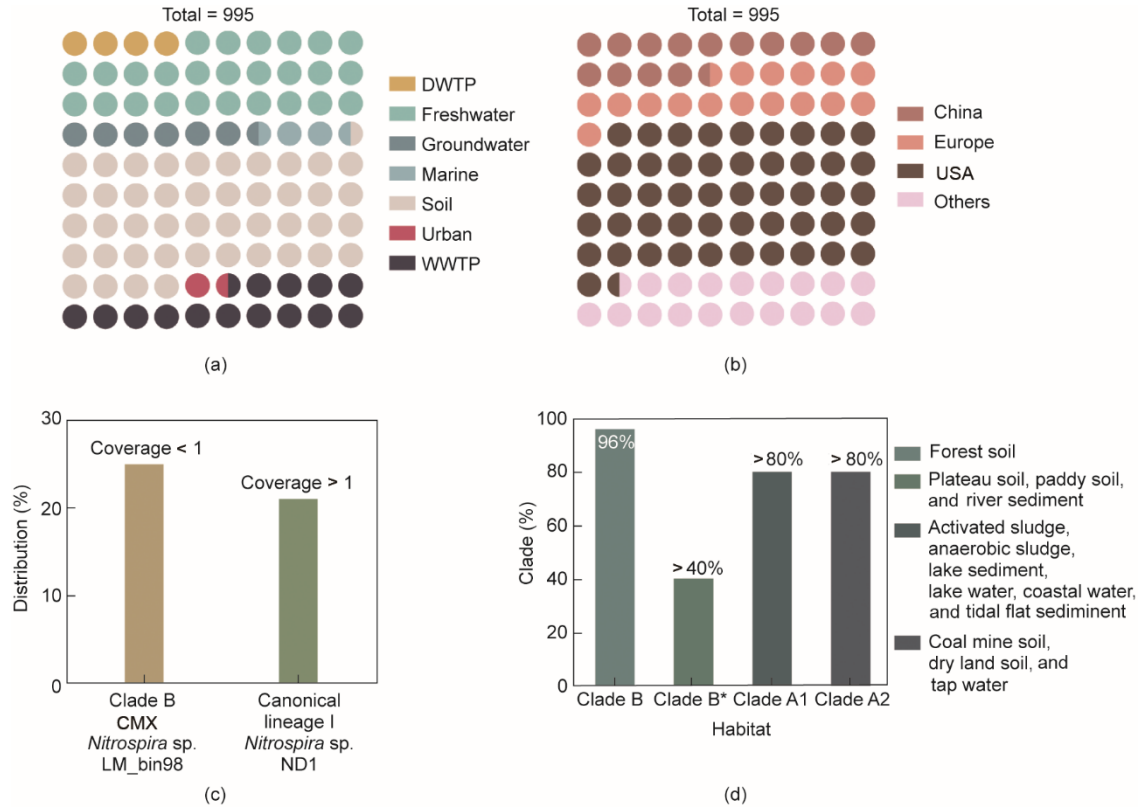


图1. 广泛分布的CMX细菌。在全球 (b) 和7个广泛定义的栖息地 (a) 中, 995个元基因组中*Nitrospira*物种 (共68个) 的分布。(c) CMX *Nitrospira* 是分布最广的 (低丰度, 覆盖率低于1), 而非典型的*Nitrospira* 为高丰度且覆盖度高于1 [68]。(d) 用CMX特异性引物组的部分巢式PCR分析不同生境中CMX细菌的clade水平分布[48]。

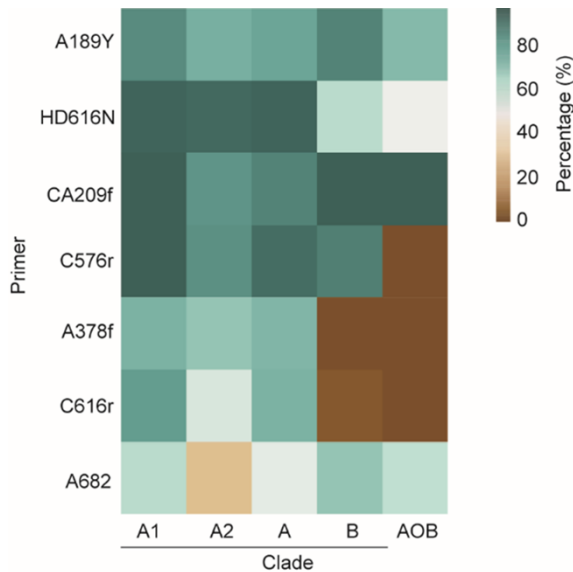


图2. 引物与不同CMX分支和AOB的*amoA*基因序列的匹配度 (%) [48]。序列从参考文献描述的公共数据库中的宏基因组或元转录组数据集中提取。

的 (表1 [8,12,14,41,43,70,75–77])。尽管CMX细菌具有 NH_3 和 NO_2^- 氧化的完整酶系统, 仍应选择适当的标记物来表征这些酶的存在和丰度。例如, CMX *Nitrospira* 与专一 NO_2^- 氧化的*Nitrospira*的亚硝酸盐氧化还原酶 (Nxr) 非常

相似[37], 并不适合作为CMX *Nitrospira* 的标记物。

2.2. 生态位差异

CMX *Nitrospira* 对不同生境中的资源分布具有不同的响应机制。例如, 水中溶解氧 (DO) 波动不会影响CMX群落[28]。通过比较基因组学研究发现, 其原因可能是CMX *Nitrospira* 所含基因允许CMX *Nitrospira* 在低氧水平下生长[29]。与典型硝化细菌相反, CMX *Nitrospira* 的基因组结果表明CMX *Nitrospira* 可以通过使用外部亚硝酸盐同化硝酸盐。此外, 其他决定CMX *Nitrospira* 生态位的潜在因素, 包括亚硝酸盐水平 (活性污泥) [13]、氮沉降升高 (森林土壤) [30]和pH值决定的 NH_3 可用性 (农业/森林土壤) [16,30]。然而, 通过水平转移 NH_3 氧化[29]和羟胺氧化还原酶[68]的编码基因, CMX *Nitrospira* 的子分支可快速与其他典型硝化细菌的生态位分离。研究表明, CMX *Nitrospira* 的基因特征受生物因素影响[32]。生态位分化是形成微生物群落结构的重要决定因素[78]。然而, 关于CMX *Nitrospira* 在生境中的生态位特化、偏好与分化信息十分匮乏, 特别是在不同的营养状态和氧浓度环境中 [28,40]。因此, 应通过关注早期群落的代谢能力和比较基因组学, 进一步研究CMX *Nitrospira* 和典型硝化细菌之间

表1 全程氨氧化细菌与典型硝化细菌的比较

Character	CMX bacteria	Canonical nitrifiers
K_m	449.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NO}_2^-$ [12]	6–27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NO}_2^-$ [12]
Energy yield during NH_3 oxidation	$\Delta G^0 = 384.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ [8]	$\Delta G^0 = 274.7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ [8]
CO_2 fixation pathway	Calvin–Benson–Bassham (CBB) cycle [8]	Reductive tricarboxylic acid cycle (TCA) [8]
Oxygen consumption stoichiometry (Y_0)	Larger ($Y_0 = 2$)	Smaller ($Y_0 = 1.5$)
Withstand Cu deficiency	High [63]	Not withstand [75]
Urease transporters	High affinity [63]	—
Oxidative stress-evading mechanism	High [63]	Low
N_2O production	Low [63]	High
H_2 and formate oxidation by 3b bidirectional [NiFe] hydrogenase	Yes [76]	—
High-affinity sulfate permease (SulP)/Solute Carrier 26 (SLC26)-type transporters for broad range substrates (SO_4^{2-} , HCO_3^- , Cl^-)	Yes [76]	—
Correlation with dissolved oxygen (DO)	Negative ($r = -0.77$) [43]	Positive ($r = 0.14\text{--}0.48$) [70]
Half-saturation constant on NH_3	0.026 $\mu\text{g}\cdot\text{NH}_3\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ (oligotrophic life-style) [41]	0.077 $\text{mg}\cdot\text{NH}_3\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ [77]
O_2 requirement during enrichment	Low (0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) [14]	High (0.06–0.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) [63]

K_m is described as the concentration of the substrate to which the velocity of the reaction is half maximal.

