

DOI: 10.12034/j.issn.1009-606X.217354

Microbial characterization of micro polluted source water containing microcystin pretreatment with biological aerated filter

Wenyi ZHANG^{1*}, Yichao WANG¹, Qingqing CAI^{1,2}

1. School of Environmental & Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou, Jiangsu 213164, China

2. Jiangsu Longhuan Environmental Science Co., Ltd., Changzhou, Jiangsu 213127, China

Abstract: The microbial characteristics of biodegradation of organic compounds containing nitrogen and microcystin LR (MC-LR) was researched with the biofilm of biological aerated filter (BAF) reactor surface as the research object, by the means of microscopic examination, phospholipid fatty acid (PLFA), high-throughput sequencing and others. The results showed that the microbial community on the biofilm of BAF was extremely rich in the micro-polluted source water of low carbon source, formed the microbial community consists of aerobic bacteria, sulfate reducing bacteria and other bacteria. In the first 2 weeks, the microflora on the biofilm had 17 major genera and 6 species. In the 3 to 4 weeks, the microflora will increase to 43 major genera and 14 species. There also were protists such as nematodes, paramecium and daphnia. The dominant species were *Sphaerotilus* (2.41%~24.58%), *Aeromonas* (4.16%~12.59%), *Cloacibacterium* (1.85%~12.39%), *Aquabacterium* (1.53%~6.76%), *Hydrogenophaga* (1.12%~5.9%), *Methyloversatilis* (0.53%~1.52%), *Rhodobacter* (0.09%~1.39%), etc. In addition, the content of bacillus increased from the initial 0.16% to 1.97% after the addition of T1 degrading bacteria, which showed that bacillus grew rapidly and became dominant population after adding T1 degrading bacteria, thus enhancing the degradation of MC-LR.

Key words: drinking water sources; biological aerated filter; microorganism

BAF工艺预处理含微囊藻毒素微污染水源的微生物特征

张文艺^{1*}, 王逸超¹, 蔡庆庆^{1,2}

1. 常州大学环境与安全工程学院, 江苏 常州 213164;

2. 江苏龙环环境科技有限公司, 江苏 常州 213127

摘要: 以曝气生物滤池载体表面的生物膜为研究对象, 通过镜检、磷脂脂肪酸(PLFA)测定、高通量 454 测序等手段研究了生物膜降解含氮有机物和微囊藻毒素-亮氨酸(MC-LR)的微生物特征。结果表明, 低碳源的微污染水源中水生物膜的微生物群落极为丰富, 形成了由好氧细菌组成的微生物群落, 运行前 2 周有 6 大门类 17 大种属, 3~4 周增加到 14 大门类 43 大种属, 还有线虫、草履虫、水蚤等原生动物; 优势菌属有球衣菌属 *Sphaerotilus* (2.41%~24.58%)、气单胞属 *Aeromonas* (4.16%~12.59%)、黄杆菌属 *Cloacibacterium* (1.85%~12.39%)、水杆菌属 *Aquabacterium* (1.53%~6.76%)、噬氢菌属 *Hydrogenophaga* (1.12%~5.9%)、嗜甲基菌属 *Methyloversatilis* (0.53%~1.52%)、红杆菌属 *Rhodobacter* (0.09%~1.39%) 等。此外, 投加 0.16% T1 菌剂芽孢杆菌后其含量增至 1.97%, 表明投加 T1 降解菌后芽孢杆菌迅速生长并成为优势种群, 可强化降解 MC-LR。

关键词: 水源水; 曝气生物滤池; 微生物

中图分类号: X524; X703 文献标识码: A 文章编号: 1009-606X(2018)04-0866-06

收稿: 2017-10-23, 修回: 2017-12-19, 网络发表: 2018-03-28, Received: 2017-10-23, Revised: 2017-12-19, Published online: 2018-03-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 41571471); 国家“十三五”科技重大专项基金资助项目(编号: 2017ZX07202002)

作者简介: 张文艺(1968-), 男, 安徽省安庆市人, 博士, 教授, 研究方向: 水污染控制与生态修复, E-mail: zwy@cczu.edu.cn.

