

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2016.08.019

柠檬酸废水厌氧颗粒污泥微生物菌群结构解析

曾涛涛^{1,2}, 廖伟², 谢水波^{2,3}, 荣丽杉², 李仕友², 蒋小梅², 马华龙²

(1.南华大学 矿业工程博士后流动站,湖南 衡阳 421001;2.污染控制与资源化技术湖南省高校重点实验室(南华大学),湖南 衡阳 421001;3.铀矿冶生物技术国防重点学科实验室(南华大学),湖南 衡阳 421001)

摘要:为揭示柠檬酸废水生物处理过程中功能菌群作用机制,以柠檬酸工业废水内循环厌氧反应塔(IC)中厌氧颗粒污泥为研究对象,统计颗粒粒径分布,通过环境扫描电子显微镜(ESEM)观察颗粒微观形态结构,利用高通量测序技术分析微生物多样性及菌群特征.结果发现,粒径在1.0~4.0 mm的颗粒所占比例最多,为74.4%.ESEM显示微生物分布以球形细菌为主.高通量测序得到8 397条有效序列,可划分操作分类单元(OTU)873个,Alpha多样性指数显示样品文库覆盖率0.936,Shannon指数为4.376,而ACE指数与Chao1指数分别为3 415.51与2 246.51,反映颗粒污泥中微生物种类与数量均较多.微生物菌群主要包括4大类,分别为可降解有机物的水解发酵菌群 *Paludibacter*、*Parabacteroides*、*Erysipelotrichaceae*、*Clostridium*、*Phascolarctobacterium*、*Aminobacterium*、*Saccharofermentans* 与 *Alkaliflexus*(所占比例之和为24.93%);产氢产乙酸菌群 *Petrimonas* 与 *Syntrophomonas*(所占比例之和为34.89%);产甲烷菌 *Methanosaeta*(3.44%)及可耐受工业废水毒害的微生物菌群 *Levilinea*、*Longilinea* 与 *Thermovirga*(所占比例之和为14.62%).

关键词:厌氧颗粒污泥;微生物菌群;高通量测序;柠檬酸废水

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:0367-6234(2016)08-0115-06

Analysis of bacterial community in anaerobic granular sludge for citric acid wastewater treatment

ZENG Taotao^{1,2}, LIAO Wei², XIE Shuibao^{2,3}, RONG Lishan², LI Shiyu², JIANG Xiaomei², MA Hualong²

(1.Postdoctoral Research Centre of Mining Engineering,University of South China, Hengyang 421001,Hunan,China;2.Hunan Province Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse Technology(University of South China), Hengyang 421001, Hunan, China;3.Key Discipline Laboratory for National Defence for Biotechnology in Uranium Mining and Hydrometallurgy (University of South China), Hengyang 421001, Hunan,China)

Abstract: To clarify the performance of functional microorganisms involved in biological citric acid wastewater treatment systems, bacterial community structure of anaerobic granular sludge was investigated in an internal circulation (IC) anaerobic reactor treating citric acid industry wastewater. Microstructure observation was carried out by environmental scanning electron microscope (ESEM), and the microbial diversity and microfloras were analyzed by high-throughput sequencing. Particle size distribution results showed that the most particles' diameters ranged from 1.0 mm to 4.0 mm (accounted for 74.4%). ESEM results showed that spherical bacteria were the dominant microorganisms in granular sludge. The total dataset comprised 8 397 high quality sequences, which could be subdivided into 873 operational taxonomic units. A library coverage of 0.936 implied that the granular sludge exhibited a high microbial diversity and abundance. The Shannon index, ACE index and Chao1 index were 4.376, 3 415.51 and 2 246.51, respectively. Genus classification revealed that there were four typical bacterial groups: hydrolytic fermentative bacteria for organic matter degradation were closely related to *Paludibacter*, *Parabacteroides*, *Erysipelotrichaceae*, *Clostridium*, *Phascolarctobacterium*, *Aminobacterium*, *Saccharofermentans* and *Alkaliflexus*, which accounted 24.93% of the bulk bacterial; H₂-producing and acetogenic bacteria were correlated with *Petrimonas* and *Syntrophomonas*, which accounted for 34.89%; methanogens of *Methanosaeta* accounted 3.44%; and the microflora groups of *Levilinea*, *Longilinea* and *Thermovirga* could be capable of tolerating toxic industrial wastewater, accounting for 14.62% instead.