的生态位分离情况。此外，前人也探索了自然环境（水生[28]、土壤[16,30,40]和工程环境[73,79]）中CMX *Nitrospira* 的生态位差异和分离。然而，为了更深入地了解CMX *Nitrospira* 在各种环境中的生态位分化，包括栖息地异质性、环境条件和生物相互作用，仍需要更多基于反应器的研究。

2.3. 基因水平的功能

众所周知，CMX细菌可与不同的典型细菌共存，如NOB [32]、AOA [8,50]、AOB [8,51]和厌氧氨氧化菌[34]等，表明CMX *Nitrospira* 与其他典型群落之间存在大量的相互作用。CMX细菌的*amoA*-Niño基因与典型硝化细菌和其他细菌的选择性基因之间存在着显著正相关关系[图3(a)] [43]。例如，在淡水贻贝生境中，*Nitrospira inopinata* (CMX) 中大量的氮循环基因有利于*Nitrospira moscoviensis* (NOB) 发挥不同的代谢功能[32]。相较于*Nitrospira moscoviensis*，*Nitrospira inopinata* 拥有更多的氮循环基因，而两种菌株之间的代谢共享是决定它们共生于贻贝生境的关键。CMX *Nitrospira* 拥有一套完整的基因(*urtABCDE*)，对尿素转运系统具有高度亲和力，而*Nitrospira moscoviensis* 则缺乏该基因的完整序列（只有*UrtA*）[32]。在极低的氧气浓度下，CMX *Nitrospira* 更倾向于氧化 NH_3 而不是 NO_2^- ，有利于CMX *Nitrospira* 与厌氧氨氧化菌共存[27]。此外，硝酸盐和总氮的浓度分别与CMX的subclade A1和subclade A2呈现正相关关系[51]，说明这些子分支可能对共存的典型硝化细菌有不同的响应行为。因

此，应在子分支水平上评估CMX *Nitrospira* 的共存情况，以揭示该菌在水和污水处理氮转化系统中与其他细菌在合作竞争关系方面的不确定性[80]，从而有助于水处理厂和污水处理厂的工艺设计和运行。

综上，与AOA相似，CMX *Nitrospira* 广泛存在于自然水域、饮用水系统和贫营养污水中，这可能与典型硝化细菌在贫营养条件下的低增长率相关。CMX在低氧气浓度下的高活性意味着可以开发一个低成本的脱氮过程。因此，应通过进一步的实验确定工程系统中CMX细菌和典型硝化细菌的边界条件。

3. CMX细菌的生理和生化潜力

3.1. 代谢功能的多样性

部分CMX *Nitrospira* 可以以 O_2 或 NO_3^- 为最终电子受体进行呼吸作用，并氧化不同的底物，如 NH_3 、 H_2 、甲酸盐和 NO_2^- [35]。因此，代谢功能的多样性使这些细菌在多种生境中定殖。这些细菌可以通过AMO氧化 NH_3 ，并通过还原柠檬酸循环固定 CO_2 。由单细胞(*Nitrospira inopinata*)动力学[38]证实，由于对 NH_3 的高亲和力，CMX *Nitrospira inopinata* 在贫营养环境中的数量通常高于其他氨氧化微生物。纯培养的CMX细菌（如*Nitrospira inopinata*）的半饱和常数[$K_{m(\text{app})}$]为63 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，比AOB低4~2500倍[41]，表明该菌具有较高的 NH_3 亲和力。CMX细菌clade A的 NH_3 半饱和常数则低得多（即49 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）

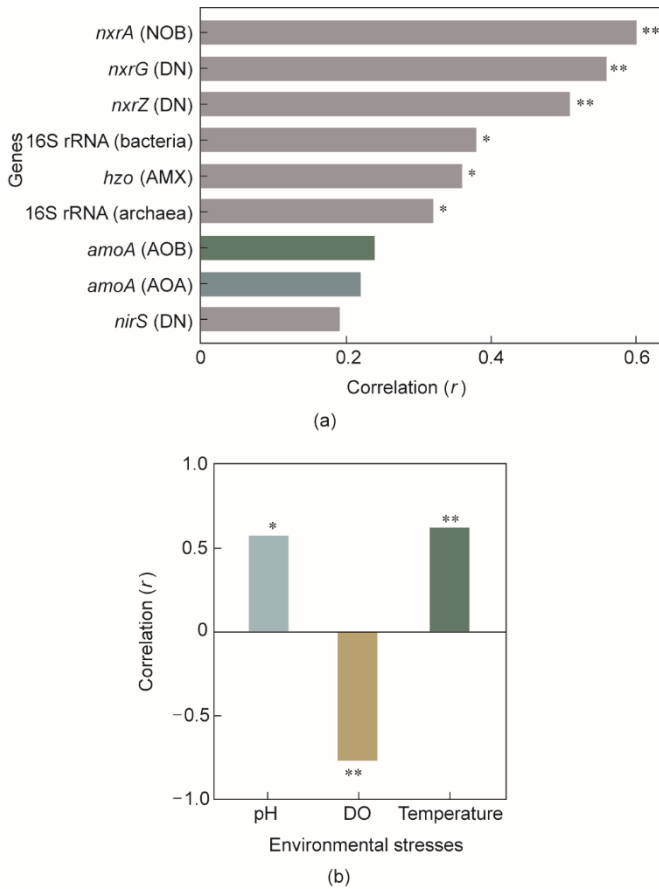


图3. *amoA*-Niño的Pearson相关性[43]。(a) CMX细菌与包括典型硝化菌在内的其他细菌共存。*amoA*-Niño与其他基因的相关性。(b) *amoA*-Niño基因与环境因子的相关性研究。AMX: 氨氧化; DN: 硝化菌; DO: 溶解氧。显著性分析: 双边检验* ≤ 0.05 , ** ≤ 0.01 。

[41]。然而, CMX细菌对 NO_2^- 的亲合力比其他NOB低[41]。与 NH_3 类似, CMX *Nitrospira*在完全硝化过程中也可以利用氰酸盐[74]。此外, CMX *Nitrospira*更适应贫营养环境[35], 并有助于它在与AOA竞争过程中取得优势地位[40]。即使CMX *Nitrospira*的*amoA*基因丰度高于AOA或AOB, 当 $K_{m(\text{app})}$ 值重叠时, CMX *Nitrospira*和其他典型硝化细菌(如AOA)在贫营养和低 NH_3 的生境中也存在竞争。此外, 尽管clade A的丰度在各个pH值中均高于clade B, 土壤pH值的变化(4.0~9.0)对CMX细菌clade A和clade B的*amoA*基因拷贝数仅有轻微的影响[40]。然而, 如*amoA*-Niño基因丰度[图3(b)]所示, pH值、DO和温度对CMX细菌有显著影响。宏基因组结果表明, CMX *Nitrospira*能够在尿素浓度低且波动大的污水处理厂中成功繁殖[40], 主要因为该体系中存在编码尿素酶蛋白、高亲和力尿素转运体(*urtABCDE*)、尿素羧化酶相关转运体(*uctT*)和外膜孔蛋白(*fmdC*) [7,27]。最近研究发现, 由于*Nitrospira inopinata*的基因组中缺乏NO还原酶, CMX细菌在硝化过程中释放的 N_2O 低于AOB

[6]。事实上, 典型硝化细菌的生物膜存在较高的 N_2O 排放情况[64]。因此, CMX过程中较少的 N_2O 排放有助于减少水厂设计和操作成本, 减少废水处理过程中 N_2O 的排放。此外, 由于[Ni-Fe]氢化酶(3b组)的存在, CMX *Nitrospira*的代谢潜力使这些细菌表现出不同的作用[12], 如①通过重新氧化NAD(P)H产生 H_2 , 同时在发酵过程中维持细胞的氧化还原平衡; ②氧化 H_2 以提供电子用于 CO_2 还原; ③将元素硫或多硫化物还原成 H_2S 。此外, 目前还不太清楚CMX细菌如何在 NH_3 和 NO_2^- 氧化模式之间切换。在由快速重力砂滤材料组成的反应器中使用标记的 NH_4^+ 和 NO_2^- 作为底物时, CMX *Nitrospira*并未表现出专性氧化外源 NO_2^- 的偏好[81], 这与*Nitrospira inopinata* [7,27]一致。值得注意的是, ClO_3^- 及NO螯合物(PTIO)对CMX *Nitrospira* [81]及*Nitrospira inopinata* [6]的 NH_3 氧化作用具有一定的抑制作用。事实上, ClO_3^- 还原会产生有毒的 ClO_2^- , 对CMX细菌的代谢(包括 NH_3 氧化)产生毒害作用。不同分支的CMX细菌与AOB和AOA的代谢潜力差异及其与污水处理厂的相关性见表2 [8,82-91]。此外, 在CMX *Nitrospira*中可能存在水平基因转移, 并通过这种方式获得某些额外的代谢功能[10,14,92]。

3.2. 酶学

CMX细菌的胞外代谢为 NH_3 完全氧化为 NO_3^- 的八电子氧化过程[38]。CMX介导的硝化作用可能依赖于*amo*、*hao*和*nxr*等基因的表达[27]。宏基因组的研究证实RBC中的CMX *Nitrospira*可以通过*ure*基因将尿素水解为 NH_3 [10]。在尿素富集培养的CMX *Nitrospira* clade A中也发现了该基因[29]。然而, 由于缺少*fdh*基因, CMX *Nitrospira* clade A不能利用甲酸盐作为替代电子供体, 而CMX *Nitrospira* clade B则拥有*fdh*基因[10]。此外, 一些CMX *Nitrospira*可以使用二氢/质子作为替代电子供体/受体, 这归功于编码3b组[Ni-Fe]硫磺还原氢酶的*hyb*和*hyd*等基因[11]。通过水平基因转移, CMX *Nitrospira*不仅可获得氧化酶活性[10], 也可获得与氧化酶基因相邻的两个毒素-抗毒素基因[14]。然而, 水平基因转移也有助于CMX *Nitrospira*从非氨氧化菌中获得多种基因, 促进整个氨氧化途径[92]。事实上, CMX细菌本身具有氧化酶活性[17]。因此, 除了利用游离氨作为底物外, CMX细菌还可以利用各种有机氮化合物。值得注意的是, CMX *Nitrospira*的其他代谢功能更有利于CMX *Nitrospira*在污水处理厂中应用。Han等[36]发现, CMX *Nitrospira inopinata*能够对多种微污染物进行生物转化。其中, 多菌灵可由CMX *Nitrospira inopinata*生物转化, 其能量来源为氨而不是亚硝

