

处理畜禽废水的序批式生物膜反应器中的细菌多样性

肖 鸿 樊明灏 彭 宏 李远伟

(四川农业大学资源环境学院, 成都 611130)

摘 要 采用序批式生物膜反应器(SBBR)处理畜禽废水,在室温($9 \sim 18^{\circ}\text{C}$)下,采用8 h/周期、交替曝气的模式运行,控制曝气阶段DO浓度在2 mg/L,可实现明显的亚硝酸盐积累,氨氮及总氮的去除率分别可达 $(95.1 \pm 0.8)\%$ 和 $(87.2 \pm 0.6)\%$ 。为揭示SBBR中细菌种群构成及其动态变化规律,采用PCR-DGGE技术进行了细菌多样性分析,并构建了系统发育树,结果表明:与接种污泥相比,驯化期生物膜中细菌种群丰富度未发生明显变化,运行期交替曝气、停曝模式有助于提高生物膜中细菌的多样性指数,但受运行模式及氨氮负荷变化影响,运行期氨氧化菌多样性指数略低于驯化期;生物膜内存在一些具有反硝化功能的变形菌和特殊的氨氧化细菌,在本实验条件下未发现厌氧氨氧化菌,说明主要脱氮机理为同时短程硝化反硝化。

关键词 SBBR 畜禽废水 细菌多样性 PCR-DGGE 系统发育树

中图分类号 X172 **文献标识码** A **文章编号** 1673-9108(2012)07-2333-06

Bacterial diversity in sequencing batch biofilm reactor for treating livestock and poultry breeding wastewaters

Xiao Hong Fan Minghao Peng Hong Li Yuanwei

(College of Resource and Environment, Sichuan Agriculture University, Chengdu 611130, China)

Abstract A sequencing batch biofilm reactor (SBBR) was used to treat livestock and poultry breeding wastewaters (LPBW). An operational mode of alternant aeration and non-aeration and 8 h every period was adopted with room temperatures ranging from 9 to 18°C and DO during aeration phase controlled around 2 mg/L. Nitrite accumulation occurred and the removal efficiencies were as high as $(95.1 \pm 0.8)\%$ and $(87.2 \pm 0.6)\%$ for $\text{NH}_3\text{-N}$ and TN, respectively. To reveal the bacterial community structure and its dynamic change trend in the SBBR, bacterial diversity was analyzed using PCR-DGGE technique and phylogenetic trees were constructed. The results indicated that no obvious change of bacterial community richness happened, taking the biofilm samples of the start-up phase and the seeding sludge into comparison. Alternation between aeration and non-aeration during the running phase helped to improve the diversity index of bacteria in the biofilm, however, suffered the change of operational modes and ammonia load rates, the diversity indexes of ammonia-oxidizing bacteria during the running phase were slightly lower than that during the start-up phase. Except for anaerobic ammonia oxidation bacteria, some kinds of *proteobacterium* with denitrification function and special ammonia-oxidizing bacteria were convinced to exist in the biofilm under the experimental conditions, demonstrating that simultaneous short-cut nitrification and denitrification were the main mechanisms for the nitrogen removal.

Key words SBBR; livestock wastewater; bacterial diversity; PCR-DGGE; phylogenetic tree

畜禽养殖废水具有“四高”,即有机物、氨氮、磷和悬浮物浓度高的特点,已成为我国农村地区的主要水体污染源之一。在畜禽废水处理中,脱氮是关键,然而现有废水脱氮工艺的经济技术性仍亟待提高。

序批式生物膜反应器(sequencing biofilm batch reactor, SBBR)兼具SBR和生物膜反应器的优点,抗

冲击负荷能力强,硝化菌持留性能好,细菌浓度高且多样性丰富,近年来已成为新型脱氮反应器研究的

基金项目:四川省教育厅科研项目(08ZA058)

收稿日期:2011-10-16; **修订日期**:2011-11-12

作者简介:肖鸿(1980~),男,博士研究生,讲师,主要从事废弃物处理与资源化研究工作。E-mail:scux_hong@163.com

热点^[14]。

本课题组前期利用自主设计的 SBBR 进行了处理畜禽养殖废水的实验并取得了很好的脱氮效果^[5]。然而,对于脱氮机理,前期研究仅从实验数据的角度进行了一些推测,未从微生物角度进行深入研究,对 SBBR 启动及运行过程中细菌组成、功能以及动态变化规律都不清楚,使得确定及进一步优化反应器运行条件缺乏相应的微生物基础。实际上,废水特性不同,反应器及运行条件不同,反应器中的微生物多样性及其动态变化规律各异,这方面的研究已成为国内外废水生物处理研究领域的热点^[6-9]。然而,目前还未见处理畜禽养殖废水的 SBBR 中细菌多样性的相关研究报导。