Keywords: anaerobic granular sludge; microbial community; high-throughput sequencing; citric acid wastewater

收稿日期:2015-07-26

基金项目:国家自然科学基金(51408293);中国博士后基金面上项目(2014M562114);湖南省教育厅优秀青年项目(14B154)

作者简介:曾涛涛(1985—),男,博士,讲师;
谢水波(1964—),男,教授,博士生导师

通信作者:谢水波,xiesbmr@263.net

柠檬酸广泛应用于食品饮料、医药、化工清洗与环保等领域,在柠檬酸的生产过程中会产生大量的
高浓度有机废水,对环境造成严重污染,柠檬酸废水
是否有效处理直接关系到柠檬酸行业的持续发展.

柠檬酸工业废水中 BOD(生化需氧量)占 COD(化学需氧量)的 50%左右,具有良好的可生化性,因此,较多地采用生物处理方法,反应器以内循环(IC)厌氧反应器形式为主^[1].在 IC 反应器中,微生物主要存在于厌氧颗粒污泥中,作为废水生物处理的主体,研究颗粒污泥中的菌群结构,有助于了解柠檬酸废水处理过程中微生物的作用机制,提高柠檬酸废水的处理效果.目前,裴振洪等^[2]通过构建 16S rDNA 文库分析了柠檬酸废水厌氧颗粒污泥菌群结构,发现优势菌属为棒杆菌属(*Corynebacterium*)、梭菌属(*Clostridium*)、消化球菌属(*Peptococcus*)与疣微菌属(*Verrucomicrobia*).但由于 16S rDNA 克隆文库获得的序列有限(100 条左右),仅能够反映有限的优势微生物类群,很大程度上可能低估了厌氧颗粒污泥微生物的物种组成.近几年发展的高通量测序技术可获得足够数量的可用序列(1 万条左右),能够较全面和准确地反映微生物群落结构,日趋成为解析复杂环境中微生物菌群组成和相对丰度的重要工具^[3].

本文以湖南某柠檬酸废水 IC 反应塔中厌氧颗粒污泥为研究对象,分析颗粒粒径分布,应用环境扫描电子显微镜(ESEM)观察厌氧颗粒污泥微观形态,并利用高通量测序技术解析厌氧颗粒污泥微生物菌群结构特征,以期为提高柠檬酸废水处理效果提供微生物学理论基础.

1 实 验

1.1 颗粒污泥形态结构

厌氧颗粒污泥取自湖南某柠檬酸生产厂化工废水处理的内循环(IC)厌氧塔(1 400 m³),用蒸馏水将颗粒污泥清洗 3 次,在坐标纸上进行粒径分布检测,通过数码相机拍摄颗粒污泥外观.

厌氧颗粒污泥微观结构通过环境扫描电子显微镜(FEI QUANTA 200)观察.样品预处理步骤见文献[4]:厌氧颗粒污泥在 4 ℃、10 000 r/min 条件下离心 10 min,收集沉淀,将沉淀放置-80 ℃超低温冰箱(SANYO, MDF-U32V)冷冻 24 h,取出后立即置于冷冻干燥机(Freeze Dryer, FD5-series)中真空干燥 24 h,脱去水分.样品喷金后进行观察,并利用 X-射线能谱仪(EDAX Genesis 2000)分析颗粒污泥的元素组成.

1.2 高通量测序

取 0.5 g 颗粒污泥,通过试剂盒(E.Z.N.A Soil DNA, OMEGA)提取微生物基因组 DNA,通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提基因组的完整性,利用 Qubit2.0 DNA 试剂盒检测基因组 DNA 浓度.

PCR 扩增所用引物为 341F/805R,即

CCTACACGACGCTCTTCCGATCINCCTACGGGNGGCWGCAG 与 GACTGGAGTTCCTTGGCACCCGAGAATTCCAGACTACHVGGGTATCTAATCC^[5].PCR 反应体系包括:DNA 模板(10 ng), 5 μL 10 × Buffer, 0.5 μL dNTPs(10 mmol/L), 341F/805R 引物各 0.5 μL(50 μmol/L), 0.5 μL DNA 聚合酶(5 U/μL, Plantium Taq, Thermo), 添加超纯水至 50 μL.

同一样品设置 3 个重复,PCR 扩增程序如下:95 ℃预变性 3 min;25 个循环包含 3 个阶段,即 95、55 和 72 ℃下各保持 30 s;72 ℃终延伸 5 min.PCR 产物进行琼脂糖电泳,通过 DNA 胶回收试剂盒(SanPrep, 上海生工)对 PCR 产物进行回收.

