活性污泥法中细菌多样性综述

陈 燕，刘国华，范 强，齐 鲁，王洪臣
（中国人民大学环境学院，北京 100872）

摘 要：活性污泥法是污水处理最重要的生物处理工艺之一，活性污泥系统中的细菌群落是该技术的核心，准确地了解活性污泥中微生物的群落结构、关键功能、细菌的生理特性和作用机制是提高活性污泥处理工艺运行效果的重要依据。文章通过对相关文献的总结和分析，综述了活性污泥处理工艺中主要细菌群落（脱氮除磷细菌、丝状菌等）的多样性和生理生态学特征，为提高污水处理厂运行效能、增强功能稳定性提供一定的微生物学理论基础。

关键词：污水处理；活性污泥；微生物生态；脱氮除磷细菌；丝状菌
中图分类号：X703 **文献标志码**：A

Review of Bacterial Diversity of the Activated Sludge Process

Chen Yan, Liu Guohua, Fan Qiang, Qi Lu, Wang Hongchen
（School of Environment and Natural Resources, Renmin University of China, Beijing 100872, China）

Abstract: Activated sludge process is one of the most important biological technologies of wastewater treatment. Bacterial communities of the activated sludge system are the core of such technology. Accurate understanding of the composition and dynamics of microbial communities in the activated sludge, the physiological features and mechanism of key functional bacteria are the important basis for improvement of the operation effect of the activated sludge process. In this paper, based on the summary and analysis of relevant literature, diversity, physiological and ecological characteristics of the main microbial communities (e.g. nutrient removal bacteria, filamentous bacteria) in the activated sludge treatment process are reviewed, providing a certain theoretical basis for improvement of the operation efficiency and enhancement of the functional stability of sewage treatment plants.

Keywords: Wastewater Treatment; Activated Sludge; Microbial Ecology; Nutrient Removal Bacteria; Filamentous Fungus
CLC number: X703

活性污泥法是污水处理重要的生物处理工艺之一，广泛应用于处理市政污水和工业废水。活性污泥主要由细菌、放线菌、真菌、原生动物和后生动物等构成，其中，细菌起着最主要的降解有机物、脱氮和除磷的作用。但是，一些细菌的大量繁殖也可能导致二沉池活性污泥沉降性能变差，出现污泥膨胀或产生生物泡沫，导致活性污泥系统崩溃。因此，深入地了解活性污泥微生物群落结构、关键细菌的生理特性和作用机制以及活性污泥系统、底物、运行工况等对活性污泥中功能微生物的影响至关重要。

虽然活性污泥法已经应用了1个多世纪，但是，活性污泥菌群的研究很大程度上受方法学的限制。20世纪80年代之前，污水处理厂中的微生物检测主要依赖于光学显微镜[1]以及传统的分离纯培养方法[2]，随着分子生物学技术的不断发展，近20年来，诸如分子杂交技术（FISH、基因芯片）、基因文库以及遗传指纹图谱等非培养技术逐步替代了传统的纯培养技术[3]，使得真实准确地鉴定和分析活性污泥系统中微生物群落的

收稿日期：2015-01-04
基金项目：国家水体污染控制与治理重大科技专项（2013ZX07314-001)基金资助
作者简介：陈 燕（1990-），女，硕士研究生。研究方向：水污染控制工程、微生物生态学。E-mail: chenyanbest@126.com
通信作者：王洪臣。E-mail: whc@ruc.edu.cn