鉴于此,本研究在前期研究的基础上,利用 PCR-DGGE 技术对接种污泥、SBBR 启动期生物膜、运行周期内不同时刻生物膜中细菌组成进行研究,旨在揭示 SBBR 运行模式与细菌多样性及动态变化规律之间的联系,明确脱氮机理,并为进一步优化运行模式,提高脱氮效果提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验采用自主研发的序批式好氧三相内循环流化床反应器,该反应器的具体构造参见文献^[5]。

1.2 接种污泥及实验用水

接种污泥取自四川农业大学教学科研园区污水处理站循环式活性污泥法(CASS)池。该污水处理站主要处理园区内畜禽养殖废水,采用的处理工艺为格栅+地埋式调节池+气浮塔+厌氧折流板反应器(ABR)+CASS。实验用水取自该污水处理站气浮塔出水,主要水质指标:COD 1 000~2 500 mg/L, NH₃-N 85~123 mg/L, TN 125~175 mg/L, pH 6~8。

1.3 SBBR 运行模式及取样

反应器在进入运行期之前,已经过 2 个月的驯化,驯化期采用与四川农业大学教学科研园区污水处理站 CASS 池相同的运行模式,即每天曝气 16 h,停曝 8 h。从第 50 天起, NH₃-N 和 COD 的去除率分别能稳定保持在 90% 和 80% 以上。驯化后期进入运行期,共持续了 21 d,运行期每天运行 3 个周期(7:00—15:00、15:00—23:00、23:00—7:00),单个运行周期为 8 h,周期运行模式为“瞬时进水、曝气 2.5 h、停曝 1.5 h、再曝气 2.5 h、停曝 1.5 h、停曝末期排水”,每周水力停留时间为 8 h。整个实验期

间未控制温度(驯化期室温 9~15℃,运行期室温 12~18℃),溶解氧(DO)浓度参考 Andrade do Canto 等^[10]的研究控制在 2 mg/L 左右。

对接种污泥及驯化期第 50 天的生物膜各取样 0.3 g,编号依次为 N1、N2;在驯化过程中,基本淘汰了呈悬浮状态的微生物,仅剩生物膜颗粒,在运行期的第 16 天的 7:00—15:00 周期内的第 2.5、4.0、6.5、8 小时分别取生物膜样品各 0.3 g,编号依次为 N3、N4、N5 和 N6。所取样品均在 -20℃ 下冻存备用。

1.4 细菌总 DNA 提取与纯化

细菌总 DNA 采用化学法进行提取。在 2 mL 无菌离心管中,加入约 0.3 g 样品和 1.5 mL 磷酸抽提缓冲液(预热水浴 60℃),充分涡旋 5 min,于 -80℃ 冰箱中 20 min,65℃ 水浴融化,反复冻融 3 次,加入 10 μL 蛋白酶 K(10 mg/mL),其余步骤参见文献^[11]。取 3 μL 细菌总 DNA 以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 PCR 扩增

根据所要得到的目标序列采用不同的特异性引物以细菌总 DNA 为模板进行扩增,具体如表 1 所示。

表 1 扩增目标及引物
Table 1 Amplification targets and primers

扩增目标	引物	
	第 1 轮	第 2 轮
细菌	F8, R1541 ^[12]	gc-F338, R518 ^[12]
氨氧化菌	amoA1F、amoA2R ^[13]	gc-amoA1F、amoA2R ^[13]
厌氧氨氧化菌	Pla46f ^[14] 、	
	PRUN519r-GC ^[15]	

为了增强 PCR 扩增的敏感性和 DGGE 分析的针对性,采用了巢式 PCR(nested PCR)技术。

1.6 DGGE 分析

取 30 μL PCR 产物在 DCode System(bio-Rad, USA)上进行电泳,变性梯度范围为 30%~60%,聚丙烯酰胺凝胶浓度为 6%,电压为 140 V,电泳时间为 15 h,温度恒定为 55℃^[7]。电泳结束后,凝胶以 0.2% 的硝酸银溶液染色,洗涤数次后于 Gel-Doc2000 凝胶成像系统(bio-Rad, USA)上成像检测。