引用格式: 张文艺, 王逸超, 蔡庆庆. BAF 工艺预处理含微囊藻毒素微污染水源的微生物特征. 过程工程学报, 2018, 18(4): 866-871.
Zheng W Y, Wang Y C, Cai Q Q. Microbial characterization of micro polluted source water containing microcystin pretreatment with biological aerated filter (in Chinese). Chin. J. Process Eng., 2018, 18(4): 866-871, DOI: 10.12034/j.issn.1009-606X.217354.

1 前言

微污染水源水存在氮污染严重、溶解性有机物含量过高、细菌及藻类大量繁殖等问题，采用生物预处理技术不仅可有效改善其混凝沉淀性能、减少混凝剂用量，还能去除常规处理工艺不能去除的污染物，近年来在处理微污染水源水领域备受关注^[1]。微污染水源水的生物预处理技术一般指生物膜法和生态法，生物膜法包括生物接触氧化法、生物滤池、生物转盘等，而生态法多采用潜流式人工湿地或表面流人工湿地。

微囊藻毒素(Microcystin, MC)主要由富营养化水体中的微囊藻产生，在微囊藻细胞内合成，细胞破裂后便释放出来，其多种异构体中MC-LR(亮氨酸)分布最广，危害最大。MC-LR分子因具有环状结构及间隔双键而在水环境中化学性质较稳定，常在生物体内富集和存留，具有很强的肝毒性和促癌作用，我国《生活饮用水水质卫生规范》(GB5749-2006)将饮用水源中MC-LR浓度限定为1.0 μg/L，并作为饮用水质必检指标。

曝气生物滤池(Biological Aerated Filter, BAF)工艺集生物降解和物理截留于一体，近年来被国内一些水厂用于微污染水源水预处理。BAF工艺主要利用生物膜中微生物的强氧化分解及生长代谢作用去除微污染水源水中的各种污染物，其表面微生物种群结构的分析国内外虽已有相关报道^[2-4]，但多数是采用传统的生物技术手段，对低碳源条件下BAF生物膜中微生物的特性报道较少。本研究采用近年来兴起的磷脂脂肪酸(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)分析和微生物高通量454测序手段，考察生物膜中的微生物群落特征，揭示低碳源BAF中的微生物分布、功能和种群多样性特征。

2 实验

2.1 BAF实验装置与处理方法

实验装置如图1所示，为上向流单级曝气生物滤池，主要由反应主体、进水箱、空气泵、水泵、计量设备等构成，总体积2.43 L，有效高度1.2 m。反应主体承托层高10 cm，由粒径12 cm的砾石组成，填料层高80 cm，分别为粒径2~4和4~8 mm的两段各高40 cm的沸石填料层，孔隙率为52%。曝气装置采用空气泵充气，由烧结砂芯曝气头布气。进水由恒流水泵抽入BAF反应器下端，出水由上端经导管排出，反冲洗管也由下端进水进气，上端出水。

BAF运行初期，于挂膜阶段将1% T1菌(芽孢杆菌)菌液500 mL与生活污水混合，在水力负荷0.07 m³/(m²·h)、气水体积比2:1的条件下持续曝气进水1周。