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

组成和动态变化成为可能，为提高活性污泥处理工艺的运行效果提供了理论依据。

1　污水处理厂中微生物的多样性

基于非培养方法，从污水处理厂中检测出的微生物主要属于变形菌纲（*Proteobacteria*）(包括*Alpha*–、*Beta*–和*Gamma*– *Proteobacteria*)，放线菌（*Actinobacteria*），厚壁菌（*Firmicutes*），拟杆菌（*Bacteroidetes*），绿弯菌（*Chloroflexi*），浮霉菌（*Planctomycetales*），酸杆菌（*Acidobacteria*），硝化螺菌（*Nitropira*），疣微菌门（*Verrucomicrobia*）等[4]，检测方法不同，从污水处理厂检测出的微生物种群也不同。Chao Yang et al[5]利用PCR–DGGE技术分析了活性污泥的16S rRNA基因序列，*Proteobacteria*是所有的样品中最丰富的细菌，其次是*Bacteroidetes*和*Firmicutes*。Ke Yu et al[6]利用宏基因组学技术研究了香港污水处理厂中的微生物群落结构，根据DNA和cDNA库比对发现主要的细菌为*Proteobacteria*，*Actinobacteria*，*Bacteroidetes*，*Firmicutes*和*Verrucomicrobia*。Beer et al[7]利用半定量FISH和DAPI染色法检测了澳大利亚9座EBPR污水处理厂中的微生物种群，含量最多的是*Proteobacteria*，平均占52%（其中α–*Proteobacteria*最多，平均占32%），*Actinobacteria*占总生物量的17%，*Chloroflexi*占15%左右，*Firmicutes*和*Bacteroidetes*的数量较少，系统中未检测出浮霉菌、酸杆菌和硝化螺菌等菌属。而Liu et al[7]采用巢式PCR–DGGE从一座A^2O和A/O工艺的污水厂中检测出活性污泥中的主要细菌为β–*Proteobacteria*。

Xia et al[8]利用通用16S rRNA基因的高密度基因芯片比较了中国和美国的5座生物污水处理反应器中的微生物群落组成，5座反应器中微生物群落结构组成呈现出高度的一致性。含量最多的是*Proteobacteria*，占50%~62%，其中γ– *Proteobacteria*含量最高（31%~38%），γ– *Proteobacteria*中，20%~25%的菌属于*Enterobacteriales*，14%~19%的细菌属于*Alteromonadales*，15%~20%的细菌属于*Pseudomonadales*，α – *Proteobacteria*的数量与γ – *Proteobacteria*相近（30%~35%），而β– *Proteobacteria*仅占18%~20%。*Firmicutes*，*Actinobacteria*和*Bacteroidetes*的比例平均为5%~ 18%，这四类菌占到总细菌的80%。

但在比较亚洲（中国大陆、香港和新加坡）、北美（加拿大和美国）共14座污水处理厂的活性污泥菌群时，微生物群落又呈现出明显的地域差异[9]。但总的特征是*Proteobacteria*在所有的样品中丰富度均为最高，占总细菌的36%~65%，其他优势细菌有*Firmicutes*（1.4%~14.6%，平均为8.1%），*Bacteroidetes*（2.7%~15.6%，平均为7.0%）以及*Actinobacteria*（1.3%~14.0%，平均为6.5%）。与之前的一些研究结果相类似，这四种细菌是污水处理厂中最主要的细菌，占细菌总数的56%~86%。其他平均丰度>1%的细菌还包括*Verrucomicrobia* (4.2%)，*Chloroflexi*(3.4%)，*Acidobacteria* (3.0%) 和*Planctomycetes*(2.4%)。*Proteobacteria*中，ε–*Proteobacteria*的丰度极小（0.01%~0.51%，平均为0.08%），香港污水厂活性污泥中的α–*Proteobacteria*丰度最高，而其他地方的污水厂中，β– *Proteobacteria*是最多的*Proteobacteria*，因为香港的污水厂处理的污水含盐量普遍较高，这与α–*Proteobacteria*是海洋微生物群落中数量最多（高达25%~50%）的微细菌相一致[10]。

Nielsen et al[11]总结25座丹麦污水厂3年多的研究发现，丹麦污水厂中每种功能细菌含有3~7种优势细菌，虽然各EBPR污水厂的进水成分、工艺和运行工况间存在着较大差异，但都具有十分相似的群落组成，且有着有限的相似的核心物种，其中丝状菌占28%，硝化菌占7%，反硝化菌占18%，PAOs占13%，GAOs占1%，发酵细菌占3%，水解细菌占3%，这与*Mielczarek* et al[12]根据对丹麦污水厂微生物群落结构自2006年来的研究数据建立的数据库MiDas–DK的结果相一致，结果还表明影响活性污泥群落结构的最主要因素是进水废水的组成和污水厂的运行工况。