1.7 统计分析

为了解细菌种群在 SBBR 中的动态变化,对 DGGE 条带图谱进行了统计分析。其中,丰富度分析以图谱中所有的条带数为 1,不同时刻样品的细菌种群丰富度值为该时刻样品的条带数除以图谱中的总条带数:

$$Rs_i = L_i/L_T$$

Rs_i ——第 i 泳道的细菌种群丰富度值;
 L_i ——第 i 泳道上的条带数;
 L_T ——图谱中的总条带数(同一位置的条带只算 1 条)。

多样性反映了种群的丰富度和均匀度,多样性指数采用 Shannon-weiner index 计算公式^[16]进行计算:

$$H_i = - \sum_{j=1}^s P_{ij} \ln P_{ij}$$

式中:
 H_i ——第 i 泳道的细菌种群多样性指数;
 s ——第 i 泳道上的条带数;
 P_{ij} ——第 i 泳道上第 j 条带种群在全部条带种群的比例。

1.8 切胶测序和系统发育分析

在紫外灯下切下 DGGE 条带,洗净后浸泡于 60 μL 无菌 Milli-Q 水中 24 h 以上,取 20 μL 进行 PCR 扩增,扩增产物经 DGGE 确认为单一条带后,送交生物公司(Invitrogen, 上海)测序,测序结果提交 GenBank 并获得登录号。使用 GenBank 的 BLAST 对测序结果进行相似性分析,根据相似性分析结果使用 MEGA(4.0)分析软件建立系统发育树。

2 结果与分析

2.1 SBBR 的运行情况

SBBR 驯化结束后,进入运行期。连续监测了 21 d,每天监测出水 COD、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 TN,并计算去除率,结果如图 1 所示。在正常运行的第 16 天,在 7:00 至 15:00 这一单个周期内对 COD 每隔 1 h 取样,对氨氮、硝态氮和亚硝态氮每隔 0.5 h 取样,水质监测结果如图 2 所示。

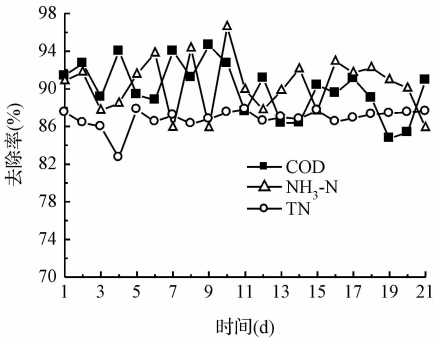


图 1 运行过程中 COD、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 及 TN 去除效果
Fig. 1 Removal rates of COD, $\text{NH}_3\text{-N}$ and TN during the running phase

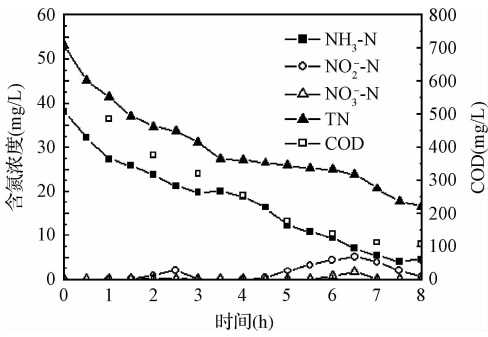


图 2 一个周期(8 h)内的水质变化
Fig. 2 Concentration profiles of $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, TN and COD in one period (8 h)

由图 1 可知,反应器在 21 d 的运行期间,COD、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和总氮的去除率分别可达 $(93.7 \pm 1.0)\%$ 、 $(95.1 \pm 0.8)\%$ 和 $(87.2 \pm 0.6)\%$ 。