回收的 PCR 产物通过 Qubit2.0 DNA 检测试剂盒精确定量,并添加测序标签,通过 Illumina Miseq 测序平台完成对样品高通量测序.

1.3 微生物菌群结构分析

对高通量测序所得序列进行质控(QC),以去除不符合要求的引物序列、短片段及低质量序列.将所得序列进行相似性分析,并划分操作分类单元(OUT, 相似性大于 0.97).OTU 聚类采用软件 uclust(http://www.drive5.com/uclust/downloads1_1_579.html).

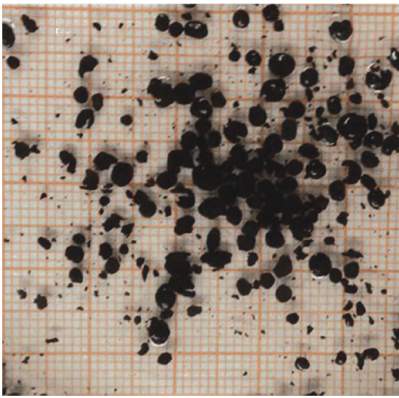
计算微生物 Alpha 多样性指数,包括覆盖率、丰富度指数、香农指数、ACE 指数与 Chao1 指数.样品文库覆盖率(coverage)计算公式为: $C = 1 - N_1/N$,其中, N_1 为只含有一条序列的 OTU 数目; N 为总序列数目^[6].丰富度指数通过操作分类单元的个数计算,以衡量单个样本中物种种类个数.香农指数计算公式为 $H = -\sum P_i \times \ln P_i$,其中 P_i 为各种群物种数与样本总物种数比值,结果可衡量群落异质性.ACE 指数和 Chao1 指数均用来估计群落中含 OTU 数目的指数,其算法不同.Alpha 多样性分析采用软件 mothur(<http://www.mothur.org/>).

通过 RDP classifier 软件将序列进行物种分类,选取门(phylum)、属(genus)为分类单位,统计各分类单位对应序列数量,绘制物种丰度图^[7].

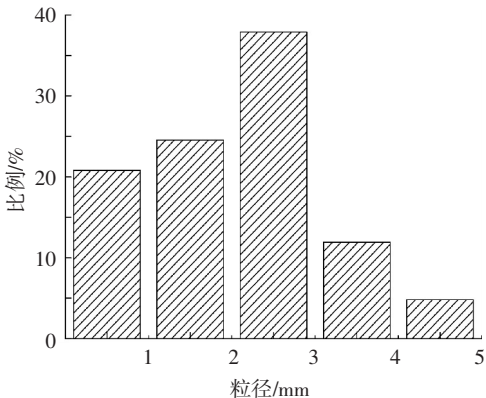
2 结果与讨论

2.1 厌氧颗粒污泥形态结构

对颗粒污泥进行数码照相,通过坐标纸刻度对照,在放大镜下统计了 1 345 个颗粒的粒径大小(图 1(a)),并利用 Origin Pro 9.0 软件绘制粒径分布柱状图,结果如图 1(b)所示.厌氧颗粒污泥为深黑球状,呈明显的颗粒特征.粒径在 2.0~3.0 mm 的颗粒所占比例最多,达 37.9%;大部分粒径在 1.0~4.0 mm,所占比例为 74.4%;4~5 mm 的粒径最少,比例为 4.8%.



(a) 污泥外观



(b) 粒径分布

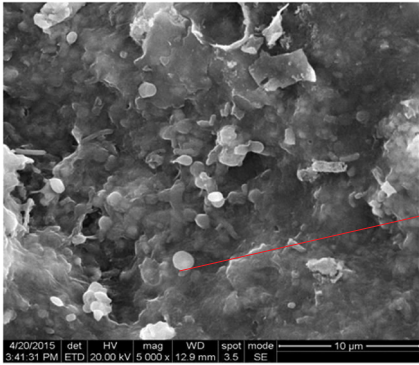
图 1 颗粒污泥外观与粒径分布

Fig.1 Appearance and particle size distribution of granular sludge

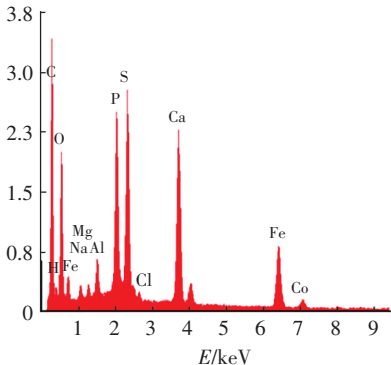
对真空干燥后的厌氧颗粒污泥进行粘样, 喷金 30 s. 在 20 kV 加速电压下, 通过环境扫描电镜 (ESEM) 放大 5 000 倍, 观察颗粒污泥微观结构, 结果如图 2(a) 所示. 通过 EDS 分析颗粒污泥微生物的元素组成及比例, 结果见图 2(b).