Alexis Valentl　n–Vargas[13]在比较两座地理相差较远以及规模不同的CAS污水厂时发现，日

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

处理量更大（规模更大）的污水厂中微生物的多样性比日处理量小的污水厂明显大很多，CCA分析结果表明，运行工况是影响微生物群落结构的最大因素，其影响占45.1%。其中，ADF（日处理流量）、F/M和SRT对污水厂的群落多样性有明显的促进作用，而TSS和HRT则相反。较长的SRT将促进世代时间较长的硝化菌生长（如*Betaproteobacteria*）以形成功能稳定的AOB群落。Van der Gast et al[14]的研究也表明处理规模越大，污水厂中微生物的群落多样性越高。进水BOD对微生物群落结构并没有太大的影响。研究HRT对污水厂微生物群落结构的研究还较少，Han et al[15]报道在实验室反应器中，较短的HRT导致处理效率更低，微生物群落的多样性也越低。

2 丝状菌

丝状菌构成了活性污泥的骨架，对活性污泥絮体的形成起到了重要作用。但是丝状菌的过度繁殖将大大减小活性污泥絮体的沉降性，导致污泥膨胀或产生大量的生物泡沫。

目前已从市政污水处理厂中观察到了30多种丝状菌（镜检），工业污水处理厂中还包括约40余种其他类型的丝状菌。大多数丝状菌均会导致污泥膨胀或者产生生物泡沫，但是约有10种类型的丝状菌导致了市政污水厂和工业污水厂的90%的污泥膨胀问题[16]，其中有些虽然在混合液中的数量并不多，但在活性污泥表面仍产生了厚厚的生物浮渣[17]。这些导致污泥膨胀的丝状菌还存在着地理分布上的差异。

研究表明，*Candidatus'M.parvicella'*是导致污泥膨胀的最主要的丝状菌，同时，它也是曝气池和二沉池表面浮渣和泡沫中含量最多的丝状菌，尤其是在欧洲、澳大利亚和南美。生物泡沫和浮渣中数量排名第二的是*Mycolata*，*Mycolata*是*Corynebacterineae*中很多种类丝状菌的统称[18]，由*Corynebacterium*，*Dietzia*，*Gordonia*，*Millisia*，*Mycobacterium*，*Nocardia*，*Rhodococcus*，*Segniliparus*，*Skermania*，*Tsukamurella*和*Williamsia*中的多种细菌组成。其中，最具代表性的是*Gordonia amarae*（之前分类名为*Nocardia amarae*）。虽然*Mycolata*包含的细菌在系统分类上相近，但它们在生理和生长动力学特征上差异较大。例如，大部分的*Rhodococcus*生长快速，在琼脂平板上增殖的时间为2~3天，而*G.amarae*的世代时间为一个星期，*S.piniformis*的世代时间则长达3个星期。

目前已有30余种用于FISH技术的探针，图像分析技术、qPCR和FISH技术的结合，16S rRNA基因库的建立，基因芯片等技术的应用，使得丝状菌的原位测定更加灵敏和精确[19]。Vervaeren et al[20]将定量FISH和qPCR结合，测定了含有type 021N的膨胀污泥，建立了SVI和其16S rRNA基因之间的关系模型，他们的研究同时表明，活性污泥中每种优势丝状菌的DNA比例可以为污泥膨胀提供早期预警。D.P. Mesquita et al[21]也建立了SVI、丝状菌长度和MLSS之间的关系模型，可以用于判断丝状菌膨胀的发生。

Seviour et al[22]利用原位FISH-MAR技术研究了*Candidatus*‘*N.limicola*’的生理特性，结果表明*Candidatus*‘*N.limicola*’可以在好氧或者厌氧的环境下吸收基质。之前对于纯培养的type 0961细菌和’*Chloroflexi*’type 1851细菌的研究显示，这两种细菌均具有厌氧发酵的代谢功能，但这还需原位MAR技术的验证。