表2 复合氧化细菌及其典型硝化器的代谢潜力

Metabolism	Bacteria [8]					Relevance of metabolism to wastewater treatment
	Clade	Clade	Canoni-cal	AOB	AOA	
	A CMX	B CMX	<i>Nitro-spira</i>			
Ammonia oxidation	+++	+++	+++	-	+++	Anthropogenic discharge of nitrogen to freshwater (in China) is 14.5 ± 3.1 megatons of nitrogen per year which is 2.7 times higher than the estimated safe nitrogen discharge threshold (5.2 ± 0.7) Mt of nitrogen per year [82]
Nitrite oxidation	+++	+++	+++	-	-	
Nitrite reductase	+++	+++	+++	+	+	Assimilatory nitrite reduction
NO reductase	-	-	-	+	-	
H ₂ oxidation	+++	-	+	+	-	H ₂ can be an alternative energy source for aerobic respiration in the absence of nitrifying reactions. It suggests the ecological flexibility of N-cycling bacteria, which can fix CO ₂ with H ₂ as a sole electron source [83]
Formate oxidation	-	+++	+++	-	-	Formate oxidation propensity confirms the electrochemical active nature of bacteria [84], and such bacteria are effective in the removal of organic pollutants (e.g., 17 β -estradiol) in aerobic aquatic environments [85]
Cytochrome <i>bd</i> -like oxidase	+++	+++	+++	-	-	Expression of oxidases could be considered as one of the stress-evading mechanisms. For instance, stress caused by DO perturbation led microbial community changes and higher activities of peroxidase and cytochromes, and there was a high percent removal (57%–92%) of organic micropollutants during WWT [86]
Cytochrome <i>aa</i> ₃ oxidase	-	-	-	+++	+++	
Cytochrome <i>bd</i> quinol oxidase	+	+	+++	-	-	Performance of many biological WWT processes are inhibited by urea [87], and urea removal is crucial for a successful treatment process
Urea degradation	+++	+++	+	+	+	
Reductive TCA cycle	+++	+++	+++	-	-	Reductive TCA is an effective energy-yielding and carbon fixation pathway compared with CBB [8]. Type of C-fixation pathway is important in the C sequestration and suppression of CO ₂ emission by bacteria; importantly, selection of the C-fixation pathway is highly influenced by NH ₄ ⁺ -N and NO ₂ ⁻ -N concentrations [88]
CBB cycle	-	-	-	+++	-	
Thaumarchaeal 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate (HP/HB) cycle	-	-	-	-	+++	The most energy-efficient CO ₂ fixation pathway in the presence of 2 and nutrient-limited environments [89]
Polyhydroxy-alkaotes (PHA) synthesis	-	-	-	-	+	PHA and glycogen are important storages during biological phosphorous removal from the wastewater [90]. Alternative synthesis and oxidation of intracellular storages have significant impact on N ₂ O emissions during biological nutrient removal [91]
Glycogen synthesis	+++	+++	+++	+++	-	

+++ means function is encoded in all genomes; + means function is encoded in some to most genomes; - means function is not encoded.

酸盐。这些结果表明，与 AOA-或 AOB-*Nitrospira* 相比，CMX *Nitrospira inopinata* 的 AMO 拥有更高的氨亲和力。此外，CMX *Nitrospira* 的酶系统使 CMX 细菌排放更少的 NO_y [亚硝酸 (HONO) + 一氧化氮 (NO)]，及 NO + 二氧化氮 (NO₂) [93]，这是全球变暖和环境化学中的关键排放物。简而言之，这些功能酶的存在赋予 CMX 细菌各种代谢潜力。

3.3. CMX 细菌与其他细菌的相互作用

CMX 细菌与其他细菌（如典型硝化细菌）之间的相互作用将极大地影响污水处理厂的设计和优化运行。*Nitrospira inopinata* 与 NOB 而非 AOA 和 AOB 显示出明显的

正相关关系[43]，表明 CMX 参与的 NO₂ 氧化比 NH₃ 氧化更活跃。在循环水产养殖系统中也发现了 CMX 细菌和 NOB 的相互作用[31]。尽管这种正相关关系经常出现在其他组合中（如类 *Nitrospira inopinata* CMX 和反硝化微生物 [32]），但由于复杂的环境因素，目前的研究还未能完全理解 CMX 细菌和典型硝化细菌之间的多重相关性。特别地，自然环境中很难追踪工程系统中的生物因素。序批式反应器中，部分硝化细菌、CMX 和厌氧氨氧化菌的协同作用能够实现 98.82% 的 NH₄⁺-N 去除率[34]，表明 CMX 细菌可以在高氮处理过程中发挥合作作用。在低氧条件下，CMX 细菌能够将 NH₃ 氧化为 NO₂⁻，有利于 CMX 和厌氧氨氧化菌之间的相互作用[11]。研究表明，在地下水快速砂

滤过程中, AOB 和 CMX *Nitrospira* 之间的协同作用可以实现铜诱导的高效硝化[45]。为了解 CMX 细菌的群落行为, 目前已开展 CMX 细菌群体感应 (QS) 的相关研究, 例如, CMX 细菌含有负责合成酰基高丝氨酸内酯 (AHL) 和细胞外聚物质 (EPS) 的基因[77]。事实上, 在典型硝化细菌的纯培养物[94]、混合培养物[95]以及自养硝化/反硝化生物膜[96]中均发现 QS。CMX 细菌的生物膜形成潜力受到 ABC 转运体 (ko02010) 和双组分系统 (ko02020) 所含基因的调控[97], 表明 CMX 细菌更倾向于生长于生物膜中。此外, 生物膜反应器中虽然出现了 CMX 过程[98], 但对于它们在这些环境中的群体感应机制尚不清楚[99]。

总之, 由于 CMX 细胞中多种功能基因的表达, 代谢功能多样性是 CMX *Nitrospira* 的独特特征, 表明 CMX *Nitrospira* 可以在污水和工业废水中生长。此外, CMX *Nitrospira* 比传统硝化细菌产生的 N_2O 更少, CMX 的应用将有助于开发可持续的氮处理过程。

4. CMX 细菌在工程系统中的行为

4.1. 反应器适应性

与其他典型硝化细菌相比, CMX *Nitrospira* 具有明显的生理特征, 如对 NH_3 的 K_m 值较低、 μ_{max} 较高、每摩尔 NH_3 的蛋白质含量较高, 以及以 $O_2:NH_3$ 摩尔比为单位计算的 O_2 消耗率较高[8]。对于水质和环境条件波动较大的水处理厂和污水处理厂, 这些特性使 CMX *Nitrospira* 具有更强的适应性工艺。基于 qPCR、16S rRNA 基因测序和宏基因组学的多种分子技术, 发现在市政污水处理厂的三级生物旋转转盘池中, CMX *Nitrospira* 比 AOA 和 AOB 更占优势[10], 表明 CMX 细菌在三级污水处理厂中无处不在。此外, CMX 细菌在生物反应器中的存在可以为了解各种环境因素对该类细菌在不同空间和时间分布的影响提供一种途径[59]。对 CMX 细菌对硝化作用有很大贡献[100]。对从不同工程系统中收集的样品进行分子生物学分析, 发现 CMX 编码的 DNA 序列 (CDS) 与总 CDS 的比值约为 0.3% 或高于 0.6% [图 4 (a) [15]]。在脱氮反应器中也发现了 CMX *Nitrospira* 的主导地位[图 4 (b) [72]], CMX *Nitrospira* 占 7.2%~27.4%, 是脱氮反应器中硝化作用的主要参与者。以上研究均表明 CMX 细菌对反应器系统的适应性。

但 NH_3 浓度并不是决定工程系统中 CMX *Nitrospira* 丰度的唯一因素。即使在 NH_3 浓度很高的污泥样品中, CMX 细菌的丰度高低也有很大差异[61,101]。因此, 除非

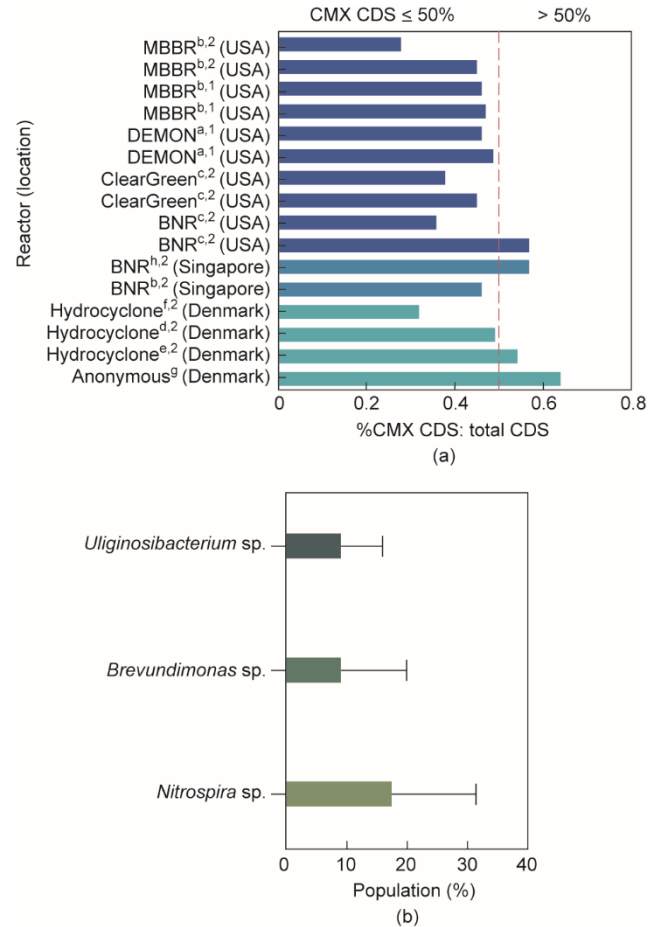


图 4. CMX 细菌的反应器适应性。(a) 在不同国家调查的全规模污水处理厂中, CMX 编码 DNA 序列 (% CMX CDS) 与总 CDS 的比值[15]。底物类型 (¹SS, ²MS) 和生物量[^a颗粒, ^b生物膜, ^c混合液, ^d溢流, ^e下溢, ^fALT (混合液), ^g接种物, ^h活性污泥]。(b) 用带条形散点图表示 *Nitrospira* sp. 在脱氮反应器中的优势度 (平均值加标准偏差) [72]。