由图 2(a) 可知, 颗粒污泥中分布较多直径接近 1 μm 的球形菌. 另外发现, 细胞表面光滑、形态匀称, 表明在较高有机物浓度下, 颗粒污泥内的微生物

生长良好. 与普通活性污泥相比, 颗粒污泥对工业废水中复杂环境的适应能力更强. Tyupa 等^[8] 研究发现, 与普通絮状活性污泥相比, 颗粒污泥抗重金属毒害作用的能力提高 50%. 通过能谱分析检测颗粒污泥中元素组成及比例, 结果显示 C、O、Ca、P、N、Fe、S 所占比例最高, 这 7 种元素质量分数之和达 97.01%. 此外, 颗粒污泥中含有少量微量元素 Mg 和 Co.



(a) 扫描电镜结果



(b) 元素能谱分析结果

图 2 厌氧颗粒污泥微生物形态结构

Fig.2 Microorganisms morphology of anaerobic granular sludge

2.2 微生物群落结构解析

2.2.1 样本序列

测序获得原始序列 10 392 条, 去除 barcode 序列、两端引物序列, 并进行质控以去除部分低质量序列、嵌合体及靶区域外序列, 得到可用于分析的 8 397 条序列, 这些序列平均长度为 414.3 bp (表 1). 表明颗粒污泥具备较大的样本序列数量且平均长度合适, 可很好地满足后续微生物多样性分析要求.

表 1 污泥测序序列分析结果

Tab.1 Analysis of sequencing result for sludge			
样品	测序条数	质控后 序列数量	序列平 均长度
厌氧颗粒污泥	10 392	8 397	414.3

2.2.2 微生物多样性分析

微生物 Alpha 多样性指数结果如表 2 所示. 随机抽取样本序列数作为横坐标, 以对应的 OTU 数目为纵坐标, 可绘制出如图 3(a) 所示的丰富度稀疏曲线. 同理, 得到香农指数曲线 (图 3(b))、ACE 指数曲线 (图 3(c)) 与 Chao1 指数线 (图 3(d)).

表 2 颗粒污泥微生物 Alpha 多样性统计

Tab.2 Alpha diversity statistics of granular sludge microbial community

序列数量	OTU 数量	Shannon 指数	ACE 指数	Chao1 指数	覆盖率
8 397	873	4.376	3 415.51	2 246.51	0.936

试验获得的 8 397 条序列可分成 873 个 OTU, 而操作分类单元可能接近于属, 表明颗粒污泥中微生物种类很多. 样本覆盖率达 0.936, 对应图 3(a) 丰

富度稀疏曲线,说明序列没有被测出的概率非常小,该结果能很好地反映颗粒污泥中微生物实际存在情况. Shannon 指数为 4.376,对应图 3(b)中的 Shannon 指数曲线最终趋向平坦,说明取样的数量合理,取样深度足够.另外,ACE 指数达 3 415.51,Chao1 指数为

2 246.51,这两个指数常用来估计物种总数.对应图 3(c)、(d)这 2 条曲线也能反映出序列数量达到或接近饱和,表面颗粒污泥中微生物多样性极高.由此说明,在柠檬酸化工废水处理过程中,颗粒污泥保持较高的微生物丰度与菌属多样性.