FISH原位杂交试验和16S rRNA基因测序结果表明，*S.natans*，*H.hydrossis*，*Type* 1701，*Thiothrix*和*Type* 021N更适宜在低溶解氧环境下生存，Martins et al[23]的实验也证实了*Type* 021N，*Thiothrix spp*和*Type* 1851适宜在低溶解氧的SBR系统中生存。*Candidatus'M.parvicella'*则在低溶解氧环境中增殖速度最快。

*Microthrix*和*Mycolata*（*Gordonia*和*Skermania*）是水解脂类的主要微生物，*Candidatus Epiflobacter*和一些*Chloroflexi*是分解蛋白质的主要微生物，*Tetrasphaera*是分解淀粉的微生物。但是EBPR污水厂中的丝状菌通常不能降解醋酸或者其他“已生物降解”的基质，这与工业污水厂无BNR功能系统中的丝状菌的性质

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

不同[11]。

3　脱氮细菌

氨氮是污水处理厂的主要污染物之一，在污水厂通过硝化和反硝化被转化为氮气去除。传统的硝化过程是由氨氧化细菌（AOB）和亚硝酸盐氧化菌（NOB）完成的。虽然通常描述的AOB和NOB分别为*Nitrosomonas europaea*和*Nitrobacter spp*，但实际污水厂中的硝化细菌有着丰富的多样性。

3.1　AOB

非培养方法常用*amoA*基因或16S rRNA基因分析来研究AOB的多样性。*Nitrosomonas*在污水处理厂常被16S rRNA和*amoA*序列以及FISH法检测出来，因此一直被认为是污水处理中最重要的AOB菌[24]。Wagner et al[4]总结了文献中200多个利用*amoA*基因分析的数据，结果显示大多数β–*proteobacterial*的AOB菌均出现在市政污水厂中，除了*N. europaea*，N. *eutropha*，*Nitrosococcus mobilis*，还包含*Nitrosomonas marina*和其他系统上属于不同分支的AOB菌。

相比于*Nitrosomonas*，亚硝化螺菌（*Nitrosospira*）在活性污泥或生物膜反应器中仅是偶尔能被检测到。*Nitrosospira*是实验室流化床反应器中主要的AOB菌，在土壤中含量丰富，在根际修复中发挥着重要作用[25]，*Nitrosospira*更适应低基质浓度的环境，对于亚硝酸盐具有更低的*Km*值，相比于*Nitrosomonas*生长速率更低，因此，在低氨氮浓度的土壤环境中*Nitrosospira*含量更高，但在实际污水厂中的含量并不高。

16S rRNA或者*amoA*基因检测仅能检测出污水处理厂中的一小部分的功能AOB菌。污水厂中有很大一部分的AOB菌有着十分相似的基因和功能多样性，而这些菌的具体系统发育分类还不清楚，但是这种功能可变性可能对硝化过程有很大的影响。目前，已经获得了纯培养的AOB菌的全基因组分析，可以为硝化过程的研究提供很好的理论基础。

3.2　NOB

基于纯培养方法，硝化杆菌*Nitrobacter*几乎可以从每个硝化活性污泥或者生物膜样品中分离纯化，因此，*Nitrobacter*一直被认为是废水生物处理过程中最重要的NOB菌。但Wagner et al[26]首次使用FISH和rRNA寡核苷酸探针检测几座污水处理厂的硝化活性污泥时，并未检测到*Nitrobacter*的存在。随后，full–cycle rRNA分析方法检测工业污水处理厂中的NOB菌时证实*Nitrospira*是系统中的主要NOB菌[27]。*Nitrospira*在活性污泥和生物膜中的广泛分布逐渐被之后的非培养技术检测不断证实[28]。对于可以纯培养的*Nitrobacter*的研究已经很多，但是关于污水处理厂中的*Nitrospira*的生理特性和作用机制我们知道的还很少。Spieck第一次成功的从活性污泥中富集一株硝化螺菌*Candidatus* ‘*Nitrospira defluvii*’，并利用环境基因组学的方法确定了*Nitrospira*的基因[29]，这为后续*Nitrospira*的研究提供了基础。此外，还发现*Candidatus* ‘*Nitrospira defluvii*’体内含有一种可以将ClO_2^-降解为铝酸盐和O_2特殊的酶*chlorite dismutase* (CLD)，表明*Nitrospira*可能在氯酸盐和次氯酸盐的降解过程中发挥着重要作用，*Nitrospira*在N循环中的作用及其生态学还有待进一步研究。