由图 2 可知,反应器按既定的周期模式运行,周期内反应器中 COD、TN 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈持续下降趋势,而 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度随曝气交替呈规律性变化(曝气阶段升高、停曝阶段下降)。就整个周期而言, $\text{NO}_2\text{-N}$ 浓度高于 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度,出现亚硝态氮积累,这说明采用较低的溶解氧水平(曝气阶段约 2 mg/L)以及曝气、停曝交替运行模式有利于促成亚硝态氮积累,实现短程硝化,这也说明氨氧化菌对 DO 浓度波动的适应性比硝化菌更好。同时,整个周期内尽管 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度从开始的 38 mg/L 降至周期末的 4 mg/L ,但 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 始终维持在很低的浓度水平($\text{NO}_2\text{-N}$ 为 $2.56 \pm 2.55 \text{ mg/L}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 为 $0.856 \pm 0.85 \text{ mg/L}$),这说明在短程硝化发生的同时,发生了反硝化。在实际废水处理中,短程硝化具有可节约能耗、减少污泥产量、节约碱投加量等优点;同时发生的反硝化则可使处理出水中的亚硝态氮浓度维持在很低的水平,避免因亚硝态氮浓度偏高对水环境造成危害(如致癌、致水生动植物缺氧和引起水体富营养化等)。

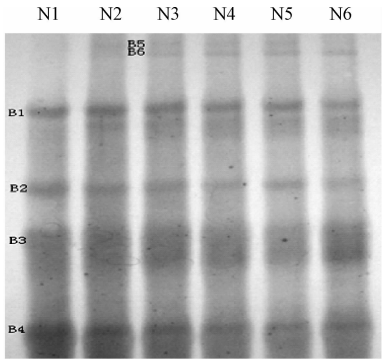
2.2 DNA 提取与纯化以及 PCR 扩增

初提 DNA 纯化后经 0.1% 的琼脂糖凝胶电泳检测,DNA 片段长度均大于 21 kb。PCR 反应液使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,PCR 扩增获得了高量和高特异性的 PCR 产物,细菌片段长度约为 160 bp,氨氧化菌片段长度 465 bp。本实验未能获得厌氧氨氧化菌扩增产物,这可能与实验温度较低有关(驯化期室温为 9 ~ 15 $^{\circ}\text{C}$,运行期室温为 12 ~ 18 $^{\circ}\text{C}$,

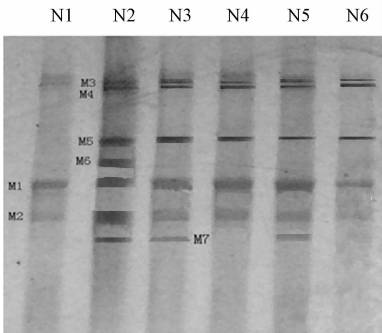
未采取控温措施), 相关研究已确证厌氧氨氧化菌适宜的生长温度为 30 ~ 40℃^[17-19], 此外, 这也与有机物浓度有关, 高有机物浓度有利于异养反硝化而不利厌氧氨氧化^[20]。

2.3 SBBR 不同时刻细菌及氨氧化菌多样性分析

DGGE 凝胶成像结果如图 3 所示。



(a) 细菌DGGE图谱



(b) 氨氧化菌DGGE图谱

图3 DGGE 图谱

Fig. 3 DGGE atlases

有关丰富度值和多样性指数分析结果如表 2 和表 3 所示。

表 2 SBBR 各阶段细菌及氨氧化菌群落丰富度值

Table 2 Richness values of bacterial community in SBBR during different phases

指标	N1	N2	N3	N4	N5	N6
细菌群落丰富度值 R_{s_a}	0.667	0.667	1.000	1.000	1.000	1.000
氨氧化菌群落丰富度值 R_{s_b}	0.571	1.000	0.857	0.857	0.857	0.714

表 3 SBBR 各阶段细菌群落多样性指数

Table 3 Diversity index of bacterial community in SBBR during different phases

指标	N1	N2	N3	N4	N5	N6
细菌多样性指数 H_a	2.392	2.549	2.696	2.698	2.700	2.984
氨氧化菌多样性指数 H_b	1.608	2.830	2.482	2.481	2.634	2.069