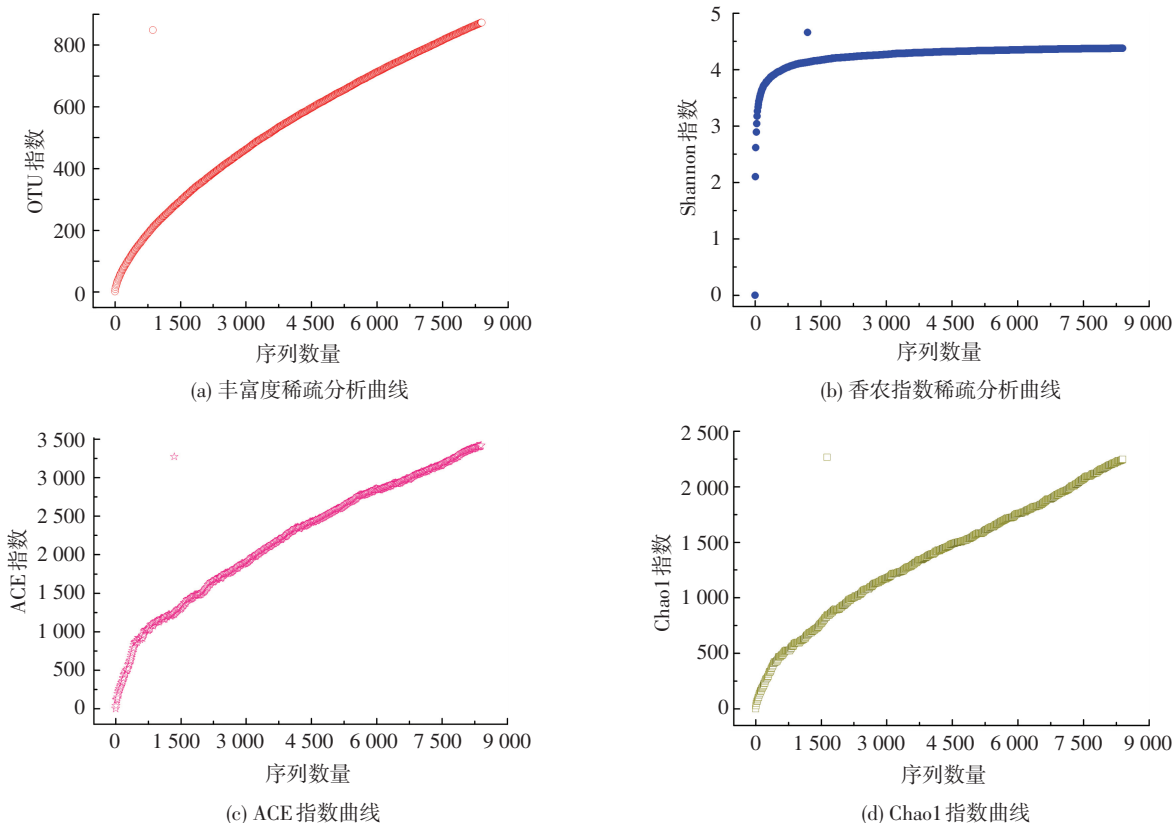


图 3 物种多样性分析
Fig.3 Analysis of species diversity

2.2.3 微生物菌群结构解析

通过 RDP classifier 软件分析 phylum(门)水平各微生物所占比例,小于 0.3%的细菌统一用“Other”表示,结果如图 4 所示.可以看出,微生物主要可分为 7 大类门,丰度最高的是拟杆菌门(Bacteroidetes),比例达 43.13%;其次为厚壁菌门(Firmicutes),比例为 24.83%.绿弯菌门(Chloroflexi)为颗粒污泥中第 3 大类微生物,比例为 16.03%.接下来依次为广古菌门(Euryarchaeota)、变形菌门(Proteobacteria)、互养菌门(Synergistetes)及嗜热丝菌门(Caldiserica),所占比例分别为 3.73%、2.56%、2.2%及 0.38%.另外,未分类到具体细菌门的序列(unclassified)所占比例为 5.64%,还有其他一些数目非常低的细菌门(比例小于 0.3%),其比例之和为 1.5%.

为了更清楚了解厌氧颗粒污泥的菌属特征,分析了属(genus)水平对应的序列数量及其所占比例,并绘制菌属丰度柱状图,结果如图 5 所示.对于所占比例小于 0.5%的物种统一用“Other”表示.

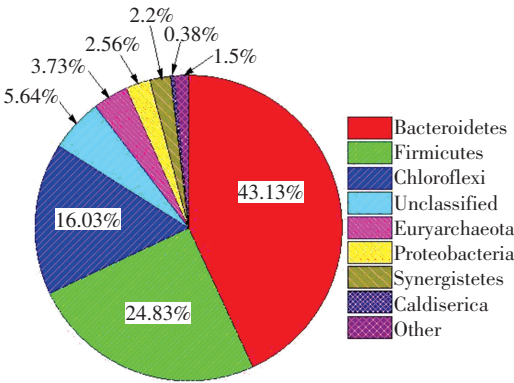


图 4 Phylum 水平上微生物丰度图
Fig.4 Microbial richness on the level of phylum

由图 5 可知,Petrimonas(理研菌属)所占比例为 32.14%,包含序列 2 699 条,为颗粒污泥中含量最多的微生物菌属.Petrimonas 具有厌氧发酵产氢能力,这与厌氧颗粒污泥性质密切相关,是厌氧处理高浓度有机废水的功能菌属.Petrimonas 曾在微生物燃料电池中出现^[9],与产甲烷菌分别参与产氢和产甲烷过程.Erysipelotrichaceae 菌的丰度为 7.68%,包含相