*Nitrospira*和*Nitrobacter*具有不同的生长策略，*Nitrospira*遵循K策略，具有较低的基质亲和力，而*Nitrobacter*遵循的是r策略，K/r假设有力地解释了*Nitrospira*在自然生境和污水处理厂中的广泛分布。Wagner对*Nitrospira*和*Nitrobacter*之间的竞争机制表明，在*Nitrospira*为优势菌的反应器中，当提高反应器中的亚硝酸盐浓度，*Nitrobacter*逐渐取代Nitrospira成为系统中的优势菌，但有趣的是降低亚硝酸盐的浓度后，*Nitrospira*并没有再次成为反应器中的优势菌，可能是当系统中*Nitrobacter*的数量维持在一个比较平稳的水平时，将会抑制*Nitrospira*的生长[4]。

活性污泥中的AOB菌和NOB菌是互惠共生体，事实上AOB菌和NOB菌之间的关系更复杂，可能还涉及到维他命及其他一些重要的生长因子的交换过程[30]，这些问题还需要更深入地探索。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3.3 反硝化菌

大多数基于纯培养方法鉴定和分离出的反硝化细菌属于产碱杆菌属*Alcaligenes*，芽孢杆菌属*Bacillus*，生丝微菌属*Hyphomicrobium*，甲基杆菌属*Methylobacterium*，副球菌属*Paracoccus*，假单胞菌属*Pseudomonas*以及其他一些属[31]，但是传统的纯培养方法无法反映出污水处理厂中反硝化细菌群落的多样性，而非培养方法在研究环境样品中的反硝化细菌的过程中也存在一定的局限性，因为具有反硝化能力的细菌在系统发育上并不都很相近，其分布十分广泛。

Ginige et al[32]利用FISH-MAR和SIP原位测定了*Azoarcus*和*Thauera*(*Rhodocyclaceae*，*Betaproteobacteria*)在反硝化活性污泥中的活动，揭示了*Azoarcus*/*Thauera*可能是污水处理厂中的主要反硝化细菌。随后，*Thomsen*分析两座市政污水处理厂中的反硝化细菌群落时发现其中主要的反硝化菌属于 *Curvibacter*(*Betaproteobacteria*)， *Azoarcus*和*Thauera*。结果显示*Thauera*可以同时吸收醋酸盐、丙酸盐、丙酮酸盐、乙醇和氨基酸，许多*Thauera*生长于芳香植物和富含卤代烃的环境中，表明*Thauera*可能在去除废水中难降解和毒性物质的过程中发挥着重要作用。

污水厂投加的碳源不同，其中的反硝化细菌也不同，*Comamonadaceae*和*Rhodocyclaceae*的如*Comamonas, Acidovorax*和 *Thauera* (都属于*Betaproteobacteria*)是醋酸盐作为碳源的系统中的优势反硝化菌，甲醇则更青睐于*Methylophilus, Methylobacillus* (均为 *Betaproteobacteria*)及*Hyphomicrobium* (属于*Alphaproteobacteria*)[33]。

目前，很多学者利用NirS和NirK基因来检测环境中的反硝化细菌，Heylen et al[34]对比了NirS和NirK基因建立的系统发育树和16R rRNA基因序列的系统发育树，发现两者不一致，因为在系统发育上并不直接相关的反硝化细菌也可能具有相同序列的NirK基因，不同的反硝化细菌的NirK基因之间的相似性与微生物所处的共同的生境相关联，因此NirS和NirK基因不能用作鉴定环境样品中反硝化菌群的标记物 。