对底物范围、需氧量、生长速率和产量以及生物膜形成趋势进行研究, 否则较难评估反应器中 CMX 细菌的丰度。目前对影响 clade A 和 clade B 存在和优势的因素尚不清楚[10]。Roots 等[73]发现, 相比 DO 为 3~5 $mg \cdot L^{-1}$ 的传统活性污泥硝化反应器, DO 为 0.2~1.0 $mg \cdot L^{-1}$ 的主流硝化反应器运行 400 d 后, CMX *Nitrospira* 的铵去除率更高[约为 59 $mg \cdot (L \cdot d)^{-1}$]。研究结果表明 CMX 驱动的低 DO 硝化反应是传统高 DO 硝化反应的替代方法。此外, 最近的研究发现, CMX 细菌能够很好地适应以 NH_3 或 NO_2^- 作为唯一氮源的反应器[102]。然而, 当使用 NH_3 作为唯一氮源时, CMX 细菌的硝化速率是以 NO_2^- 为氮源的两倍。这一发现可进一步证实基于 CMX 过程的应用可行性。CMX 细菌与典型硝化细菌的比例及 clade A 与 clade B 的比例均受到 N-P-K (氮-磷-钾) 肥的显著影响 (图 5) [103]。与其他氨氧化微生物相比, CMX 细菌在部分厌氧氨氧化生物反应器中受游离氨的抑制更明显[104]。

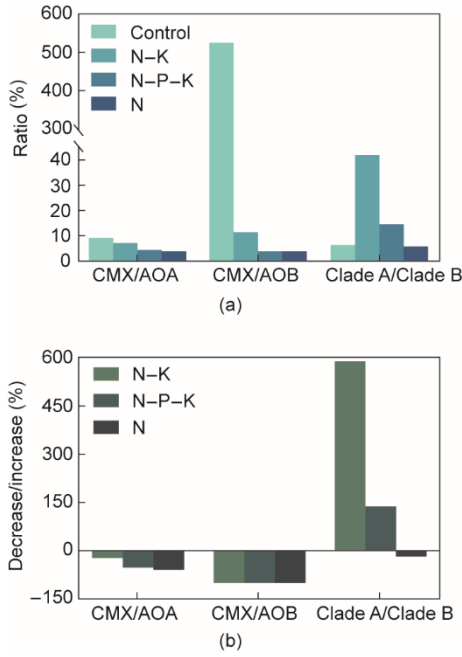


图5. 营养添加剂对CMX细菌和典型硝化菌的影响[103]。(a)不同长期施肥方式下 $amoA$ 基因拷贝数的比值。(b)与未处理对照相比, $amoA$ 基因拷贝数比例下降或增加百分比。(CMX: comammox细菌; AOA: 氨氧化古菌; AOB: 氨氧化菌; N: 氮; P: 磷; K: 钾)

较长的污泥停留时间 (SRT > 10 d) 和附着的生长模式有利于CMX细菌clade A的生长[11], 并且SRT是CMX细菌广泛应用的关键决定因素。较长的SRT对反应器系统中的微生物群落有显著影响, 如生物膜厚度[105]、微生物生物多样性[106]、生物量浓度[107]和微生物挥发酸产量等[108]。研究表明, 在较长的SRT下, CMX *Nitrospira* 对 NO_2^- 的积累及 N_2O 的生成存在抑制作用[109]。CMX *Nitrospira*可在硝化颗粒中富集, 且富集的菌群具有较好的脱氮效率[110]。无脊椎动物的黏多糖可以影响自然环境(如海岸沉积物)中的CMX细菌, 能够刺激 NO_3^- 氧化官能团[111]。近期研究发现, 在低DO和 NH_4^+ 以及较长SRT的工程系统中, CMX *Nitrospira*的氮去除效率更高[73]。这些发现能够为优化生物反应器构建和运行参数提供潜在依据。此外, 定量PCR和PCR实验表明, 在污水处理厂中, CMX细菌能够更好地适应生物膜而非悬浮污泥环境[62]。根据 $amoA$ 基因的系统发育分析发现, 不能纯培养的CMX *Nitrospira*在生物膜中占主导地位[62]。由于目前污水处理厂主要采用生物膜与活性污泥工艺, 上述研究对污水处理厂的运行和设计具有重要意义。这也是CMX细菌在以生物膜为主体的水处理厂或饮用水分配系统中广泛存在的潜在原因。

4.2. 应激反应

CMX *Nitrospira*能够承受物理和化学诱导的压力。例

如, 在 NH_3 饥饿压力下, *Nitrospira*持续存在于活性污泥中; 而在整个“饥饿试验”中, *Nitrospira*的DNA和互补DNA不受温度波动的影响[44]。一些基因编码酶(如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和几种过氧化物酶)能够保护细菌免受活性氧(ROS)的侵害[17]。CMX细菌能很好地适应含有消毒剂[如过乙酸(PAA)]的水产养殖系统。PAA(每天施用两次, $1.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)于8周后对CMX细菌基因拷贝数产生不利影响, 但于第13周时影响逐渐减少[112]。研究表明, CMX细菌对长期化学诱导具有潜在的适应性。当长期施肥时, CMX细菌出现类似的适应性反应[46]。在 $Cu(II)$ 含量较低的情况下, 四环素(TC)对硝化菌群的胁迫有所缓解。在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TC浓度条件下, 与硝化和反硝化相关的功能基因丰度均受到不利影响; 但由于TC在低 $Cu(II)$ 含量下对酶活性的抑制作用降低, 这些不利影响在TC($20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 $Cu(III)$ ($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)[113]的混合压力下减弱。

波动环境中CMX细菌生活方式的转变也表明该细菌具有较高的环境适应性。例如, CMX细菌能够调控细胞内化合物如多磷酸盐、糖原和多羟羧酸盐等的生成和降解, 为它在恶劣环境中生存提供基础[17]。然而, 其他典型硝化细菌的应激反应与CMX细菌不同。例如, *Nitrosopumilus maritimus* SCM1(一株AOA模式菌)在 NH_3 饥饿和Cu压力胁迫下, 用于调控能量产生和生物合成的基因下调[114]。前人研究表明, 与典型硝化细菌相比, CMX细菌具有更好的压力适应性。

由于较强的适应性, CMX *Nitrospira*似乎是反应器环境的潜在耐受菌。对物理和化学压力的耐受性是CMX *Nitrospira*适应性的关键机制。但一些化学品的出现, 如环丙沙星等, 可能会显著抑制CMX *Nitrospira*和脱氮性能[47]。此外, 与活性污泥相比, 生物膜中的CMX *Nitrospira*可能具有更高的操作灵活性、更低的空间要求, 以及更好的环境波动恢复能力[115], 对CMX工艺的实际应用具有重要意义。

5. 水处理厂和污水处理厂的污染物去除情况

5.1. 微污染物的降解

CMX细菌能够特异性降解某些微量污染物, 为在水处理和污水处理中的应用提供了可能。通过对硝化环境中微污染物的归趋进行分析[36], 近期研究发现*Nitrospira inopinata*对 NH_3 降解AMO系统具有很高的亲和力; 且在 NH_3 存在的条件下, 能够降解阿苏拉姆、芬六胺、米安色林、番丁胺和多菌灵。调控尿素、胺和氰酸盐利用基因

的存在表明, CMX细菌能够潜在降解除游离 NH_3 以外的多种有机氮化合物[52]。此外, 增加硝化移动床生物膜反应器中粉末活性炭(PAC)的用量($0\sim 30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 能够提高反应器对4种药物的去除率(约80%); 并且在所有采样时间(79~164 d)中, *Nitrospira* spp. 是对照组和PAC添加反应器的主要硝化物种(8%~20%) [53]。然而, CMX细菌在微污染物转化中的作用和机制尚不明晰, 仍需进一步深入探究。

在水处理厂或污水处理厂中, 硝化细菌对不同微污染物的降解具有重要作用, 如布洛芬和奈普生[116]、米安色林和雷尼替丁[117]、磺胺甲恶唑、红霉素、罗红霉素和氟西汀[118]及三氯乙烷[119]等。AMO对药物的羟基化起重要作用。基于酶研究证实, AMO能够氧化多种脂肪族、芳香族碳氢化合物[120]和微污染物[121]。AMO中的其他酶系统, 如羟胺氧化还原酶(催化羟胺转化为亚硝酸盐)和亚硝酸盐氧化还原酶(将亚硝酸盐转化为硝酸盐), 均能够介导氧化生物转化反应, 并在微污染物去除中发挥重要作用[121]。纯氨氧化菌对不同浓度($100\sim 1000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)重金属(如Cu、Ni、Pb和Cd)的耐受性[122]表明硝化菌群可用于重金属污染场所的生物修复。迄今为止, 关于CMX细菌是否可成功应用于工程系统中去除微污染物或进行生物转化的相关证据有限[20,36]。然而, 未来相关研究需要关注两方面: 一方面, 需要更多的实际证据确认CMX细菌降解或转化不同微污染物的潜力; 另一方面, 应深入研究微污染物对CMX细菌的生态毒性或微污染物与CMX细菌的相互作用。