应序列 645 条。之前研究发现 *Erysipelotrichaceae* 参与乳酸代谢过程^[10], 柠檬酸生产废水中有机酸类主要为乳酸, 因此, 颗粒污泥中的该类微生物可有效地将乳酸进行分解。

Paludibacter 和 *Parabacteroides* 菌属所占比例分别为 7.17% 与 0.69%, 均属于专性厌氧的拟杆菌门。研究发现, 拟杆菌属能发酵多种单糖和二糖产生丙酸、乙酸和少量丁酸^[11], 因此, 这两类微生物也是厌氧颗粒污泥中的功能菌属。*Clostridium* (梭菌属) 所占比例为 5.95%, 包含序列 500 条, 是颗粒污泥优势菌属之一。*Clostridium* 属于厚壁菌门 (Firmicutes), 是重要的酸化发酵菌, 降解有机物产生甲酸、乙酸、丙酸等挥发酸, 之前裴振洪等^[2] 通过 16S rDNA 文库方法, 分析了柠檬酸废水厌氧颗粒污泥群落结构, 同样发现梭菌属是其优势菌属。*Syntrophomonas* (互营单胞菌) 在颗粒中所占比例为 2.75%, 包含序列 231 条。该菌属是厌氧发酵中常见的微生物, 可以降解丁酸, 为颗粒污泥功能菌属之一。周轩宇^[12] 研究了处理造纸废水的新型厌氧反应器内功能菌群, 发现 *Syntrophomonas* 所占比例最高时达 (20.76±0.51)%, 是主要的优势菌群, 对造纸废水容积负荷波动具有良好的抗冲击性。

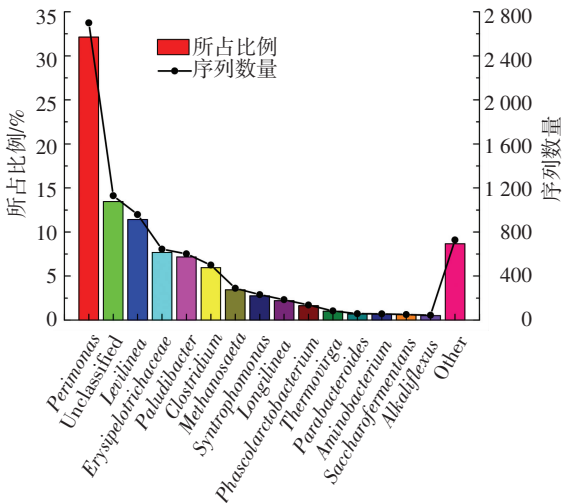


图 5 Genus 水平上物种丰度图

Fig.5 Species richness on the level of genus

Methanosaeta (甲烷鬃菌属) 所占比例为 3.44%, 包含序列 289 条, 是颗粒污泥进行废水厌氧消化产甲烷阶段的功能菌属。朱文秀等^[13] 进行了 IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析, 发现 *Methanosaeta* 在高进水负荷下优势地位显著, 表明这类产甲烷菌具有耐受高负荷性能。*Phascolarctobacterium* 属于厚壁菌门 (Firmicutes), 在颗粒污泥中所占比例为 1.63%, 包含序列 137 条, 具有厌氧发酵产生短链脂肪酸的能力^[14]。

Levilinea (11.42%) 和 *Longilinea* (2.2%) 为厌氧

绳菌纲 (Anaerolineae) 的典型微生物菌属。曹新垲等^[15] 发现 *Levilinea* 存在于处理含萘工业废水的厌氧活性污泥中; 王学华等^[16] 也发现 *Levilinea*、长绳菌属 (*Longilinea*) 是处理印染废水 UASB 反应器内的优势菌属。因此, *Levilinea* 与长绳菌属 (*Longilinea*) 均具有耐受工业废水中有毒物质侵害的能力。*Thermovirga* 所占比例为 1%, 包含序列 84 条。王有昭^[17] 进行了生物电化学强化偶氮染料脱色作用机制研究, 发现 *Thermovirga* 在耐毒性驯化后的阳极生物膜中所占比例为 15.9%, 在强化偶氮染料还原脱色中发挥关键作用, 该菌属的存在有助于提高颗粒污泥对工业废水中有毒物质的耐受性能。