除了Nir基因，比较蛋白质序列和16S rRNA系统发育树，Nor(norB，norZ)，Nos(nosZ)，和Nap(napA)会在不同的反硝化细菌中转移，因此也不适宜作为反硝化细菌的系统发育标记[35]。相比之下，利用硝酸盐还原酶（narG）建立的系统发育树显示出了与16S rRNA相一致的结果，但是narG也会出现在非反硝化细菌如*E.coli*中。因此，目前还缺少应用于鉴定和检测反硝化细菌合适的系统发育和功能的标记物。

3.4 古菌和厌氧氨氧化菌

Nils Johan Fredriksson et al[36]的研究表明污水处理厂中古菌约占活性污泥中总细菌的1.6%，主要的优势菌是*Methanosaeta*。环境基因组学研究发现AOA（ammonia-oxiding *Archaea*）在土壤中的丰度高于AOB，表明AOA不仅在海洋系统而且在陆生系统的N循环中起着重要作用[37]。所有已知的AOA均为*Crenarchaeota*且含有与AOB的*amoA*基因相隔较远的*amoA*基因。

*Candidatus Nitrosopumilus maritimus*是首个被分离得到的AOA[38]，研究发现其与大多数的AOB有类似的生长速率和产率系数，也是利用氨氮作为唯一的能量来源以供生长。之前被归于*Crenarchaeota*[39]，但现在已被归类为*Thaumarchaeota*。AOA对污水厂的运行条件（如DO和氨氮负荷）并没有AOB敏感[40]，但由于其分离和纯培养十分困难，因此AOA在硝化过程中的作用和处理效率仍然未知。

厌氧氨氧化是环境领域和微生物领域的重大发现，目前已经分离获得了5属9种厌氧氨氧化菌，建立了厌氧氨氧化菌科[41]，厌氧氨氧化菌已经在处理高氨氮和特种废水领域取得了重大进展，但在处理氨氮的城市污水领域还尚未开拓。

4 除磷细菌

4.1 PAOs

早期基于纯培养的实验表明*Gammaproteobacteria*的 *Acinetobacter spp*.是EBPR系统中主要的PAOs[42]，但之后的DAP生物标记实验和16S rRNA基因测序分析[43]证明*Acinetobacter*实际在

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

EBPR系统中数量很少。基于纯培养方法从EBPR系统中分离出的另一种积磷小月菌*Microlunatus phosphovorus*，也被证实并不具有PAOs的代谢途径[44]。

基于非培养方法，目前确定的EBPR系统中最重要的PAOs是与*Betaproteobacteria*中*Rhodocyclus*相近的一类菌——*Canditatus* ‘*Accumulibacter phosphatis*’，也称为‘*Rhodocyclus-related* PAO’或者‘*Accumulibacter*’或者‘CAP’菌，由Bond[43]在用16S rRNA PCR分析EBPR群落时首次定义。

Carvalho et al [45]使用PAOMIX探针和FISH探针检测到在一座实验室有效除磷的SBR系统中，*Accumulibacter*所占比例高达40%~80%。当反应器交替以醋酸盐和丙酸盐作为碳源时，*Accumulibacter*的比例达到了90% 。在仅含有丙酸盐的EBPR反应器中，*Accumulibacter*占总细菌的比例也达到了55% 或89%。

*Accumulibacter*的分布特征与废水水质、气候、工艺和运行工况有关。Zilles et al[46]利用FISH探针和polyP染色测定了美国的一座UCT污水厂中的*Accumulibacter*的比例为18%，占总PAOs的73%。而在另一座以好氧-缺氧运行的Orbal污水厂中，*Accumulibacter*仅占13%，占总PAOs的26%[47]。另一项用相同方法对美国污水厂研究的结果表明*Accumulibacter*在EBPR系统中所占的丰度在9%~24%，丰度的提高表明*Accumulibacter*可能对VFAs有着较高的亲和力[48]。

Liu et al [49]使用16S rRNA目标的FISH探针和polyP染色观察到以醋酸为碳源的EBPR污泥中*Accumulibacter*同时积累polyP和PHA，但是并不是所有的细胞一直都积累大量的polyP，这说明了*Accumulibacter*成员之间存在异质性。