5.2. 共代谢生物转化

在 NH_3 氧化的同时, CMX细菌倾向于借助脱氨作用共代谢微污染物, 如药物[54–55]、人工甜味剂(如安赛蜜、阿斯巴甜、甜蜜素、糖精和三氯蔗糖) [56]、磺胺甲恶唑[57]和2-氯苯酚[58]等。由于AMO的共氧化作用, 好氧颗粒污泥反应器可在同步硝化过程中强化选定微污染物(如双酚A、奈普生、伊格洛尔、特丁林和碘己醇)的去除效果[123]。同样地, 酸性药物(如吉非罗齐、双氯芬酸、贝沙贝特和酮洛芬)和 17α -雌二醇在硝化作用下部分降解, 但天然雌激素(如 17β -雌二醇和雌酮)的降解率在硝化作用被抑制时得以强化[124]。先前研究表明, 硝化酶(尤其是AMO)似乎是非特异性的[125], 并且能够在硝化反应期间同时降解几种碳氢化合物。这也表明硝化菌群能够广泛应用于水处理厂或污水处理厂中微污染物的去除过程。然而, 某些微污染物对硝化过程显示出顽固性或抑制性现象。例如, 研究发现硝化活性污泥无法去除

双氯芬酸、地西泮、卡马西平和甲氧苄啶。此外, 部分新型污染物对细菌具有毒性效应。例如, 唑类的取代基能够“修饰”硝化酶的活性位点, 抑制硝化作用[126]。虽然, CMX细菌、AOA、AOB和NOB在微污染物的共代谢生物转化中的具体作用尚不明晰, 但这些功能细菌的共代谢能力将为水处理提供更多的选择。

微污染物去除或生物共代谢是水处理或污水处理过程的重要特征, 而CMX *Nitrospira*具有该项潜力。目前, 尚未出现环境和经济可持续的水处理厂和污水处理厂[127], 因为处理后的水或废水中仍存在微污染物[128–130]。此外, 有机微污染物的协同生物代谢普遍存在于处理工艺如活性污泥系统[131]和传统硝化系统[132–133]中。因此, CMX *Nitrospira*能够通过共代谢生物转化去除微污染物。

6. 研究空白

CMX的可持续水或污水处理取决于许多变量, 目前仍需要进行全面研究。其中包括:

(1) 在未来的研究中, 应阐明不同营养水平和反应器运行条件下的生态位偏好。尽管已有研究探究了CMX细菌的生态位偏好[13,16,30], 但关于CMX细菌不同分支的资源利用、生态位特异性和生态位重叠的研究仍然有限。特别地, 当两个物种在资源利用方面具有相似的竞争能力时, 往往会出现生态位重叠, 而非竞争排斥[134]。

(2) 关于CMX细菌中 NH_3 和 NO_2 氧化模式之间的切换仍然未知。环境因素是这种转换的关键驱动因素[135]。与 NO_2 作为唯一氮源的反应器相比, CMX细菌在添加尿素的反应器中硝化速率更高[102]。然而, 很难确定决定氮偏好的因素[10]。

(3) 广泛开展以确定边界条件为重点、以反应器为核心的研究, 有助于实现CMX细菌的大规模应用。在自然和工程系统中, 基于CMX细菌与其他细菌相互作用的研究仍然有限。因此, 未来对CMX细菌与其他细菌的相互作用进行探索, 将有助于评估CMX细菌反应器的适应性。

(4) 深入理解CMX细菌应激反应。CMX细菌中与应激相关的遗传元素有助于理解细菌在非宿主环境中的耐受性机制[136], 值得进一步研究。此外, 水或废水具有独特的微生物和化学组成, 也会对CMX细菌造成胁迫。

(5) CMX细菌在微污染物转化中的作用尚不明晰。解释此转化作用需要深入分析许多问题, 如工程生态系统中CMX细菌的丰度、CMX细菌降解微污染物的潜力以及影响CMX细菌去除微污染物的因素。解决这些问题有助于未来设计CMX细菌工艺以高效去除微污染物。

(6) CMX *Nitrospira* 相比于常规硝化细菌具有更高的溶解氧亲和力, 并能够在低 DO 条件下快速生长。然而, 关于 CMX *Nitrospira* 是否是一种有效的脱氮节能细菌目前尚存疑问, 且仍需关注 CMX *Nitrospira* 如何调控酶活性以降低其能量需求。

7. 结论

CMX 细菌广泛分布于水处理厂和污水处理厂中。相较于共存的典型硝化细菌, CMX 细菌具有多种竞争优势, 例如, 在低溶解氧水平下生长、带有水平基因转移的快速生态位分化、高亲和力的尿素利用以及低溶解氧和高 SRT 条件下的高效脱氮。此外, CMX 细菌可以耐受由多种化学物质引起的长期胁迫, 并且能够在氨氧化过程中共代谢某些污染物 (如 PPCP)。尽管 CMX 细菌与各种典型硝化细菌共存, CMX 细菌各个分支均具有不同的共存群落。因此, 利用 CMX 细菌去除水处理厂或污水处理厂中的氮和微污染物是切实可行的。然而, 基于 CMX 细菌反应器的设计和运行仍需深入研究。

致谢

本工作得到了国家自然科学基金 (52000185 和 51878675)、山东省重点研发计划 (2019JZZY020308) 和中国博士后科学基金 (2017M612807) 的支持。

Compliance with ethical guidelines

Naga Raju Maddela, Zhihao Gan, Yabing Meng, Fuqiang Fan, and Fangang Meng declare that they have no conflicts of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Zhang G, Zhang L, Han X, Zhang S, Peng Y. Start-up of PN-anammox system under low inoculation quantity and its restoration after low-loading rashesock. *Front Environ Sci Eng* 2021;15(2):32.
- [2] Fu J, Zhang Q, Huang B, Fan N, Jin R. A review on anammox process for the treatment of antibiotic-containing wastewater: linking effects with corresponding mechanisms. *Front Environ Sci Eng* 2021;15(1):17.
- [3] Sheng B, Wang D, Liu X, Yang G, Zeng W, Yang Y, et al. Taxonomic and functional variations in the microbial community during the upgrade process of a full-scale landfill leachate treatment plant—from conventional to partial nitrification-denitrification. *Front Environ Sci Eng* 2020;14(6):93.
- [4] Zhang S, Xia X, Li S, Zhang L, Wang G, Li M, et al. Ammonia oxidizers in high-elevation rivers of the Qinghai-Tibet plateau display distinctive distribution patterns. *Appl Environ Microbiol* 2019;85(22):e01701–e1719.
- [5] Yu C, Hou L, Zheng Y, Liu M, Yin G, Gao J, et al. Evidence for complete nitrification in enrichment culture of tidal sediments and diversity analysis of clade a comammox *Nitrospira* in natural environments. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018;102(21):9363–77.
- [6] Kits KD, Jung MY, Vierheilig J, Pjevac P, Sedlacek CJ, Liu S, et al. Low yield and abiotic origin of N₂O formed by the complete nitrifier *Nitrospira inopinata*. *Nat Commun* 2019;10(1):1836.
- [7] Daims H, Lebedeva EV, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, et al. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 2015;528(7583):504–9.
- [8] Lawson CE, Lüscher S. Complete ammonia oxidation: an important control on nitrification in engineered ecosystems? *Curr Opin Biotechnol* 2018;50:158–65.
- [9] Fowler SJ, Palomo A, Dechesne A, Mines PD, Smets BF. Comammox *Nitrospira* are abundant ammonia oxidizers in diverse groundwater-fed rapid sand filter communities. *Environ Microbiol* 2018;20(3):1002–15.
- [10] Spasov E, Tsuji JM, Hug LA, Doxey AC, Sauder LA, Parker WJ, et al. High functional diversity among *Nitrospira* populations that dominate rotating biological contactor microbial communities in a municipal wastewater treatment plant. *ISME J* 2020;14(7):1857–72.
- [11] Cotto I, Dai Z, Huo L, Anderson CL, Vilardi KJ, Ijaz U, et al. Long solids retention times and attached growth phase favor prevalence of comammox bacteria in nitrogen removal systems. *Water Res* 2020;169:115268.
- [12] Koch H, van Kessel MAHJ, Lüscher S. Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox *Nitrospira*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2019;103(1):177–89.
- [13] Gruber-Dorninger C, Pester M, Kitzinger K, Savio DF, Loy A, Rattei T, et al. Functionally relevant diversity of closely related *Nitrospira* in activated sludge. *ISME J* 2015;9(3):643–55.
- [14] Camejo PY, Santo Domingo J, McMahon KD, Noguera DR. Genome-enabled insights into the ecophysiology of the comammox bacterium “*Candidatus Nitrospira nitrosa*”. *mSystems* 2017;2(5):e00059–17.
- [15] Annavajhala MK, Kapoor V, Santo-Domingo J, Chandran K. Comammox functionality identified in diverse engineered biological wastewater treatment systems. *Environ Sci Technol Lett* 2018;5(2):110–6.
- [16] Li C, Hu HW, Chen QL, Chen D, He JZ. Comammox *Nitrospira* play an active role in nitrification of agricultural soils amended with nitrogen fertilizers. *Soil Biol Biochem* 2019;138:107609.
- [17] Yang Y, Daims H, Liu Y, Herbold CW, Pjevac P, Lin JG, et al. Activity and metabolic versatility of complete ammonia oxidizers in full-scale wastewater treatment systems. *MBio* 2020;11(2):e03175–219.
- [18] Sato Y, Tanaka E, Hori T, Futamata H, Murofushi K, Takagi H, et al. Efficient conversion of organic nitrogenous wastewater to nitrate solution driven by comammox *Nitrospira*. *Water Res* 2021;197:117088.
- [19] Wang Y, Zhao R, Liu L, Li B, Zhang T. Selective enrichment of comammox from activated sludge using antibiotics. *Water Res* 2021;197:117087.
- [20] Zhou LJ, Han P, Zhao M, Yu Y, Sun D, Hou L, et al. Biotransformation of lincomycin and fluoroquinolone antibiotics by the ammonia oxidizers AOA, AOB and comammox: a comparison of removal, pathways, and mechanisms. *Water Res* 2021;196:117003.
- [21] Zhou N, Zhao Z, Wang H, Chen X, Wang M, He S, et al. The effects of graphene oxide on nitrification and N₂O emission: dose and exposure time dependent. *Environ Pollut* 2019;252(Pt B):960–6.
- [22] Lin Y, Wang L, Xu K, Li K, Ren H. Revealing taxon-specific heavy metal-resistance mechanisms in denitrifying phosphorus removal sludge using genome-centric metaproteomics. *Microbiome* 2021;9(1):67.
- [23] Liu T, Liu S, He S, Tian Z, Zheng M. Minimization of N₂O emission through intermittent aeration in a sequencing batch reactor (SBR): main behavior and mechanism. *Water* 2021;13(2):210.
- [24] Zhou X, Li B, Wei J, Ye Y, Xu J, Chen L, et al. Temperature influenced the comammox community composition in drinking water and wastewater treatment plants. *Microb Ecol*. In press.
- [25] Li J, Hua ZS, Liu T, Wang C, Li J, Bai G, et al. Selective enrichment and metagenomic analysis of three novel comammox *Nitrospira* in a urine-fed membrane bioreactor. *ISME Commun* 2021;1(1):7.
- [26] Costa E, Pérez J, Kreft JU. Why is metabolic labour divided in nitrification? *Trends Microbiol* 2006;14(5):213–9.
- [27] Van Kessel MAHJ, Speth DR, Albertsen M, Nielsen PH, Op den Camp HJ, Kartal B, et al. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 2015; 528 (7583):555–9.
- [28] Alfreider A, Grimus V, Luger M, Ekblad A, Salcher MM, Summerer M. Autotrophic carbon fixation strategies used by nitrifying prokaryotes in freshwater lakes. *FEMS Microbiol Ecol* 2018;94(10):fy1163.
- [29] Palomo A, Pedersen AG, Fowler SJ, Dechesne A, Sicheritz-Pontén T, Smets BF. Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the