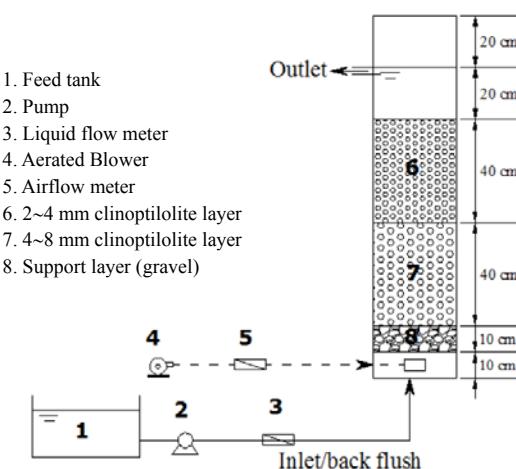


图1 上向流 BAF 实验装置示意图
Fig.1 Schematic diagram of up-flow BAF reactor

2.2 检测方法

2.2.1 微囊藻毒素测定方法

微囊藻毒素测定采用高效液相色谱法，具体步骤参照《水中微囊藻毒素的测定》(GB/T 20466-2006)。

2.2.2 微生物镜检方法

微生物镜检用XSP-8C数码倒置生物显微镜(上海光学仪器厂)观测，微生物识别参考《淡水微型生物图谱》^[5]。

2.2.3 磷脂脂肪酸的测定方法

磷脂脂肪酸(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)测定方法参照文献^[6]。

2.2.4 总DNA提取

用强力生物薄膜DNA提取试剂盒(深圳安必胜科技有限公司)进行总DNA的提取。

2.2.5 高通量454测序

BAF生物膜用高通量454焦磷酸测序，委托上海天昊生物科技有限公司测定。

3 结果与讨论

3.1 污染物去除情况

挂膜成功后持续运行30 d，BAF对各污染物的去除情况如表1所示。

表1 BAF对各污染物的去除情况
Table 1 Removal status of various pollutants by BAF

Pollutant	Concentration/(mg/L)		Average removal rate/%
	Influent	Effluent	
Permanganate	9.48	5.18	52.16
Nitrate nitrogen	1.69	0.50	70.29
Ammonia nitrogen	5.02	1.30	74.71
Total nitrogen	8.99	4.85	46.55
Total phosphorus	0.57	0.12	78.24
MC-LR	0.00385	0.0008	79.2

3.2 微生物镜检分析

采用生物倒置显微镜观察生物膜。由图2可知,生物膜上有原生生物线虫、草履虫、水蚤等,微生物较丰富,利于水中有机物污染的降解。线虫属寄生类,在污水中独立生活,可同化微生物不易降解的固体有机物;草履

虫属纤毛类,喜食细菌及有机颗粒,在污水处理中竞争力较强;水蚤为微型甲壳类动物,以细菌和藻类为食料,可降解污水中的微囊藻。镜检还发现生物膜上出现了团藻,其可利用光合作用通过生物代谢实现污水脱氮除磷。

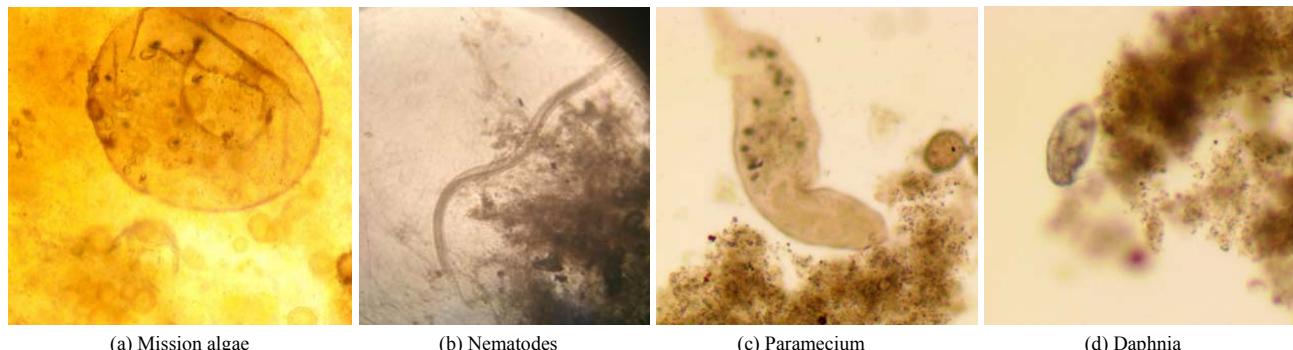


Fig.2 The examination of biological membrane microbial microscopic

表2 BAF 底泥中提取的磷脂脂肪酸

Table 2 Phospholipid fatty acids extracted from sediment of BAF

Fatty acid species	PLFA biomarker	Concentration/(nmol/g)	Microbiological indicator type	PLFA biomarker /($\times 10^6$ cell/g)	Content /%
Saturated fatty acid	16:00	0.258	Bacteria (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) ^[13]	10.32	42.48
	18:00	0.184	Bacteria (eosinophilic <i>Hydrogen bacilli</i>) ^[13]	7.35	30.26
Unsaturated fatty acid	a19:00	0.138	Bacteria (<i>Actinomycetes</i>) ^[8,13]	5.52	22.73

