

厌氧氨氧化反应器微生态的研究

秦玉洁, 周少奇*, 朱明石

(华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510006)

摘要:运用显微技术、常规的分离纯化和分子生物技术的方法研究了厌氧氨氧化系统中微生物群落结构和多样性. 在实验室条件下, 上流式厌氧污泥床(UASB)反应器和 UASB 生物膜反应器在无机和黑暗的条件下成功富集了厌氧氨氧化菌, 在适宜的温度 30~34℃ 和 pH 7~8 条件下, 氨氮和亚硝酸盐氮在 UASB 反应器的去除率分别为 99.99% 和 99.9%, 在 UASB 生物膜反应器的去除率分别为 99.3% 和 97.4%. 通过传统的鉴定方法分析了该系统中的细菌、真菌和放线菌, 表明 2 套反应器中微生物类群基本一致, 都以厌氧或缺氧的细菌为主, 大部分微生物在污泥中浓度很低. 电镜观察发现优势菌是大小为 $(0.6 \sim 0.8) \mu\text{m} \times (0.9 \sim 1.2) \mu\text{m}$ 的椭圆形菌, 占菌群的 90% 以上. 变性梯度凝胶电泳技术(DGGE)和 16S rDNA 片段的酶切表明该系统只有 1 种优势的微生物, 微生物多样性不高.

关键词:厌氧氨氧化; UASB 生物反应器; 微生态

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)06-1638-06

Microecology of the Anaerobic Ammonium Oxidation Reactor

QIN Yu-jie, ZHOU Shao-qi, ZHU Ming-shi

(College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The microbial community structure and biodiversity in the ANAMMOX system were studied by applying the methods of microtechnic, separation and purification technology of microorganisms, and molecular biotechnology. The ANAMMOX microbial population in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) bioreactor and a UASB-biofilm bioreactor was successfully enriched in the laboratory with inorganic and dark condition. The removal efficiencies of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{NO}_2^- - \text{N}$ in UASB reactor were 99.99% and 99.9% respectively. For the UASB-biofilm, they were 99.3% and 97.4% respectively in an optimal condition in which the temperature was 30-34℃ and the pH was 7-8. In traditional methods of identifying microorganism, the population of bacteria, actinomycete and fungi were researched and the species in the two reactors were basically identical. Most of the microorganisms were anaerobic and anoxic bacteria. The size of the preponderant bacteria was $(0.6-0.8) \mu\text{m} \times (0.9-1.2) \mu\text{m}$ from the scanning electron micrographs of sludge cultivated in the two reactors, and the shape was oval. The rate of this preponderant bacteria was above 90%. The result of the denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) and 16S rDNA digested reveals that there was one predominant species and the biodiversity was not high.

Key words: anaerobic ammonium oxidation; UASB bioreactor; microecology

厌氧氨氧化(ANAMMOX)是在厌氧氨氧化菌作用下的生物学过程, 是在厌氧条件下以亚硝酸为电子受体产生氮气的过程, 在厌氧氨氧化菌产生的亚硝化还原酶、胍的水解酶和胍的氧化酶的作用下发生的反应^[1,2]. 该技术在废水处理中是一项很有前途的新型生物脱氮技术. 厌氧氨氧化菌在自然生态系统中广泛存在, 属于分枝很深的浮霉状菌, 已发现的厌氧氨氧化菌有 *Candidatus "Brocadia anammoxidans"*、*Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"*、*Candidatus "Scalindua brodae"*等^[3].

许多高效的厌氧反应器被用来处理含氮废水, 其中用在厌氧氨氧化技术的反应器有上流式厌氧污泥床(UASB)^[4-7]、序批式间歇反应器(SBR)^[8,9]、SNAP^[10]、改进型的序批间歇反应器MSBR^[11]、流化床反应器^[12]、生物转盘^[13]、气提反应器^[14]等. 大部分研究限在实验室阶段, 其中以上流式厌氧污泥床

(UASB)运用最为广泛^[15], 因为 UASB 具有高浓度的生物数量和微生物的多样性^[16]. 前人的研究主要是厌氧氨氧化菌在反应器的富集以及对该菌的分子生物学鉴定, 很少系统地运用各种方法对厌氧氨氧化的微生物群落进行研究, 对于厌氧氨氧化微生态报道也较少^[17]. 本研究是在实验室条件下, 对人工含氮废水在 UASB 反应器和 UASB 膜反应器的稳定运行来分析生态系统的微生物和环境, 以期厌氧氨氧化技术在废水处理中运用提供理论基础.