Aminobacterium、*Saccharofermentans* 与 *Alkaliflexus* 3 种菌属所占比例较低, 分别为 0.68%、0.61% 与 0.52%, 这 3 类菌曾在秸秆发酵液微生物菌群分析中观察到。其中 *Aminobacterium* 参与氨基酸代谢, *Alkaliflexus* 具有纤维素降解功能, 可提供底物给产酸菌^[18]。

此外, 测序结果中有 1 129 条序列与已有菌属相似性低, 不能归为其中一类, 用 Unclassified bacteria (未明确分类细菌) 表示, 所占比例为 13.45%, 这些序列的作用有待深入研究。所有比例低于 0.5% 的序列之和为 727 条, 对应菌属丰度共占 8.67%。说明颗粒污泥中还存在许多低丰度微生物菌属, 虽不属于优势菌群, 但也是颗粒污泥菌群结构的重要组成部分。

从以上分析可知, 厌氧颗粒污泥功能菌群包括 4 大类, 分别为有机物水解发酵菌群 *Paludibacter*、*Parabacteroides*、*Erysipelotrichaceae*、*Clostridium*、*Phascolarctobacterium*、*Aminobacterium*、*Saccharofermentans* 与 *Alkaliflexus* (所占比例之和为 24.93%); 产氢产乙酸菌群 *Petrimonas* 与 *Syntrophomonas* (所占比例之和为 34.89%); 产甲烷菌 *Methanosaeta* (3.44%) 及可耐受工业废水毒害的微生物菌群 *Levilinea*、*Longilinea* 与 *Thermovirga* (所占比例之和为 14.62%)。由多种功能菌群组成厌氧颗粒污泥群落结构, 可有效地完成高浓度柠檬酸废水处理及抵抗有害物质对微生物的毒害作用。

3 结 论

1) 厌氧颗粒污泥可挥发性悬浮固体浓度 (VSS) 所占比例较高 (0.611), 大部分颗粒粒径在 1.0 ~ 4.0 mm (74.4%)。ESEM 显示颗粒污泥中存在大量直径约 1 μm 的球形细菌; EDS 结果表明 C、O、Ca、P、N、Fe、S 这 7 种元素所占质量分数最高。

2) 高通量测序获得 8 397 条有效序列, 可划分操作分类单元 (OTU) 873 个, Alpha 多样性指数显示样品文库覆盖率为 0.936, Shannon 指数为 4.376, 而 ACE

指数与 Chao1 指数分别为 3 415.51 与 2 246.51,各自对应的曲线趋向平坦,反映出颗粒污泥中微生物多样性与丰富度均较高。

3) 厌氧颗粒污泥功能菌群包括 4 大类,分别为有机物水解发酵菌群 *Paludibacter*、*Parabacteroides*、*Erysipelotrichaceae*、*Clostridium*、*Phascolarctobacterium*、*Aminobacterium*、*Saccharofermentans* 与 *Alkaliflexus* (所占比例之和为 24.93%);产氢产乙酸菌群 *Petrimonas* 与 *Syntrophomonas* (所占比例之和为 34.89%);产甲烷菌 *Methanosaeta* (3.44%) 及可耐受工业废水毒害的微生物菌群 *Levilinea*、*Longilinea* 与 *Thermovirga* (所占比例之和为 14.62%)。