由图 3(a) 可知, 发现泳道 N1、N2 中的条带基本相同, 且在 N3 ~ N6 中都可以找到, 相对于 N1、N2, N3 ~ N6 多出两条条带 (B5、B6), 表现为表 2 中 N3 ~ N6 的 R_{s_a} 值及表 3 中 N3 ~ N6 的 H_a 值明显高于 N1、N2。分析原因, 驯化期采用的运行模式与四川农业大学教学科研园区污水处理站 CASS 池相同, 接种污泥亦来自 CASS 池, 处理的废水同为园区畜禽废水, 因此, 相对于接种污泥而言, 驯化 50 d 后的生物膜中细菌种群丰富度未发生明显变化。进入运行期, 运行模式发生了改变, 相应地, 运行期生物膜中生物群落也发生了变化, 说明运行模式对生物膜群落存在影响。此外, 周期运行模式下, R_{s_a} 和 H_a 值高于驯化期, 说明运行期交替曝气、停曝模式有助于提高生物膜中细菌的丰富度和均匀度。

由图 3(b) 可知, 发现泳道 N2 ~ N6 中的条带数比 N1 多, N2 中的条带除 M6 外都可以在 N3 ~ N6 中找到, 从表 2 和表 3 分析可知, N1 中的 R_{s_b} 和 H_b 低于 N2 ~ N6, 说明驯化成功后的生物膜与絮状接种污泥相比, 生物膜中的氨氧化菌种群更丰富。N2 中的 R_{s_b} 和 H_b 都是 6 个泳道中最高的, 说明氨氧化菌在驯化期时就全部产生了, N3 ~ N6 中的 R_{s_b} 和 H_b 有所降低, 这可能是由于驯化期采用了比较低的氨氮负荷, 而运行期的高氨氮负荷对氨氧化菌起到了一定的选择作用, 但影响不大。N3、N5 中有着与 N2 同样的 M7 条带, 而 N4 和 N6 则缺失该条带, 说明, 曝气对该条带代表的氨氧化菌有一定的影响。N6 中 H_b 值明显低于 N3 ~ N5, 这是因为随着硝化反硝化的进行, 氨氮浓度降低, 一些氨氧化菌被淘汰或者在生物膜中含量大大减小, 以至于未能检测出来, 这也说明了氨氧化菌的丰富度与氨氮负荷有着紧密的联系。

2.4 系统发育分析

将 6 条细菌条带及 7 条氨氧化菌条带经切胶回收、PCR 重扩增和 DGGE 鉴定后, 送交测序, 一共获得了 13 条序列, 将序列提交给 Genbank 获得登录号 (HM185392 ~ HM185404)。使用 MEGA (4.0) 近邻相连法建立系统发育树, 见图 4(a)、(b)。

根据图 4(a), 基本可以断定 B5、B3 分别属于未培养 β 变形菌 (uncultured *Beta proteobacteria*) 和未培养 γ 变形菌 (uncultured *gamma proteobacterium*); B4 属于未培养嗜皮菌 (uncultured *Dermatophilaceae*); B1、B2 为未培养细菌 (uncultured bacterium), 其中 B2 与未培养 α 变形菌 (uncultured *alpha*

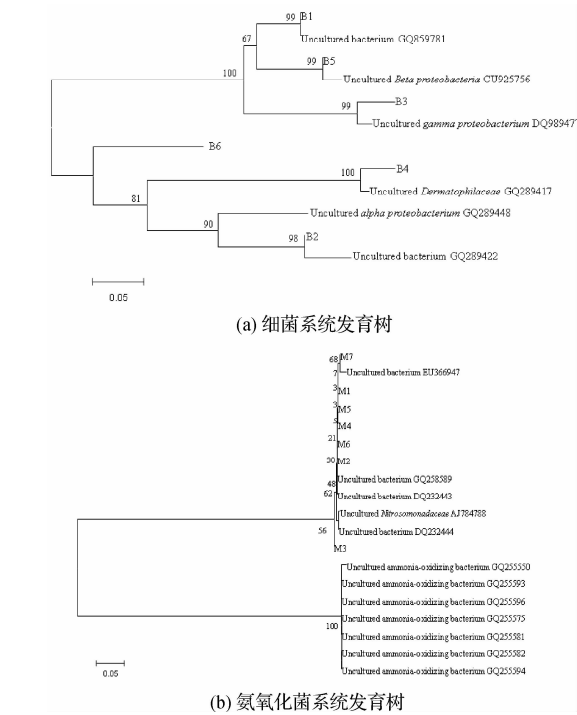


图 4 系统发育树分析
Fig. 4 Phylogenetic tree analysis

proteobacterium) 同源; B6 虽与未培养 α 变形菌 (uncultured *alpha proteobacterium*) 有较高的相似性, 但并不同源, 具体种属还有待于进一步鉴定。总体来看, 反应器中出现的变形菌较多, 说明这种菌群对污染物去除起到了主要作用, 这与高大文等^[21]的研究结果相似。最常见的反硝化菌都属于变形菌纲^[22], 生物膜中大量变形菌的存在为本研究中的反硝化效果提供了保障。