收稿日期: 2007-08-24; 修订日期: 2007-09-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(20377013); 教育部新世纪优秀人才计划项目; 广东省科技攻关项目(2006B36703002); 华南理工大学自然科学基金项目(5050760); 华南理工大学教

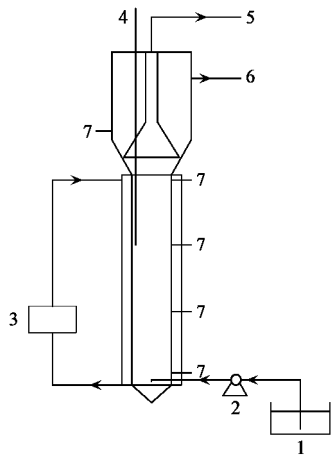
研项目
作者简介: 秦玉洁(1974~), 女, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: qinyujie@scut.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: fesqzhou@scut.edu.cn

1 材料与方法

1.1 反应装置

实验条件下的 2 套反应器: UASB 反应器和 UASB-生物膜反应器, 其反应装置见图 1, 2 套反应器的结构一样, 区别在于 UASB-生物膜反应器内挂了膜. 反应器的有效容积为 3.2 L. 在反应器中接种活性污泥, 进水来自于人工配水, 通过 NaHCO_3 调节 pH, 循环水浴调节温度.



1. 配水桶 2. 进水隔膜泵 3. 循环水浴 4. 温度计
5. 排气 6. 出水 7. 取样口

图 1 UASB 反应器的结构
Fig.1 Structure of UASB reactor

1.2 微生物的培养和观察

反应器中由于有不同类群的微生物, 因此采用不同的培养基分离纯化反应器中富集培养的微生物, 试验中用的培养基主要有豆芽汁葡萄糖培养基、LB 培养基、高氏 1 号培养基、牛肉蛋白胨培养基、硅胶平板培养基以及水洗洋葱的无机营养培养基.

活性污泥和微生物的观察采用普通的光学显微镜和 FEI-XL30 环境扫描电子显微镜.

1.3 变性梯度凝胶(DGGE)电泳分析

DNA 的提取: 从反应器取活性污泥 10 mL, 离心弃上清, 加入 DNA 提取缓冲液 18 mL 以及 200 μL 蛋白酶 K 混匀, 在 37℃ 下置水平振荡器以 225 r/min 振荡 30 min, 结束后加入 2.0 mL 20% 的 SDS, 置 65℃ 水浴 3 h. 将样品在室温下以 9 000 r/min 离心 10 min, 取上清液加入等体积的酚/氯仿 (1/1), 室温以 4 000 r/min 离心 3 min, 取上层水相中加入 0.6 倍体积的异丙醇, 室温沉淀 1 h, 14 000 r/min 离心 20 min, 弃上清. 加入 500 μL 灭菌的去离子水溶解 DNA.

DNA 的 PCR 扩增: 用细菌的通用引物 (27F 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3'; 1492R 5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3') 进行 PCR 扩增. 扩增条件为预变性 5 min; 94℃ 变性 40 s, 52℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 90 s, 30 个循环; 最后 72℃ 下延伸 7 min.

PCR 产物 DGGE 分析: DGGE 电泳对 PCR 产物进行分离, 采用 BIO-Rad 公司 D-code 型梯度胶制备装置, 制备变性剂浓度从 35% ~ 55%, 电压 120 V, 在 65℃ 电泳 6 h, 电泳结束后将凝胶用溴乙锭 (EB) 染色 30 min, 染色后的凝胶用 Biocampt 成像系统观察.

1.4 酶切分析厌氧氨氧化菌的种类

本研究分别用细菌的通用引物和厌氧氨氧化菌的特异引物 (AMX820-AAA ACG CCT CTA CTT AGT GCC C; SAMX-CCT TTC GGG CAT TGC GAA) 扩增活性污泥抽提的总的 DNA, 扩增产物连接到 T 载体 (Takara, 日本), 然后转化到大肠杆菌的感受态细胞, 平板培养, 每个平板随机挑选 100 个白斑菌落进行菌落的 PCR, 将 PCR 产物用 *Hha* I (Taka Ra, 日本) 限制性内切酶酶切 (37℃, 2 h), 酶切结果经琼脂糖凝胶分离后在 Biocampt 成像系统观察.