表3 生物膜法与生态法微生物特征的对比

Table 3 Microbial characteristics comparison of biofilm process and ecological law

Research object	Microbiological indicator type	Phosphatidic fatty acid biomarker	Ref.
Subsurface Flow Wetland in city sewage treatment plant tail water	Aerobic bacteria and actinomycetes	17:00, 18:00, 9Me19:00	[6]
In situ purification of village sewage project by ecological method	Aerobic bacteria, anaerobic bacteria, bacteria, fungi, thermophilic thermolytic bacteria, etc	a16:1ω9c, i16:1ω7c, 17:00, 18:1ω9t, 14:00, 16:00, 18:3ω6c, 18:1ω9c, 18:00, 12Me14:00, 21:00, 22:00, 23:00, 28:00, etc.	[14]
BAF technology	<i>Pseudomonas</i> , <i>hydrobacteri</i> , <i>actinomycetes</i>	16:00, 18:00, a19:00	This work

3.3 磷脂脂肪酸分析

对曝气生物滤池中的生物膜进行PLFA测定,结果见表2。由表可知,共检测到3种磷脂脂肪酸,且BAF中微生物均为细菌,其中a19:00为不饱和脂肪酸,其在BAF中的含量为0.138 nmol/g;其次是饱和脂肪酸16:00和18:00,其在BAF中的含量分别为0.258和0.184 nmol/g;含量最多的是饱和脂肪酸16:00。文献^[7-13]研究得出PLFA量和生物量之间存在 $(2\sim 5.9)\times 10^4$ cell/pmol的转换系数,按 4×10^4 cell/pmol推算,16:00, 18:00和a19:00的指示生物量分别为 10.32×10^6 , 7.35×10^6 和 5.52×10^6 cell/g,指示微生物均为好氧细菌。

PLFA分析的原理是基于磷脂几乎是所有生物细胞膜的重要组成部分,细胞中磷脂含量在自然条件下(正常的生理条件下)恒定,其长链脂肪酸的形式—磷脂脂肪酸PLFAs可作为微生物群落的标记物。表3为生物膜

法与生态法微生物特征的对比。尹勇等^[14]通过PLFA检测研究苏南地区生态强化法原位净化村镇污水工程中底泥的微生物多样性,发现底泥的生态群落以假单胞杆菌、好氧细菌为主导;胡林潮等^[6]采用PLFA检测揭示潜流式人工湿地消纳城市污水厂尾水的微生物特性及机制,其底泥中形成了以好氧细菌和硫酸盐还原菌为主的微生物结构;而本研究通过PLFA检测研究BAF反应器生物膜上微生物的结构在国内鲜有报道,结果显示在BAF中形成了由好氧细菌组成的微生物群落,与湿地中的微生物结构较相似,也符合曝气生物滤池持续进氧引起好氧微生物大量繁殖的规律。