根据图 4(b), M1 ~ M7 虽均能在 Genbank 中找到与其相似性高达 99% 的种群, 但 M1 ~ M7 与其他未培养氨氧化菌 (uncultured ammonia-oxidizing bacterium) 并不同源。M1 ~ M7 的特殊性可能与畜禽废水特性、实验运行条件有关, 但可以肯定的是正是由于这些特殊的氨氧化细菌在反应器中占据了优势地位, 才导致了周期运行阶段的亚硝酸盐积累, 从而为短程硝化反硝化创造了条件。

3 结 论

(1) 采用 SBBR 处理畜禽废水, 在室温 (驯化期 9 ~ 15℃, 运行期 12 ~ 18℃) 下, 按“瞬时进水、曝气 2.5 h、停曝 1.5 h、再曝气 2.5 h、停曝 1.5 h、停曝末期排水”模式运行, 控制曝气阶段 DO 浓度在 2 mg/

L, 可实现明显的亚硝酸积累, 并取得良好的总氮去除效果。

(2) 相对于接种污泥而言, 驯化期生物膜中细菌种群丰富度未发生明显变化, 运行期交替曝气、停曝模式有助于提高生物膜中细菌的多样性指数 (丰富度和均匀度), 但受曝气/停曝运行模式及氨氮负荷变化影响, 运行期氨氧化菌多样性指数略低于驯化期。生物膜内存在的细菌种群包括具有反硝化功能的变形菌和一些较特殊的氨氧化细菌, 在本实验条件下未发现厌氧氨氧化菌。

(3) 本实验条件下, 主要的脱氮机理为短程硝化反硝化, 且短程硝化与反硝化是同时发生的。

参 考 文 献

[1] 万金保, 邓香平, 王敬彬, 等. SBBR 挂膜前活性污泥培养与驯化的研究. 环境工程学报, 2009, 3(2): 246-248
Wan Jinbao, Deng Xiangping, Wang Jingbin, et al. Research of cultivation and acclimation of activated sludge before biofilm colonization in sequencing batch biofilm reactor (SBBR). Chinese Journal of Environmental Engineering, 2009, 3(2): 246-248 (in Chinese)

[2] 李军, 彭永福, 顾国维, 等. SBBR 同步硝化反硝化处理生活污水的影响因素. 环境科学学报, 2006, 26(5): 728-733
Li Jun, Peng Yongzhen, Gu Guowei, et al. Factors affecting simultaneous nitrification and denitrification in a SBBR treating domestic wastewater. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26(5): 728-733 (in Chinese)

[3] Rodgers M., Zhan X., O'Reilly E. Small-scale domestic wastewater treatment using an alternating pumped sequencing batch biofilm reactor system. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2006, 28(5): 323-330

[4] 李军, 顾国维, 韦苏, 等. 序批式膜反应器同步硝化和反硝化的特性. 中国环境科学, 2005, 25(6): 646-649
Li Jun, Gu Guowei, Wei Su, et al. Character of simultaneous nitrification and denitrification in a sequencing batch biofilm reactor. China Environmental Science, 2005, 25(6): 646-649 (in Chinese)

[5] Xiao H., Yang P., Peng H., et al. Nitrogen removal from livestock and poultry breeding wastewaters using a novel sequencing batch biofilm reactor. Water Science and Technology, 2010, 62(11): 2599-2606

[6] 苏俊峰, 马放, 王弘宇, 等. 利用 PCR-DGGE 技术分析生物陶粒硝化反应器中微生物群落动态. 环境科学学报, 2007, 27(3): 386-390
Su Junfeng, Ma Fang, Wang Hongyu, et al. Application of