2 结果与分析

2.1 反应器的稳定运

2 套反应器采用低浓度、低负荷的启动方法, 逐步地提高氨氮和亚硝酸的浓度, 进水的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度最初为 21.6 mg/L, 最终稳定在 100 ~ 150 mg/L, 进水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的浓度最初为 10 mg/L 最终稳定在 100 ~ 160 mg/L. 由图 2, 根据厌氧氨氧化反应现象产生到反应器的稳定运行可把反应器运行分为 3 个阶段, 即厌氧氨氧化菌适应阶段、繁殖阶段和稳定运行阶段. 2 套反应器 3 个阶段的时间不一样, UASB 反应器 [见图 2(a)] 第 1 阶段约为 60 d, 60 d 以后进入繁殖阶段, 120 d 以后反应器得到稳定运行, 进入第 3 阶段, 稳定运行中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、TN 的平均去除率分别达到了 99.99%、99.9% 和 91.2%. UASB 生物膜反应器 [见图 2(b)] 在较短的时间就达到稳定运行, 第 1 阶段约为 46 d, 第 47 ~ 59 d 为第 2 阶段, 运行约 60 d 后就进入稳定运行阶段, 随后的稳定运行中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、TN 的平均去除率分别达到了 99.3%、97.4% 和 89.6%. 2 套反应器厌氧氨氧化菌都得到很好地富集, 活性好, N 的去除很高. UASB 生物膜反应器稳定运行的时间短, 在繁殖阶段只用了约 13 d, 与 Kartal 等^[17] 认为 ANAMMOX 菌倍增时间为 15 d

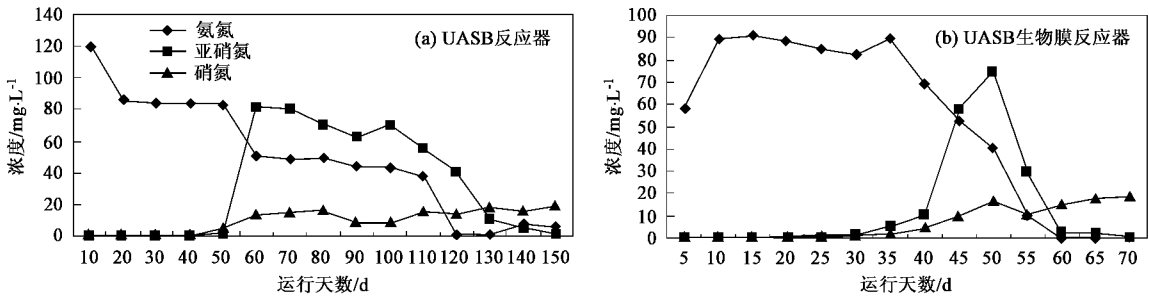


图 2 2 套反应器中出水氮的浓度随 ANAMMOX 菌培养时间的变化曲线

Fig.2 Time courses of effluent nitrogen concentrations in two reactors during continue cultivation of ANAMMOX bacteria

明显缩短,可能与接种污泥和反应器挂膜有关.

在第 1 阶段里流出氨的浓度高于流入氨的浓度,主要是因为环境因子的改变导致原活性污泥的优势菌群不适应新的环境而大量死亡,死亡的菌体的有机氮分解为氨,结果氨的浓度增加.配水中的亚硝酸主要发生反硝化作用.活性污泥中本土微生物的减少,厌氧的环境导致系统中微生物种群的选择有利于 ANAMMOX 菌的生长.第 2 阶段,菌体细胞的有机物消耗掉,污泥消化活力减少,无机配水中营养有利于 ANAMMOX 菌增加,ANAMMOX 菌大量繁殖.最后一个稳定运行阶段,这个阶段 NH_4^+ 和 NO_2^- 得到有效去除,污泥保持 ANAMMOX 反应的活力.进水和出水的 COD 平均浓度分别为 140.67 mg/L 和 4.47 mg/L, COD 减少,说明反应器稳定运行中也有部分异养菌存在.