Kong et al [50]利用FISH-MAR技术检测了丹麦3座污水厂活性污泥中的*Accumulibacter*的生理生态学特性，*Accumulibacter*可以同化吸收一系列的有机质，如醋酸盐、丙酸盐、丙酮酸盐和谷氨酸，但是无法吸收甲酸盐、乙醇、葡萄糖和除谷氨酸之外的几种氨基酸，这说明*Accumulibacter*只可以吸收一小部分的小分子基质，而其他的水解产物则由其他生态位的非*Accumulibacter* PAO吸收利用。*Accumulibacter*可以利用O_2，NO_3^-和NO_2^-作为电子受体，是可能的DPAO。

从EBPR系统中发现的另一种PAO是*Dechloromonas agitates*。Goel et al [51]在实验室小试Orbal反应器中厌氧培养了聚磷菌，利用full-cycle rRNA分析，在反应器中富集得到了*Dechloromonas sp.*。Kong et al 分析一座丹麦的EBPR污水厂的样品时，利用full-cycle rRNA、染色法和MAR，发现*Dechloromonas sp.*可以厌氧吸收像醋酸这类的短链脂肪酸，积累PHA和polyP，具有PAO的代谢特征[51]。但是Ahn et al[52]在一座实验室小试的SBR除磷系统中发现*Dechloromonas sp.* 可以同化吸收醋酸盐，在基质充足时将积聚胞内的PHA，但在饥饿时不会积聚polyP。这说明*Dechloromonas spp.*仅能在一些条件下表现出PAO的代谢特征，它们在EBPR污水厂中的重要性和作用还有待进一步的研究。

Arter et al [53]在对丹麦的28座污水厂中PAOs和GAOs的研究表明，在EBPR污水厂中，PAOs和GAOs占到总微生物群落的30%，两种PAO——*Accumulibacter*和 *Tetrasphaera*，在所有的EBPR污水厂中均很丰富（平均占3.7%和27%）。*Accumulibacter*与较高的废水C/P比相对应，*Tetrasphaera*与较高的有机负荷相对应，且不同的污水厂呈现出独特的PAO和GAO群落结构。

4.2　GAOs

EBPR系统中最主要的GAOs是*Gammproteobacteria* 的*Candidatus* ’ *Competibacter phophatis*’和 *Alphaproteobacteria*的 *Defluviicoccus vanus*。*Candidatus*’ *Competibacter phophatis*’（*Competibacter*）由Nielsen首次发现并由Crocetti[54]首次命名， FISH和post-FISH染色显示其具有厌氧-好氧PHA循环，但是不含有polyP。Kong[55]分析了*Competibacter*的16S rRNA基因序列，设计了10种FISH探针，其中GB探针是检测所有细菌的最常用的探针。Meyer et al [56]从实验室的反应器中发现并设计了*D.vanus-related*的

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Cluster 2探针，并在3个退化的实验室反应器和两座EBPR污水厂中均检测到了一定丰度的Cluster 2细菌。Mcllroy研究了一座连续曝气的EBPR系统中的D.vanus-related GAO的系统发育特征，利用流动细胞分析仪和ALF968FISH探针杂交建立了16S rRNA基因库，证实了Cluster 3的存在[57]，同时也揭示了可能还存在*D.vanus-related*的Cluster4细菌，但其在EBPR系统中的重要性尚未知晓。

尽管*D.vanus-related* GAO在实验室反应器中丰度很高，但关于它们在污水厂中的丰度的报道还较少。Burow[58]检测了丹麦10座EBPR污水厂，发现*D.vanus-related* GAO仅在2座污水厂中出现，且仅占总细菌很少的一部分（>1%）。López-Vázquez[59]的研究也表明*D.vanus*-related GAO在荷兰的EBPR污水厂的丰度也不高（<1%）。因此，关于*D.vanus*-related GAO在EBPR污水厂的丰度和多样性还有待进一步研究。其他GAO的丰度及其在EBPR系统中的生物多样性和重要性及其作用也还有待进一步的研究。