- PCR-DGGE to resolve microbial diversity in bio-ceramic reactor. *Acta Scientiae Circumstantiae*, **2007**, 27 (3): 386-390 (in Chinese)
- [7] Keyser M., Witthuhn R. C., Lamprecht C. PCR-based DGGE fingerprinting and identification of methanogens detected in three different types of UASB granules. *Systematic and Applied Microbiology*, **2006**, 29(1): 77-84
- [8] 肖勇, 杨朝晖, 曾光明, 等. PCR-DGGE 研究处理垃圾渗滤液序批式生物膜反应器 (SBBR) 中的细菌多样性. *环境科学*, **2007**, 28(5): 1095-1101
- Xiao Yong, Yang Zhaohui, Zeng Guangming, et al. Bacterial diversity in sequencing batch biofilm reactor (SBBR) for landfill leachate treatment using PCR-DGGE. *Environmental Science*, **2007**, 28(5): 1095-1101 (in Chinese)
- [9] 孙宝盛, 张斌, 吴卿, 等. 应用 PCR-DGGE 技术解析 MBR 中微生物群落多样性的研究. *天津大学学报*, **2008**, 41(3): 356-360
- Sun Baosheng, Zhang Bin, WU Qing, et al. Application of PCR-DGGE to analysis of microbial community diversity in MBRs. *Journal of Tianjin University*, **2008**, 41(3): 356-360 (in Chinese)
- [10] Andrade do Canto C. S., Rodrigues J. A. D., Ratusznei S. M., et al. Feasibility of nitrification/denitrification in a sequencing batch biofilm reactor with liquid circulation applied to post-treatment. *Bioresource Technology*, **2008**, 99(3): 644-654
- [11] Zhou J., Bruns M. A., Tiedje J. M. DNA recovery from soils of diverse composition. *Applied and Environmental Microbiology*, **1996**, 62(2): 316-322
- [12] Ovreas L., Forney L., Daae F. L., et al. Distribution of bacterioplankton in meromictic lake saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. *Applied Environmental Microbiology*, **1997**, 63(9): 3367-3373
- [13] Kowalchuk G. A., Bodelier P. L. E., Heilig G. H. J., et al. Community analysis of ammonium-oxidizing bacteria, in relation to oxygen availability in soils and root-oxygenated sediments, using PCR-DGGE and oligonucleotide probe hybridization. *FEMS Microbiology Ecology*, **1998**, 27(4): 339-350
- [14] Neef A., Amann R., Schlesner H., et al. Monitoring a widespread bacterial group: in situ detection of Planctomycetes with 16S rRNA-targeted probes. *Microbiology*, **1998**, 144(12): 3257-3266
- [15] Muyzer G., De Waal E. C., Uitterlinden A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S ribosomal RNA. *Applied Environmental Microbiology*, **1993**, 59(3): 695-700
- [16] 牛翠娟, 姜安如, 孙儒泳, 等. 基础生态学. 北京: 高等教育出版社, **2007**. 161-162
- [17] Egli K., Fanger U., Alvarez P. J. J., et al. Enrichment and characterization of an Anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Archives of Microbiology*, **2001**, 175(3): 198-207
- [18] Toh S. K., Webb R. I., Ashbolt N. J. Enrichment of autotrophic anaerobic ammonium-oxidizing consortia from various wastewaters. *Microbial Ecology*, **2002**, 43(1): 154-167
- [19] Isaka K., Sumino T., Tsuneda S. High nitrogen removal performance at moderately low temperature utilizing anaerobic ammonium oxidation reactions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **2007**, 103(5): 486-490
- [20] Molinuevo B., García M. C., Karakashev D., et al. Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: Effect of organic matter content on process performance. *Bioresource Technology*, **2009**, 100(7): 2171-2175
- [21] 高大文, 李昕苾, 安瑞, 等. 不同 DO 下 MBR 内微生物群落结构与运行效果关系. *中国环境科学*, **2010**, 30(2): 209-215
- Gao Dawen, Li Xinxin, An Rui, et al. Relationships between microbial community structure and the performance of MBR under different dissolved oxygen. *China Environmental Science*, **2010**, 30(2): 209-215 (in Chinese)
- [22] 芳芳, 王淑梅, 冯翠杰, 等. 好氧条件下复合生物膜-活性污泥反应器中的反硝化菌群结构. *生态学杂志*, **2011**, 30(3): 430-437
- Fang Fang, Wang Shumei, Feng Cuijie, et al. Community structure of denitrifying bacteria in a hybrid AS-biofilm process under aerobic condition. *Chinese Journal of Ecology*, **2011**, 30(3): 430-437 (in Chinese)