2.2 反应的环境条件

2.2.1 环境因子

2 套反应器成功启动,运行条件主要是控制温度、pH 和进水量.温度控制在 30 ~ 34℃, pH 控制在 7.5 ~ 8.0,进水量控制在 0.5 ~ 1.0 L/d.反应器底部为缺氧,随水流方向逐渐为厌氧条件. Jetten 等^[18]认为厌氧氨氧化工艺的温度范围为 20 ~ 43℃,最佳为 40℃; pH 范围为 6.7 ~ 8.3,最佳为 8.0^[19]. 杨洋等^[19]认为最佳反应温度为 30 ~ 35℃, pH 为 7.5 ~ 8.3. 由于进水中氨氮和亚硝氮浓度的不同,每一个特定系统中的 ANAMMOX 菌有着自己独特的特性,所以适宜的环境因子在不同的反应器中不完全一样.

2.2.2 营养条件

供反应器的营养主要为人工配水,反应的初期氨氮和亚硝酸盐逐渐增加,稳定运行后配水的营养成分:大量元素(g/L)为 KH_2PO_4 0.027, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.3, CaCl_2 0.136, NaHCO_3 0.5, NH_4Cl 0.37 ~ 0.56, NaNO_2 0.49 ~ 0.79; 微量元素 I (mg/L) 为 EDTA 5,

FeSO_4 5; 微量元素 II (mg/L) 为 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.43, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.25, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.99, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.19, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.24, H_3BO_4 0.014.

2.2.3 活性污泥特性

UASB 反应器接种的污泥取自广州大坦沙城市污水处理厂污泥浓缩池, UASB 生物膜反应器接种污泥为广东江门垃圾填埋场处理渗滤液活性污泥. 由于环境的改变,污泥的结构和微生物菌群也逐渐发生变化.好氧菌逐渐被厌氧菌代替,微型后生动物消失,厌氧氨氧化菌代替本土菌而成为优势菌.随着反应器的运行, UASB 反应器中的污泥逐步形成小颗粒,沉于反应器的底部,顺着自下而上的水流方向,污泥逐渐细碎.肉眼可见反应器内污泥比较疏松,颗粒污泥边界清晰.在光学显微镜下可见 UASB 反应器污泥为黑褐色(见图 3A), UASB 生物膜反应器污泥为红褐色(见图 3B).在电子显微镜下可见 UASB 反应器内活性污泥表面凹凸不平(见图 4A),不规则,松软,可以增加与水的接触面积,在相同条件下使厌氧氨氧化反应更加彻底. UASB 生物膜反应器活性污泥更疏松,整个活性污泥充满着菌丝,菌丝直径为 0.69 ~ 0.93 μm (见图 4B).

2.3 活性污泥中的微生物类群的研究

由于反应在厌氧条件下进行,所以稳定运行后活性污泥中微生物发生了具大的变化,微型后生动物消失,兼性菌和厌氧菌取代好氧菌成为优势菌.

2.3.1 显微镜下观察的微生物

光学显微镜下可见大型的丝状菌(见图 3C 和 3D),该种菌能在厌氧无机条件下正常生长,2 套反应器都有,数量极少,不易发生污泥膨胀,运行 2a 来未见污泥膨胀现象.其它微生物个体小,在光学显微镜下很难看清楚结构.

在电子显微镜下,可见到杆菌、球菌、弧菌和椭圆形的菌,其中以椭圆形的菌为优势菌(见图 4C),

细菌大小为(0.6~0.8) μm×(0.9~1.2) μm,此形状的细菌在 2 套反应器都比较多,约占菌群的 90% 以上,该种菌可能为厌氧氨氧化反应发挥作用的菌,其

特性有待进一步研究.过去曾报导厌氧氨氧化菌为圆形和椭圆形^[20],不规则的球形^[18, 21],不规则外形的椭圆形^[22],而本研究为比较规则的椭圆形细菌.