- evolutionary history of comammox *Nitrospira*. *ISME J* 2018;12(7): 1779–93.
- [30] Shi X, Hu HW, Wang J, He JZ, Zheng C, Wan X, et al. Niche separation of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers in an acidic subtropical forest soil under long-term nitrogen deposition. *Soil Biol Biochem* 2018;126:114–22.
- [31] Bartelme RP, McLellan SL, Newton RJ. Freshwater recirculating aquaculture system operations drive biofilter bacterial community shifts around a stable nitrifying consortium of ammonia-oxidizing archaea and comammox *Nitrospira*. *Front Microbiol* 2017;8:101.
- [32] Black EM, Just CL. The genomic potentials of NOB and comammox *Nitrospira* in river sediment are impacted by native freshwater mussels. *Front Microbiol* 2018;9:2061.
- [33] In't Zandt MH, de Jong AE, Slomp CP, Jetten MS. The hunt for the most-wanted chemolithoautotrophic spookmicrobes. *FEMS Microbiol Ecol* 2018; 94(6):fy064.
- [34] Wu L, Shen M, Li J, Huang S, Li Z, Yan Z, et al. Cooperation between partial-nitrification, complete ammonia oxidation (comammox), and anaerobic ammonia oxidation (anammox) in sludge digestion liquid for nitrogen removal. *Environ Pollut* 2019;254(Pt A):112965.
- [35] Daims H, Wagner M. *Nitrospira*. *Trends Microbiol* 2018;26(5):462–3.
- [36] Han P, Yu Y, Zhou L, Tian Z, Li Z, Hou L, et al. Specific micropollutant biotransformation pattern by the comammox bacterium *Nitrospira inopinata*. *Environ Sci Technol* 2019;53(15):8695–705.
- [37] Holmes DE, Dang Y, Smith JA. Nitrogen cycling during wastewater treatment. *Adv Appl Microbiol* 2019;106:113–92.
- [38] Lancaster KM, Caranto JD, Majer SH, Smith MA. Alternative bioenergy: updates to and challenges in nitrification metalloenzymology. *Joule* 2018;2(3): 421–41.
- [39] Zhou LJ, Han P, Yu Y, Wang B, Men Y, Wagner M, et al. Cometabolic biotransformation and microbial-mediated abiotic transformation of sulfonamides by three ammonia oxidizers. *Water Res* 2019;159:444–53.
- [40] Hu HW, He JZ. Comammox—a newly discovered nitrification process in the terrestrial nitrogen cycle. *J Soils Sediments* 2017;17(12):2709–17.
- [41] Kits KD, Sedlacek CJ, Lebedeva EV, Han P, Bulaev A, Pjevac P, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature* 2017; 549(7671):269–72.
- [42] Beach NK, Noguera DR. Design and assessment of species-level qPCR primers targeting comammox. *Front Microbiol* 2019;10:36.
- [43] Lu S, Sun Y, Lu B, Zheng D, Xu S. Change of abundance and correlation of *Nitrospira inopinata*-like comammox and populations in nitrogen cycle during different seasons. *Chemosphere* 2020;241:125098.
- [44] Metch JW, Wang H, Ma Y, Miller JH, Vikesland PJ, Bott C, et al. Insights gained into activated sludge nitrification through structural and functional profiling of microbial community response to starvation stress. *Environ Sci Water Res Technol* 2019;5(5):884–96.
- [45] Wagner FB, Diwan V, Dechesne A, Fowler SJ, Smets BF, Albrechtsen HJ. Copper-induced stimulation of nitrification in biological rapid sand filters for drinking water production by proliferation of *Nitrosomonas* spp. *Environ Sci Technol* 2019;53(21):12433–41.
- [46] Wang J, Wang J, Rhodes G, He JZ, Ge Y. Adaptive responses of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers to long-term fertilizations: implications for the relative contributions of different ammonia oxidizers to soil nitrogen cycling. *Sci Total Environ* 2019;668:224–33.
- [47] Zhang H, Song S, Jia Y, Wu D, Lu H. Stress-responses of activated sludge and anaerobic sulfate-reducing bacteria sludge under long-term ciprofloxacin exposure. *Water Res* 2019;164:114964.
- [48] Xia F, Wang JG, Zhu T, Zou B, Rhee SK, Quan ZX. Ubiquity and diversity of complete ammonia oxidizers (comammox). *Appl Environ Microbiol* 2018; 84(24):e01390–e1418.
- [49] Wang Z, Cao Y, Zhu-Barker X, Nicol GW, Wright AL, Jia Z, et al. Comammox *Nitrospira* clade B contributes to nitrification in soil. *Soil Biol Biochem* 2019; 135:392–5.
- [50] Bartelme RP, Smith MC, Sepulveda-Villet OJ, Newton RJ. Component microenvironments and system biogeography structure microorganism distributions in recirculating aquaculture and aquaponic systems. *MSphere* 2019;4(4):e00143–219.
- [51] Jiang Q, Xia F, Zhu T, Wang D, Quan Z. Distribution of comammox and canonical ammonia-oxidizing bacteria in tidal flat sediments of the Yangtze River estuary at different depths over four seasons. *J Appl Microbiol* 2019; 127(2):533–43.
- [52] Yang Y. Microbial nitrogen transformation and metabolic versatilities of ammonia oxidizers in full-scale wastewater treatment systems [dissertation]. Hong Kong: The University of Hong Kong; 2019.
- [53] Cimbritz M, Edefell E, Thörnqvist E, El-Taliawy H, Ekenberg M, Burzio C, et al. PAC dosing to an MBBR—effects on adsorption of micropollutants, nitrification and microbial community. *Sci Total Environ* 2019;677:571–9.
- [54] Ooi GTH, Tang K, Chhetri RK, Kaarsholm KMS, Sundmark K, Kragelund C, et al. Biological removal of pharmaceuticals from hospital wastewater in a pilot-scale staged moving bed biofilm reactor (MBBR) utilising nitrifying and denitrifying processes. *Bioresour Technol* 2018;267:677–87.
- [55] Xu Y, Yuan Z, Ni BJ. Biotransformation of pharmaceuticals by ammonia oxidizing bacteria in wastewater treatment processes. *Sci Total Environ* 2016; 566–567:796–805.
- [56] Tran NH, Nguyen VT, Urase T, Ngo HH. Role of nitrification in the biodegradation of selected artificial sweetening agents in biological wastewater treatment process. *Bioresour Technol* 2014;161:40–6.
- [57] Kassotaki E, Pijuan M, Joss A, Borrego CM, Rodriguez-Roda I, Buttiglieri G. Unraveling the potential of a combined nitrification–anammox biomass towards the biodegradation of pharmaceutically active compounds. *Sci Total Environ* 2018;624:722–31.
- [58] Martínez-Jardines M, Martínez-Hernández S, Texier AC, Cuervo-López F. 2-Chlorophenol consumption by cometabolism in nitrifying SBR reactors. *Chemosphere* 2018;212:41–9.
- [59] Spasov E, et al. Comammox bacteria are dominant ammonia oxidizers in tertiary rotating biological contactors of a municipal wastewater treatment plant. 2019. bioRxiv:529826.
- [60] Wang M, Huang G, Zhao Z, Dang C, Liu W, Zheng M. Newly designed primer pair revealed dominant and diverse comammox *amoA* gene in full-scale wastewater treatment plants. *Bioresour Technol* 2018;270:580–7.
- [61] Zheng M, Wang M, Zhao Z, Zhou N, He S, Liu S, et al. Transcriptional activity and diversity of comammox bacteria as a previously overlooked ammonia oxidizing prokaryote in full-scale wastewater treatment plants. *Sci Total Environ* 2019;656:717–22.
- [62] Tsuchiya Y, Nakagawa T, Takahashi R. Quantification and phylogenetic analysis of ammonia oxidizers on biofilm carriers in a full-scale wastewater treatment plant. *Microbes Environ* 2020;35(2):ME19140.
- [63] Ren Y, Hao Ngo H, Guo W, Wang D, Peng L, Ni BJ, et al. New perspectives on microbial communities and biological nitrogen removal processes in wastewater treatment systems. *Bioresour Technol* 2020;297:122491.
- [64] Sabba F, Terada A, Wells G, Smets BF, Nerenberg R. Nitrous oxide emissions from biofilm processes for wastewater treatment. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018;102(22):9815–29.
- [65] Stein LY. Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms. *Curr Opin Chem Biol* 2019;49:9–15.
- [66] Wang Y, Ma L, Mao Y, Jiang X, Xia Y, Yu K, et al. Comammox in drinking water systems. *Water Res* 2017;116:332–41.
- [67] Pinto AJ, Marcus DN, Ijaz UZ, Bautista-de Lose Santos QM, Dick GJ, Raskin L. Metagenomic evidence for the presence of comammox *Nitrospira*-like bacteria in a drinking water system. *mSphere* 2015;1(1):e00054–e115.
- [68] Palomo A, Dechesne A, Smets BF. Genomic profiling of *Nitrospira* species reveals ecological success of comammox *Nitrospira*. bioRxiv 2019:612226.
- [69] Pjevac P, Schauburger C, Poghosyan L, Herbold CW, van Kessel MAHJ, Daebeler A, et al. AmoA-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment. *Front Microbiol* 2017;8:1508.
- [70] Nair RR, Boobal R, Vrinda S, Bright Singh IS, Valsamma J. Ammonia-oxidizing bacterial and archaeal communities in tropical bioaugmented zero water exchange shrimp production systems. *J Soils Sediments* 2019; 19(4): 2126–42.
- [71] Orellana LH, Chee-Sanford JC, Sanford RA, Löffler FE, Konstantinidis KT. Year-round shotgun metagenomes reveal stable microbial communities in agricultural soils and novel ammonia oxidizers responding to fertilization. *Appl Environ Microbiol* 2018;84(2):e01646–717.
- [72] Aggarwal S, Gomez-Smith CK, Jeon Y, LaPara TM, Waak MB, Hozalski RM. Effects of chloramine and coupon material on biofilm abundance and community composition in bench-scale simulated water distribution systems and comparison with full-scale water mains. *Environ Sci Technol* 2018;52(22): 13077–88.
- [73] Roots P, Wang Y, Rosenthal AF, Griffin JS, Sabba F, Petrovich M, et al. Comammox *Nitrospira* are the dominant ammonia oxidizers in a mainstream low dissolved oxygen nitrification reactor. *Water Res* 2019;157:396–405.
- [74] Yang Y, Pan J, Zhou Z, Wu J, Liu Y, Lin JG, et al. Complex microbial nitrogen-cycling networks in three distinct anammox-inoculated wastewater treatment systems. *Water Res* 2020;168:115142.