3.4 高通量测序分析

3.4.1 PCR扩增及高通量测序

从BAF填料上刮取生物膜,采用PowerBiofilm试剂盒提取总DNA,将其进行PCR扩增及高通量测序,结果

如图3所示。由图可知，样本基因组条带清晰，无降解，且在目的区域扩增条带良好，满足后续实验要求。

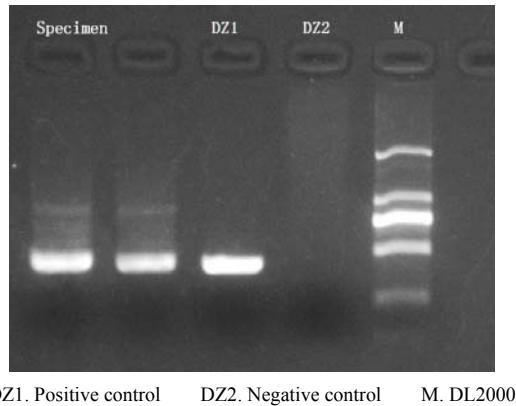


图3 PCR扩增检测结果
Fig.3 Result in the PCR amplify

3.4.2 不同时段微生物种群多样性变化分析

BAF反应器运行初期与后期微生物群落在门分类水平上的分布见图4。由图可知，运行初期与后期BAF中微生物均主要隶属于6个门，其中变形菌门 *Betaproteobacteria* 占主要优势，均超过50%，其它优势菌门分别为拟杆菌门 *Bacteroidetes* (24.37%~24.9%)、放线菌门 *Actinobacteria* (0.08%~2.48%)、绿弯菌门 *Cytophagia* (0.15%~1.86%)、厚壁菌门 *Flavobacteriia* (1.4%~20.38%)、浮霉菌门 *Planctomycetia* (0.18%~3.86%)，运行后期新增螺旋体门、酸杆菌门、疣微菌门、广古菌门、装甲菌门、绿菌门等^[15]。

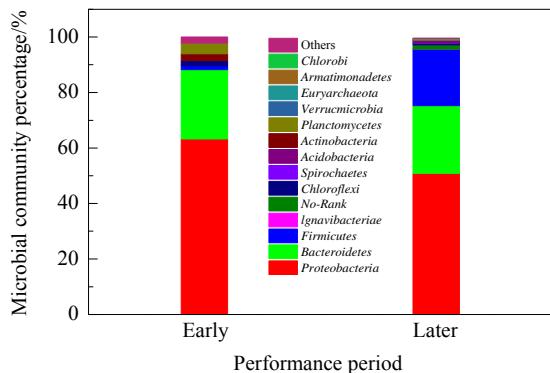


图4 微生物群落组成分布(门水平)
Fig.4 Distribution of microbial community at phylum level

图5为BAF反应器运行不同时期微生物群落在属分类水平上的分布情况，由图可知，优势菌属分别为球衣菌属 *Sphaerotilus* (2.41%~24.58%)、气单胞属 *Aeromonas* (4.16%~12.59%)、黄杆菌属 *Cloacibacterium* (1.85%~12.39%)、水杆菌属 *Aquabacterium* (1.53%~

6.76%)、嗜甲基菌属 *Methyloversatilis* (0.53%~1.52%)、红杆菌属 *Rhodobacter* (0.09%~1.39%)、噬氢菌属 *Hydrogenophaga* (1.12%~5.9%)等。BAF运行后期出现了芽孢杆菌属、产黄菌属、不动细菌属、嗜酸菌属、丛毛单胞菌属、屠场杆状菌属、假黄单胞菌属、密螺旋体属、玫瑰单胞菌属、假单胞菌属等优势菌属，微生物多样性较初期更高。此外，投加T1菌剂芽孢杆菌后其含量由最初的0.16%增加到1.97%，BAF对MC-LR的降解率由58.82%增加到79.45%，表明投加T1降解菌后芽孢杆菌迅速生长并成为优势种群，可强化降解MC-LR。

黄杆菌 *Cloacibacterium* 属拟杆菌门，为兼性厌氧细菌，在缺氧条件下通过反硝化作用将硝酸盐氮转化为氮气。假单胞菌属于 γ -变形菌纲的假单胞菌科，芽孢杆菌属于厚壁菌门的芽孢杆菌科，均具有较强的好氧反硝化能力。*Rhodobacter* 属于 α -变形亚门的红杆菌科，可利用微污染水体中的有机物进行异养代谢反应，从而降低水中高锰酸盐指数(COD_{Mn})^[16]。*Methylotenera* 属于 β -变形菌纲的嗜甲基菌属科，为好氧细菌，通过呼吸代谢，以铵盐和硝酸盐为氮源。