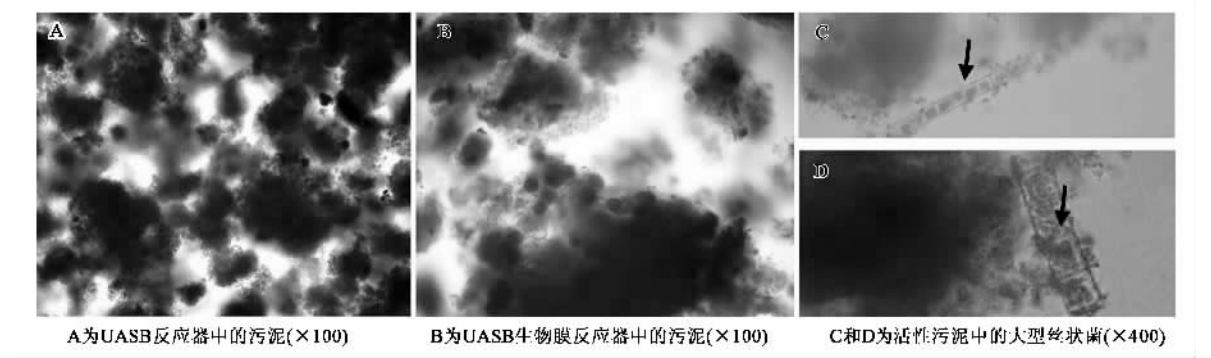


图 3 显微镜下的活性污泥
Fig.3 Optical micrographs of activated sludge

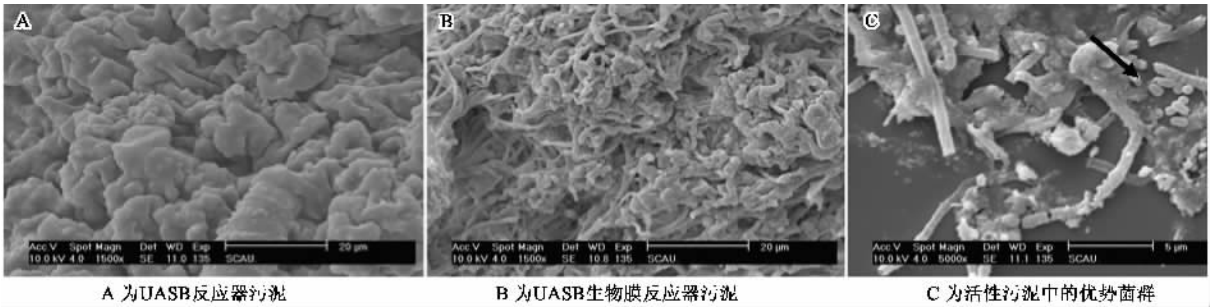


图 4 活性污泥电镜扫描图
Fig.4 Scanning electron micrographs of activated sludge

2.3.2 分离纯化的微生物类群

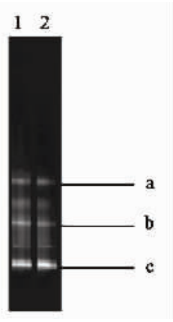
通过传统的分离纯化方法,对活性污泥中的微生物菌群进行研究,发现以细菌为主,其次是放线菌和真菌.细菌以厌氧菌和兼性菌为主,当然也有少数好氧菌也能存在于反应器中,如假单胞菌属的细菌.分离纯化的细菌在显微镜下观察有球形、椭圆形、杆状和弧状,革兰氏染色大部分为阴性菌.通过培养特性和细菌的形态^[23],2 套反应器细菌的种类基本一致,有梭菌(*Clostridium* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、绿弯菌(*Chloroflex* sp.)、乳酸杆菌(*Lactobacillus* sp.)、产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.)、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)等.放线菌有小单孢菌(*Micromonospora* sp.)、诺卡氏菌(*Nocardia* sp.)等,真菌有青霉菌(*Penicillium* sp.)、曲霉菌(*Aspergillus* sp.)、枝孢霉(*Cladosporium* sp.)等.但大部分微生物在活性污泥中浓度极低,不是生态系统中的优势种.

2.4 变性梯度凝胶(DGGE)电泳下的微生物的多

样性

DGGE 与其他分子生物学技术相结合,成为最有用的微生物生态学的研究方法,其电泳图谱能够很容易地显示自然环境微生物群落结构.2 种活性污泥 PCR-DGGE 结果(见图 5)表明,2 个反应器微生物类群基本相同,但类群不是很丰富,图 5 中可见有 3 条明显条带,说明至少有 3 种微生物,但条带的亮度表示该种微生物的多少,而只有条带 c 比较亮,说明反应器中只有 1 个优势的类群,这与研究用 16S rRNA 鉴定每一个系统中只有 1 种厌氧氨氧化菌一致^[24].2 个反应器微生物多样性不高,可能是在长期无机厌氧条件下运行的结果.但在常规培养中,发现的细菌不少于 7 种,但大部分菌种在反应器中浓度很低.而 DGGE 方法只显示明显的 3 个条带,可能原因有:① DGGE 方法也有其限制,如一些带不能进行杂交,探针的特异性还不高,不能检测任意的微生物类群;② 电泳条件有待进一步优化,一些浓度低的微生物种类其电泳条带不能用肉眼看出;③ 在

UASB 反应器中,由于长期无机运行(2a),系统中微生物多样性不高,而优势类群只有 1 种.