- [75] Wagner FB, Nielsen PB, Boe-Hansen R, Albrechtsen HJ. Copper deficiency can limit nitrification in biological rapid sand filters for drinking water production. *Water Res* 2016;95:280–8.
- [76] Poghosyan L, Koch H, Lavy A, Frank J, van Kessel MAHJ, Jetten MSM, et al. Metagenomic recovery of two distinct comammox *Nitrospira* from the terrestrial subsurface. *Environ Microbiol* 2019;21(10):3627–37.
- [77] Hunik JH, Meijer HJG, Tramper J. Kinetics of *Nitrosomonas europaea* at extreme substrate, product and salt concentrations. *Appl Microbiol Biotechnol* 1992;37(6):802–7.
- [78] Ofit Beru ID, Lunn M, Curtis TP, Wells GF, Criddle CS, Francis CA, et al. Combined niche and neutral effects in a microbial wastewater treatment community. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(35):15345–50.
- [79] Wang Z, Zhang L, Zhang F, Jiang H, Ren S, Wang W, et al. Nitrite accumulation in comammox-dominated nitrification-denitrification reactors: effects of DO concentration and hydroxylamine addition. *J Hazard Mater* 2020; 384:121375.
- [80] Sun Y, Guan Y, Wang D, Liang K, Wu G. Potential roles of acyl homoserine lactone based quorum sensing in sequencing batch nitrifying biofilm reactors with or without the addition of organic carbon. *Bioresour Technol* 2018;259:136–45.
- [81] Gülay A, Fowler SJ, Tatar K, Thamdrup B, Albrechtsen HJ, Al-Soud WA, et al. DNA- and RNA-SIP reveal *Nitrospira* spp. as key drivers of Nnitrification in groundwater-fed biofilters. *MBio* 2019;10(6):e01870–919.
- [82] Yu C, Huang X, Chen H, Godfray HCJ, Wright JS, Hall JW, et al. Managing nitrogen to restore water quality in China. *Nature* 2019;567(7749):516–20.
- [83] Koch H, Galushko A, Albertsen M, Schintlmeister A, Gruber-Dorninger C, Lückner S, et al. Growth of nitrite-oxidizing bacteria by aerobic hydrogen oxidation. *Science* 2014;345(6200):1052–4.
- [84] Luo S, Guo W, Nealson KH, Feng X, He Z. 13C pathway analysis for the role of formate in electricity generation by *Shewanella Oneidensis* MR-1 using lactate in microbial fuel cells. *Sci Rep* 2016;6:20941.
- [85] Hua M, He H, Fu G, Han F. 17 β -estradiol removal by electrochemical technology in the presence of electrochemically active bacteria in aerobic aquatic environments. *Environ Eng Sci* 2019;36(3):316–25.
- [86] Bains A, Perez-Garcia O, Lear G, Greenwood D, Swift S, Middleditch M, et al. Induction of microbial oxidative stress as a new strategy to enhance the enzymatic degradation of organic micropollutants in synthetic wastewater. *Environ Sci Technol* 2019;53(16):9553–63.
- [87] Wang L, Xie B, Gao N, Min B, Liu H. Urea removal coupled with enhanced electricity generation in single-chambered microbial fuel cells. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017;24(25):20401–8.
- [88] Wang H, Han J, Zhang W. Effects of NH $_4^+$ -N and NO $_2^-$ -N on carbon fixation in an anaerobic ammonium oxidation reactor. *J Environ Manage* 2019;241:450–7.
- [89] Könneke M, Schubert DM, Brown PC, Hügl M, Standfest S, Schwander T, et al. Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO $_2$ fixation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(22):8239–44.
- [90] An H, Li X, Yang Q, Wang D, Xie T, Zhao J, et al. The behavior of melamine in biological wastewater treatment system. *J Hazard Mater* 2017; 322(Pt B): 445–53.
- [91] Wang Z, Pane VE, Criddle CS. Metabolic model of nitrite reduction to nitrous oxide coupled to alternating consumption and storage of glycogen and polyhydroxyalkanoate. *Bioresour Technol Rep* 2020;9:100370.
- [92] Ward LM, Johnston DT, Shih PM. Phanerozoic radiation of ammonia oxidizing bacteria. *Sci Rep* 2021;11(1):2070.
- [93] Han P, Wu D, Sun D, Zhao M, Wang M, Wen T, et al. N $_2$ O and NO $_y$ production by the comammox bacterium *Nitrospira inopinata* in comparison with canonical ammonia oxidizers. *Water Res* 2021;190:116728.
- [94] Mellbye BL, Giguere AT, Bottomley PJ, Sayavedra-Soto LA. Quorum quenching of *Nitrobacter winogradskyi* suggests that quorum sensing regulates fluxes of nitrogen oxide(s) during nitrification. *MBio* 2016;7(5):e01753–1816.
- [95] Mellbye BL, Spieck E, Bottomley PJ, Sayavedra-Soto LA. Acyl-homoserine lactone production in nitrifying bacteria of the genera *Nitrosospira*, *Nitrobacter*, and *Nitrospira* identified via a survey of putative quorum-sensing genes. *Appl Environ Microbiol* 2017;83(22):e01540–617.
- [96] Sun Y, He K, Yin Q, Echigo S, Wu G, Guan Y. Determination of quorum-sensing signal substances in water and solid phases of activated sludge systems using liquid chromatography-mass spectrometry. *J Environ Sci* 2018;69:85–94.
- [97] Barr JJ, Dutilh BE, Skennerton CT, Fukushima T, Hastie ML, Gorman JJ, et al. Metagenomic and metaproteomic analyses of *Accumulibacter* phosphatidyl-enriched floccular and granular biofilm. *Environ Microbiol* 2016;18 (1):273–87.
- [98] Boltz JP, Smets BF, Rittmann BE, van Loosdrecht MCM, Morgenroth E, Daigger GT. From biofilm ecology to reactors: a focused review. *Water Sci Technol* 2017;75(8):1753–60.
- [99] Wang C, Liu S, Xu X, Zhao C, Yang F, Wang D. Potential coupling effects of ammonia-oxidizing and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria on completely autotrophic nitrogen removal over nitrite biofilm formation induced by the second messenger cyclic diguanylate. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017;101(9): 3821–8.
- [100] Sauder LA, Albertsen M, Engel K, Schwarz J, Nielsen PH, Wagner M, et al. Cultivation and characterization of *Candidatus Nitrosocosmicus exaquare*, an ammonia-oxidizing archaeon from a municipal wastewater treatment system. *ISME J* 2017;11(5):1142–57.
- [101] Pan KL, Gao JF, Fan XY, Li DC, Dai HH. The more important role of archaea than bacteria in nitrification of wastewater treatment plants in cold season despite their numerical relationships. *Water Res* 2018;145:552–61.
- [102] Zhao Y, Hu J, Yang W, Wang J, Jia Z, Zheng P, et al. Multidimensional reveal of nitrogen regulation on comammox. *Research Square* 2020;2(21888).
- [103] Liu T, Wang Z, Wang S, Zhao Y, Wright AL, Jiang X. Responses of ammonia-oxidizers and comammox to different long-term fertilization regimes in a subtropical paddy soil. *Eur J Soil Biol* 2019;93:103087.
- [104] Shao YH, Wu JH. Comammox *Nitrospira* species dominate in an efficient partial nitrification-anammox bioreactor for treating ammonium at low loadings. *Environ Sci Technol* 2021;55(3):2087–98.
- [105] Fowler SJ, Torresi E, Smets BF, Plósz BG. SRT increases with biofilm thickness in MBBR systems. *Proceedings of International Water Association Microbial Ecology and Water Engineering Specialists Group Conference*. 2019 Nov 17–20; Hiroshima, Japan. Lyngby: DTU Orbit, 2019.
- [106] Sun C, Zhang B, Chen Z, Qin W, Wen X. Sludge retention time affects the microbial community structure: a large-scale sampling of aeration tanks throughout China. *Environ Pollut* 2020;261:114140.
- [107] Yurtsever A, Calimlioglu B, Sahinkaya E. Impact of SRT on the efficiency and microbial community of sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactors for the treatment of textile industry wastewater. *Chem Eng J* 2017; 314:378–87.
- [108] Vanwonderghem I, Jensen PD, Rabaey K, Tyson GW. Temperature and solids retention time control microbial population dynamics and volatile fatty acid production in replicated anaerobic digesters. *Sci Rep* 2015;5(1):8496.
- [109] Zhou N, Dang C, Zhao Z, He S, Zheng M, Liu W, et al. Role of sludge retention time in mitigation of nitrous oxide emission from a pilot-scale oxidation ditch. *Bioresour Technol* 2019;292:121961.
- [110] Fujitani H, Nomachi M, Takahashi Y, Hasebe Y, Eguchi M, Tsuneda S. Successful enrichment of low-abundant comammox *Nitrospira* from nitrifying granules under ammonia-limited conditions. *FEMS Microbiol Lett* 2020;367(1): fnaa025.
- [111] Dale H, Taylor JD, Solan M, Lam P, Cunliffe M. Polychaete mucopolysaccharide alters sediment microbial diversity and stimulates ammonia-oxidising functional groups. *FEMS Microbiol Ecol* 2019; 95(2): fty234.
- [112] Suurmäki S, Pulkkinen JT, Lindholm-Lehto PC, Tiirola M, Aalto SL. The effect of peracetic acid on microbial community, water quality, nitrification and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture* 2020;516:734534.
- [113] Deng Z, Wang Z, Zhang P, Xia P, Ma K, Zhang D, et al. Effects of divalent copper on microbial community, enzymatic activity and functional genes associated with nitrification and denitrification at tetracycline stress. *Enzyme Microb Technol* 2019;126:62–8.
- [114] Qin W, Amin SA, Lundeen RA, Heal KR, Martens-Habbena W, Turkarslan S, et al. Stress response of a marine ammonia-oxidizing archaeon informs physiological status of environmental populations. *ISME J* 2018;12 (2):508–19.
- [115] Zhao Y, Liu D, Huang W, Yang Y, Ji M, Nghiem LD, et al. Insights into biofilm carriers for biological wastewater treatment processes: current state-of-the-art, challenges, and opportunities. *Bioresour Technol* 2019;288:121619.
- [116] Arriaga S, de Jonge N, Nielsen ML, Andersen HR, Borregaard V, Jewel K, et al. Evaluation of a membrane bioreactor system as post-treatment in waste water treatment for better removal of micropollutants. *Water Res* 2016; 107: 37–46.
- [117] Men Y. Roles of nitrifiers in the removal of micropollutants during wastewater treatment processes. *Sustainable seminar series*. Urbana-Champaign: Illinois Sustainable Technology Center; 2017.
- [118] Fernandez-Fontaina E, Gomes IB, Aga DS, Omil F, Lema JM, Carballa M. Biotransformation of pharmaceuticals under nitrification, nitratation and heterotrophic conditions. *Sci Total Environ* 2016;541:1439–47.
- [119] Berrelleza-Valdez F, Parades-Aguilar J, Peña-Limón CE, Certucha-Barragán MT, Gámez-Meza N, Serrano-Palacios D, et al. A novel process of the isolation of nitrifying bacteria and their development in two different natural lab-scale