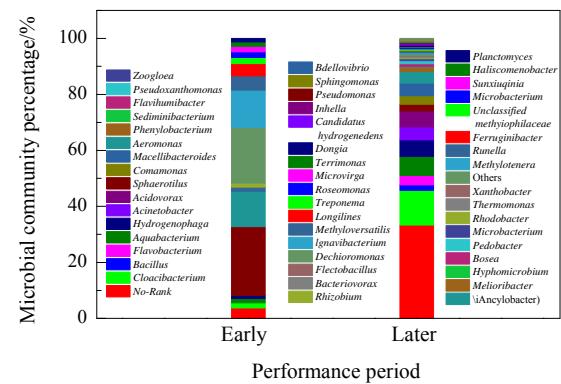


图5 微生物群落组成分布(属水平)
Fig.5 Distribution of microbial community at genus level

3.5 磷脂脂肪酸与高通量对比分析

PLFA检测技术作为一种生物标记技术，在人工湿地底泥微生物研究领域应用较多，但多为定性分析。高通量测序技术一次可对几十万到几百万条DNA分子进行序列测定，可完整显示所有微生物种属及其含量，具有里程碑的意义。本研究同时采用PLFA检测和高通量测序两种技术研究BAF生物膜上的微生物多样性，PLFA分析结果显示生物膜上形成了放线菌、假单胞菌等好氧细菌，而高通量测序结果显示生物膜上形成了以放线菌、芽孢杆菌、拟杆菌、假单胞菌等为主的好氧菌或兼氧菌，两者具有较好的一致性，同时也符合曝气生物滤池持续进氧引起好氧微生物大量繁殖的规律。

3.6 MC-LR微生物降解机制分析

多种研究^[17,18]表明, MC-LR的生物降解途径多遵循由多肽到二肽再到氨基酸和氨的转化过程。因此, 推测环状MCs转化为线型MCs是MC-LR生物降解至关重要的一步。

文献^[19-22]通过大量研究, 从酶学和基因分子层面揭示了MC-LR的微生物降解途径: 生物酶通过不断破坏MC-LR分子中的肽键, 将MC-LR由稳定的环状结构断开形成七肽直链, 并进一步生成更小的多肽, 最终转化为氨基酸和氨。此过程中至少有mlrA, mlrB和mlrC三种生物酶参与了反应, 首先, mlrA通过打开Adda基团侧链与精氨酸间的共轭双键, 将环状MC-LR变成七肽直链; 然后, mlrB负责破坏连接丙氨酸与亮氨酸的肽键从而生成四肽化合物; 最终, mlrC通过进一步降解将四肽化合物转化为氨基酸。

4 结论

以曝气生物滤池(BAF)反应器载体表面的生物膜为研究对象, 通过镜检、磷脂脂肪酸(PLFA)测定、高通量454测序等手段, 揭示了生物膜降解含氮有机物和微囊藻毒素-亮氨酸(MC-LR)的微生物特征, 得到如下结论:

(1) BAF载体表面的生物膜中微生物种类丰富, 有原生生物(线虫、草履虫、水蚤)和藻类(团藻)等, 形成了由好氧细菌组成的微生物群落。

(2) BAF运行的前2周生物膜上微生物有6大门类17大种属, 3~4周后增加到14大门类43大种属, 其中变形菌门、拟杆菌门、放线菌门等占主要优势, 黄杆菌科*Cloacibacterium*、红杆菌科*Rhodobacter*、嗜甲基菌属*Methylotenera*、芽孢杆菌和假单胞菌等在微污染水源水净化中起主要作用。

(3) 投加0.16% T1菌剂芽孢杆菌后, 其含量增至1.97%, MC-LR的降解率由58.82%增至79.45%, 表明T1菌剂具有强化降解MC-LR的作用。