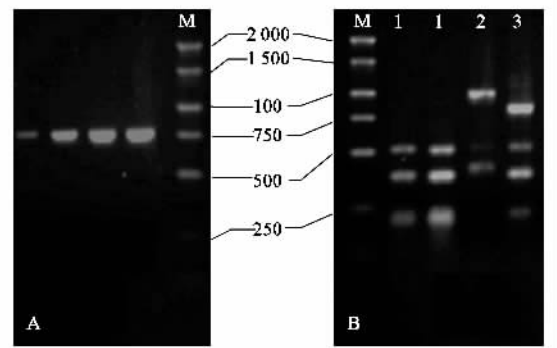
1 为 UASB 活性污泥,2 为 UASB 生物膜活性污泥,
a、b 和 c 代表活性污泥的 3 个菌群

图 5 2 套反应器活性污泥的 DGGE 成像图

Fig.5 DGGE patterns of sludge from the two reactors

2.5 酶切分析

针对某一种酶切, *Hha* I 酶对 16S rDNA 片段酶切位点较 *Rsa* I 酶丰富,而且酶切分型的种类丰富,甚至可以对某一类细菌直接分类,所以可用 *Hha* I 酶直接反映该系统中微生物的种类和多样性^[25]. 100 个菌落的 PCR 产物的酶切结果中,细菌的通用引物扩增的 DNA 的 16S rDNA 有 3 种酶切结果,部分凝胶成像结果见图 6B,共有 3 种带谱,3 种带谱 1、2 和 3 所占比例分别为 97%、2%和 1%;而用厌氧氨氧化菌的特异引物扩增的 DNA 的 16S rDNA 只有 1 种酶切结果(见图 6A),占 100%,分子量近 750 bp. 说明反应器中微生物生物多样性不高,而优势的厌氧氨氧化菌可能只有 1 种,这与 Boran 等^[24]报道的 2 个厌氧氨氧化种群很少在同一生态系统中发现,表明每一种的厌氧氨氧化菌有着自己独特的特性和特定的生态系统.



A 为厌氧氨氧化特异引物扩增后的酶切后的部分电泳图谱,结果只有 1 种图形;B 为细菌的通过引物扩增后的酶切后的部分电泳图谱,1、2 和 3 分别代表 3 种带谱

图 6 16S rDNA 酶切成像图

Fig.6 Patterns of 16S rDNA digested by *Hha* I

3 结论

(1)2 套反应器的环境因子温度为 30 ~ 34℃、pH 为 7.5 ~ 8.0 条件下,厌氧氨氧化反应得到稳定运行,且效果好.UASB 反应器里氨氮、亚硝酸盐氮和总氮的去除率分别为 99.99%、99.9%和 91.2%.膜生物反应器氨氮、亚硝酸盐氮和总氮的去除率分别为 99.3%、97.4%和 89.6%.

(2)光学显微镜下可见到大型的丝状菌,但数量极少.通过常规的分离纯化方法研究了活性污泥细菌、放线菌和真菌,其中以厌氧和兼性厌氧细菌为主.在电子显微镜下可见到优势菌为椭圆形的细菌,该菌群可能是厌氧氨氧化发挥作用的微生物.

(3)2 种活性污泥 DGGE 结果表明 2 套反应器微生物类群基本相同,但多样性不高,可能是长期无机条件运行的结果. *Hha* I 酶对 16S rDNA 片段酶切结果同样表明反应系统中微生物的多样性不高,可能只有 1 种优势的微生物菌群.

致谢:本研究的部分实验得到华南农业大学资源与环境学院吴伟坚教授和生命科学学院朱国辉博士的帮助.