- packed-bed bioreactors for trichloroethylene bioremediation. *J Environ Manage* 2019;241:211–8.
- [120] Roh H, Subramanya N, Zhao F, Yu CP, Sandt J, Chu KH. Biodegradation potential of wastewater micropollutants by ammonia-oxidizing bacteria. *Chemosphere* 2009;77(8):1084–9.
- [121] Helbling DE, Johnson DR, Honti M, Fenner K. Micropollutant biotransformation kinetics associate with WWTP process parameters and microbial community characteristics. *Environ Sci Technol* 2012;46 (19):10579–88.
- [122] Nyoyoko VF, Anyanwu CU. Isolation and screening of heavy metal resistant ammonia oxidizing bacteria from soil and waste dump: a potential candidates for bioremediation of heavy metals. 2019. bioRxiv:836890.
- [123] Margot J, Lochmatter S, Barry DA, Holliger C. Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. *Water Sci Technol* 2016;73(3):564–75.
- [124] Maeng SK, Choi BG, Lee KT, Song KG. Influences of solid retention time, nitrification and microbial activity on the attenuation of pharmaceuticals and estrogens in membrane bioreactors. *Water Res* 2013;47(9):3151–62.
- [125] Khunjar WO, Mackintosh SA, Skotnicka-Pitak J, Baik S, Aga DS, Love NG. Elucidating the relative roles of ammonia oxidizing and heterotrophic bacteria during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol and trimethoprim. *Environ Sci Technol* 2011;45(8):3605–12.
- [126] Li G, Field JA, Zeng C, Madeira CL, Nguyen CH, Jog KV, et al. Diazole and triazole inhibition of nitrification process in return activated sludge. *Chemosphere* 2020;241:124993.
- [127] Grandclément C, Seyssiecq I, Piram A, Wong-Wah-Chung P, Vanot G, Tiliacos N, et al. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: a review. *Water Res* 2017;111:297–317.
- [128] Fenyvesi É, Barkács K, Gruiz K, Varga E, Kenyeres I, Zárny G, et al. Removal of hazardous micropollutants from treated wastewater using cyclodextrin bead polymer—a pilot demonstration case. *J Hazard Mater* 2020;383: 121181.
- [129] Rogowska J, Cieszyńska-Semenowicz M, Ratajczyk W, Wolska L. Micropollutants in treated wastewater. *Ambio* 2020;49(2):487–503.
- [130] Hagemann N, Schmidt HP, Kägi R, Böhler M, Sigmund G, Maccagnan A, et al. Wood-based activated biochar to eliminate organic micropollutants from biologically treated wastewater. *Sci Total Environ* 2020;730: 138417.
- [131] Kennes-Veiga DM, Gonzalez-Gil L, Carballa M, Lema JM. The organic loading rate affects organic micropollutants' cometabolic biotransformation kinetics under heterotrophic conditions in activated sludge. *Water Res* 2021; 189:116587.
- [132] Peng L, Kassotaki E, Liu Y, Sun J, Dai X, Pijuan M, et al. Modelling cometabolic biotransformation of sulfamethoxazole by an enriched ammonia oxidizing bacteria culture. *Chem Eng Sci* 2017;173:465–73.
- [133] Yu Y, Han P, Zhou LJ, Li Z, Wagner M, Men Y. Ammonia monooxygenase-mediated cometabolic biotransformation and hydroxylamine-mediated abiotic transformation of micropollutants in an AOB/NOB coculture. *Environ Sci Technol* 2018;52(16):9196–205.
- [134] Bulleri F, Bruno JF, Silliman BR, Stachowicz JJ. Facilitation and the niche: implications for coexistence, range shifts and ecosystem functioning. *Funct Ecol* 2016;30(1):70–8.
- [135] Peng X, Fuchsman CA, Jayakumar A, Oleynik S, Martens-Habbena W, Devol AH, et al. Ammonia and nitrite oxidation in the Eastern Tropical North Pacific. *Global Biogeochem Cy* 2015;29(12):2034–49.
- [136] Zhi S, Banting G, Li Q, Edge TA, Topp E, Sokurenko M, et al. Evidence of naturalized stress-tolerant strains of *Escherichia coli* in municipal wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol* 2016;82(18):5505–18.