参考文献

- [1] 叶少帆, 王志伟, 吴志超. 微污染水源水处理技术研究进展和对策分析 [J]. 水处理技术, 2010, 36(6): 22-28.
- [2] 窦娜莎. 曝气生物滤池处理城市污水的效能与微生物特性研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 17-27.
- [3] 严子春, 何强, 龙腾锐, 等. 折流曝气生物滤池的微生物特性研究 [J]. 中国给水排水, 2011, 27(13): 73-76.
- [4] Zhang W Y, Xia S F, Dong Q Y, et al. Regularity of organic nitrogen transformation and biological characteristics along up-flow biological aerated filter reactor [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008, 24(6): 234-238.
- [5] 周凤霞, 陈剑虹. 淡水微型生物图谱 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 17-27.
- [6] 胡林潮, 周新程, 邓文, 等. 潜流式人工湿地消纳城市污水厂尾水微生物特性及机制 [J]. 土木建筑与环境工程, 2016, 38(6): 134-140.
- [7] Hu L C, Zhou X C, Deng W, et al. Characteristics and mechanism of micro-organisms with subsurface flow wetland consumptive municipal sewage treatment effluents [J]. Journal of Civil, Architectural and Environmental Engineering, 2016, 38(6): 134-140.
- [8] White D C, Flemming C A, Leung K T, et al. *In situ* microbial ecology for quantitative appraisal, monitoring, and risk assessment of pollution remediation in soils, the subsurface, the rhizosphere and in biofilms [J]. J. Microbiol. Methods, 1998, 32(2): 93-105.
- [9] 张燕, 周巧红, 张丽萍, 等. 冬季湿地植物根际微生物群落结构多样性分析 [J]. 环境科学与技术, 2013, 36(11): 108-111.
- [10] Zhang Y, Zhou Q H, Zhang L P, et al. Analysis on rhizo-sphere microbial diversity of wetland plants in winter [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 36(11): 108-111.
- [11] Whittaker P, Day J B, Curtis S K, et al. Evaluating the use of fatty acid profiles to identify francisella tularensis [J]. J. AOAC Int., 2007, 90(2): 465-469.
- [12] 陶敏, 贺锋, 徐洪, 等. 氧调控下人工湿地微生物群落结构变化研究 [J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6): 1195-1202.
- [13] Tao M, He F, Xu H, et al. Changes in microbial community structure in constructed wetland under aeration condition [J]. Journal of Agro-environment Science, 2012, 31(6): 1195-1202.
- [14] Sakamoto K, Iijima T, Higuchi R. Use of specific phospholipid fatty acids for identifying and quantifying the external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *gigaspora rosea* [J]. Soil Biol. Biochem., 2004, 36(11): 1827-1834.
- [15] Kimura M, Asakawa S. Comparison of community structures of microbiota at main habitats in rice field ecosystems based on phospholipid fatty acid analysis [J]. Biol. Fertil. Soils, 2006, 43(1): 20-29.
- [16] 温强, 王晓燕. 北京城市湖泊沉积物中微生物磷脂的分布特征 [J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2012, 33(3): 80-85.
- [17] Wen Q, Wang X Y. The vertical distribution of sedimentary microbial biomass on urban lake in Beijing [J]. Journal of Capital Normal University (Natural Science Edition), 2012, 33(3): 80-85.
- [18] 尹勇, 冯国勇, 周静, 等. 生态强化法原位净化村镇污水微生物特性 [J]. 环境化学, 2015, 34(4): 792-797.
- [19] Yin Y, Feng G Y, Zhou J, et al. Microbial characteristics of *in-situ* strengthening bioremediation of rural domestic sewage [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(4): 792-797.
- [20] Michaud L, Giudice A L, Troussellier M, et al. Phylogenetic

- characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system [J]. *J. Appl. Microbiol.*, 2009, 107(6): 1935–1942.
- [16] 黄志涛, 宋协法, 李勋, 等. 基于高通量测序的石斑鱼循环水养殖生物滤池微生物群落分析 [J]. *农业工程学报*, 2016, 32(1): 242–246.
Huang Z T, Song X F, Li X, et al. Analysis of microbial diversity of submerged biofilters in recirculating aquaculture system (RAS) for grouper (*Epinephelus moara*) based on high-throughput DNA sequencing [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016, 32(1): 242–246.
- [17] 闫海. 微囊藻毒素的产生与生物降解 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2002: 52–68.
Yan H. Advances in the biodegradation of microcystins [D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2002: 52–68.
- [18] 徐亚同. 污染控制微生物工程 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 6–26.
Xu Y T. *Pollution control microbiological engineering* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001: 6–26.
- [19] Cousins I T, Bealing D J, James H A, et al. Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations [J]. *Water Res.*, 1996, 30(2): 481–485.
- [20] Bourne D G, Riddles P, Jones G J, et al. Characterization of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR [J]. *Environ. Toxicol.*, 2001, 16(6): 523–534.
- [21] Bourne D G, Jones G J, Blakeley R L, et al. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62(11): 4086–4094.
- [22] Yan H, Wang H, Wang J, et al. Cloning and expression of the first gene for biodegrading microcystin LR by *Sphingopyxis* sp. Ustb-05 [J]. *J. Environ. Sci.*, 2012, 24(10): 1816–1822.