参考文献:

[1] Jetten M S M, Wagner M, Fuerst J, *et al.* Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (anammox) process [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, **12**(3): 283-288.

[2] 周少奇. 氨氮厌氧氧化的微生物反应机理[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2000, **28**(11): 16-19.

[3] Kartal B, van Niftrik L, Slikers O, *et al.* Application, eco-physiology and biodiversity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. *Reviews in Environmental Science & Bio/Technology*, 2004, **3**: 255-264.

[4] 周少奇, 姚俊芹. UASB 厌氧氨氧化反应器启动研究[J]. 食品与生物技术学报, 2005, **24**(6): 1-5.

[5] 周少奇, 姚俊芹. UASB-生物膜反应器厌氧氨氧化反应的启动研究(英文)[J]. 陕西科技大学学报, 2006, **24**(4): 50-59.

[6] Ahn Y H, Hwang I S, Min K S. ANAMMOX and partial denitritation in anaerobic nitrogen removal from piggery waste [J]. *Water Science and Technology*, 2004, **49**(5-6): 145-153.

[7] 张龙, 肖文德. 厌氧氨氧化菌混混培物的培养及上流式厌氧污泥床反应器运行[J]. 华东理工大学学报, 2005, **31**(1): 99-102.

[8] Dapena-Mora A, Campos J L, Mosquera-Corral A, *et al.* Stability of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR [J]. *Journal of Biotechnology*, 2004, **110**(2): 159-170.

[9] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al.* The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, **50**(5): 589-596.

- [10] Furukawa K, Lieu P K, Tokitoh H, *et al.* Development of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) and its treatment performance [J]. *Water Science and Technology*, 2006, **53**(6): 83-90.
- [11] Trigo C, Campos J L, Garrido J M, *et al.* Start-up of the Anammox process in a membrane bioreactor [J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, **126**(4): 475-487.
- [12] Van de Graaf A A, de Bruijn P, Robertson L A, *et al.* Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor [J]. *Microbiology*, 1996, **142**(8): 2187-2196.
- [13] 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 [J]. *Archives of Microbiology*, 2001, **175**: 198-207.
- [14] Slikkers A O, Third K A, Abma W, *et al.* CANON and Anammox in a gas-lift reactor [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, **218**(2): 339-344.
- [15] Kolukirik M, Ince O, Ince B K. Changes in acetoclastic methanogenic activity and archaeal composition in a fullscale UASB reactor treating an alcohol distillery effluent [A]. In: *Proceedings of the 10th Anaerobic Digestion Conference* [C]. Canada: Montreal, 2004. 53-58.
- [16] Buzzini A P, Sakamoto I K, Varesche M B, *et al.* Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant [J]. *Process Biochemistry*, 2006, **41**(1): 168-176.
- [17] Kartal B, Koleva M, Arsov R, *et al.* Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater [J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, **126**(4): 546-553.
- [18] Jetten M S M, Strous M, Katinka T, *et al.* The anaerobic oxidation of ammonium [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, **22**(6): 421-437.
- [19] 杨洋, 左剑恶, 沈平, 等. 温度、pH 值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响[J]. *环境科学*, 2006, **27**(4): 691-695.
- [20] Egli K, Bosshard F, Werlen C, *et al.* Microbial Composition and Structure of a Rotating Biological Contactor Biofilm Treating Ammonium-Rich Wastewater without Organic Carbon [J]. *Microbial Ecology*, 2003, **45**(4): 419-432.
- [21] 徐昕荣, 贾晓珊, 陈杰娥. 一种未见报道过的厌氧氨氧化微生物的鉴定及其活性分析[J]. *环境科学学报*. 2006, **26**(6): 912-918.
- [22] 杨洋, 左剑恶, 全哲学, 等. UASB 反应器中厌氧氨氧化污泥的种群分析[J]. *中国环境科学*, 2006, **26**(1): 52-56.
- [23] Buchanan R E, Gibbons N E. 伯杰细菌鉴定手册 [M]. (第八版). 北京: 科学出版社, 1984.
- [24] Kartal B, Rattray J, van Niftrik L, *et al.* *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2007, **30**: 39-49.
- [25] 滕齐辉, 曹慧, 崔中利, 等. 太湖地区典型菜地土壤微生物 16S rDNA 的 PCR-RFLP 分析[J]. *生物多样性*, 2006, **14**(4): 345-351.