参考文献

- [1] 周友超. 国内柠檬酸废水处理研究方法研究进展[J]. 广东化工, 2010, 37(9): 13-114, 122.
ZHOU Youchao. Research progress on domestic citric acid wastewater treatment[J]. Guangdong Chemical Industry, 2010, 37(9): 13-114, 122.
- [2] 裴振洪, 李昌涛, 王加宁, 等. 柠檬酸废水 IC 反应器厌氧颗粒污泥真细菌结构分析[J]. 生物技术, 2012, 22(6): 60-64.
PEI Zhenhong, LI Changtao, WANG Jianing, et al. Eubacteria community analysis in anaerobic granular sludge from internal circulation anaerobic reactor of citric acid industrial wastewater[J]. Biotechnology, 2012, 22(6): 60-64.
- [3] MA Q, QU Y, SHEN W, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing[J]. Bioresource Technology, 2015, 179: 436-443.
- [4] 曾涛涛, 鲁慧珍, 刘迎九, 等. 耐铀颗粒污泥微生物群落结构解析[J]. 中国有色金属学报, 2016, 26(1): 233-241.
ZENG Taotao, LU Huizhen, LIU Yingjiu, et al. Analysis of microbial community structure of uranium-resistant granular sludge[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metals, 2016, 26(1): 233-241.
- [5] JIA S, HAN H, ZHUANG H, et al. Impact of high external circulation ratio on the performance of anaerobic reactor treating coal gasification wastewater under thermophilic condition[J]. Bioresource Technology, 2015, 192: 507-513.
- [6] PENG X, GUO F, JU F, et al. Shifts in the microbial community, nitrifiers and denitrifiers in the biofilm in a full-scale rotating biological contactor[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(14): 8044-8052.
- [7] HUANG M, QI F, WANG J, et al. Changes of bacterial diversity and tetracycline resistance in sludge from AAO systems upon exposure to tetracycline pressure[J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 298: 303-309.
- [8] TYUPA D V, KALENOV S V, SKLADNEV D A, et al. Toxic influence of silver and uranium salts on activated sludge of wastewater treatment plants and synthetic activated sludge associates modeled on its pure cultures[J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2015, 38(1): 125-135.
- [9] SUN R, ZHOU A, JIA J, et al. Characterization of methane production and microbial community shifts during waste activated sludge degradation in microbial electrolysis cells[J]. Bioresour Technol, 2014, 175(1): 68-74.
- [10] JIANG J, NAKAYAMA J, SAKAMOTO N, et al. 454 pyrosequencing study on the basal microbiota of healthy asian youngsters [C]//第七届乳酸菌与健康国际研讨会暨第三届亚洲乳酸菌研讨会. 无锡: 江南大学, 2012: 2.
JIANG J, NAKAYAMA J, SAKAMOTO N, et al. 454 pyrosequencing study on the basal microbiota of healthy asian youngsters [C]//The 7th International Symposium on Lactic Acid Bacteria and Health and the 3rd Asian Symposium on Lactic Acid Bacteria. Wuxi: Jiangnan University, 2012: 2.
- [11] 吴俊妹, 马安周, 崔萌萌, 等. 降解纤维素产甲烷的四菌复合系[J]. 环境科学, 2014, 35(1): 327-333.
WU Junmei, MA Anzhou, CUI Mengmeng, et al. Bioconversion of cellulose to methane by a consortium consisting of four microbial strains[J]. Environmental Science, 2014, 35(1): 327-333.
- [12] 周轩宇. 新型厌氧反应器处理造纸废水效能及功能菌群落分析[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
ZHOU XuanYu. Performance and functional bacteria community characteristics of a new anaerobic reactor treating papermaking wastewater [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.
- [13] 朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 等. IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析[J]. 环境科学, 2012, 33(8): 2715-2722.
ZHU Wenxiu, HUANG Zhenxing, REN Hongyan, et al. Performance and microbial community dynamic characteristics of an internal circulation reactor treating brewery wastewater [J]. Environmental Science, 2012, 33(8): 2715-2722.
- [14] LECOMTE V, KAAKOUSH N O, MALONEY C A, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters[J]. PloS One, 2015, 10(5): e0126931.
- [15] 曹新垲, 杨琦, 郝春博. 厌氧污泥降解蔡动力学与生物多样性研究[J]. 环境科学, 2012, 33(10): 3535-3541.
CAO Xinkai, YANG Qi, HAO Chunbo. Degradation kinetics of naphthalene by anaerobic sludge and analysis of the bacterial biodiversity[J]. Environmental Science, 2012, 33(10): 3535-3541.
- [16] 王学华, 黄俊, 宋吟玲, 等. 高效水解酸化 UASB 活性污泥的菌群结构分析[J]. 环境科学学报, 2014, 34(11): 2779-2784.
WANG Xuehua, HUANG Jun, SONG Yinling, et al. Analysis on bacterial community structure in UASB reactor's sludge with hydrolysis acidification capacity of a dyeing wastewater treatment process[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(11): 2779-2784.
- [17] 王有昭. 生物电化学系统强化偶氮染料酸性黑 10B 脱色及作用机制[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014.
WANG Youzhao. Enhanced decolorization of azo dye ab10B in bioelectrochemical system and mechanism analysis [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2014.
- [18] 李家宝, 芮俊鹏, 张时恒, 等. 原核微生物菌群的空间分异增强秸秆-猪粪混合发酵效率[J]. 化工学报, 2014, 65(5): 1792-1799.
LI Jiabao, RUI Junpeng, ZHANG Shiheng, et al. Spatial differentiation of prokaryotes enhancing performance of co-fermentation with straw and swine manure [J]. CIESC Journal, 2014, 65(5): 1792-1799.

(编辑 刘 彤)