5 结论与展望

活性污泥主要是由变形菌纲、放线菌、厚壁菌、拟杆菌、绿弯菌、浮霉菌、酸杆菌、硝化螺菌、疣微菌门等微生物组成的混合种群。其中导致污泥膨胀、产生浮渣和泡沫的最主要的丝状菌是*Candidatus'M.parvicella'*和*Mycolata*，今后，建立SVI、丝状菌长度和16S rRNA基因、DNA比例等之间的关系模型，将为污泥膨胀提供早期预警。*Nitrosomonas*、*Nitrospira*和*Nitrobacter*是污水处理厂中主要的硝化细菌，目前还缺少应用于鉴定和检测污水厂中反硝化细菌合适的标记物。*Accumulibacter*和*Dechloromonas spp.*是EBPR系统中主要的PAOs，研究表明PAOs具有可变、可诱导的代谢特征，而不是一成不变的结构。EBPR系统中最主要的GAOs是*Candidatus' Competibacter phophatis'*和*Defluviicoccus vanus*，其在EBPR系统中的生物多样性和重要性及其作用还有待进一步的研究。

未来活性污泥系统中微生物的研究趋势在于：

（1）从简单的研究转变为整体的系统研究。活性污泥系统是一个生态系统，试图分离出具有整个活性污泥系统所有特征的特定生物是不现实的，更有意义的是从整体上研究活性污泥系统中的微生物群落。

（2）将分离培养技术和非培养技术相结合。培养法和非培养法鉴定活性污泥系统中的细菌均有缺陷，纯培养方法无法提供整个群落的生态属性和多样性，而非培养方法在表征活性污泥系统中微生物的生理结构方面存在一定的缺陷。因此，将分离培养技术和非培养技术相结合将会不断补充对活性污泥系统中微生物的认识。

（3）建立和完善活性污泥微生物生态理论体系。我们需要基于现有的形态观察和定量信息形成活性污泥中微生物之间的生态作用、微生物群落结构、种群动态变化和影响因素的定量理论，结合现有的生态学理论和基因组学、宏基因组学、转录组学以及蛋白质组学等知识，不断发现和丰富活性污泥系统中潜在的原则和机制，为活性污泥系统的稳定运行提供理论基础。

参考文献

[1]Eikelboom D H. Filamentous organisms observed in activated sludge[J]. Water Research, 1975, 9(4):365-388.

[2]Ueda S, Earle R L. Microflora of activated sludge[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 1972, 18(3):239-248.

[3]Theron J, Cloete T E. Molecular techniques for determining microbial diversity and community structure in natural environments[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2000, 26(1):37-57.

[4]Wagner M, Loy A, Nogueira R, et al. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2002, 81(1-4):665-680.

[5]Yang C, Zhang W, Liu R, et al. Phylogenetic diversity and metabolic potential of activated sludge microbial communities in full-scale wastewater treatment plants[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(17):7408-7415.

[6]Yu K, Zhang T. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of microbial community structure and gene expression of activated sludge[J]. PLoS One, 2012, 7(5):e38183.

[7]Liu X, Zhang Y, Yang M, et al. Analysis of bacterial community structures in two sewage treatment plants with different sludge properties and treatment performance by nested PCR-DGGE method[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(1):60-66.

[8]Xia S, Duan L, Song Y, et al. Bacterial community structure in geographically distributed biological wastewater treatment reactors[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(19):7391-7396.

[9]Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants[J]. The

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

ISME Journal, 2012, 6(6):1137-1147.

[10]Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea[J]. Science, 2004, 304(5667):66-74.

[11]Nielsen P H, Mielczarek A T, Kragelund C, et al. A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants[J]. Water Research, 2010, 44(17):5070-5088.

[12]Mielczarek A T, Saunders A M, Larsen P, et al. The Microbial database for Danish wastewater treatment plants with nutrient removal (MiDas-DK)-a tool for understanding activated sludge population dynamics and community stability[C]//IWA World Water Congress, 2013.

[13]Valentín-Vargas A, Toro-Labrador G, Massol-Deyá A A. Bacterial community dynamics in full-scale activated sludge bioreactors: operational and ecological factors driving community assembly and performance[J]. PLoS One, 2012, 7(8):e42524.

[14]Van Der Gast C J, Jefferson B, Reid E, et al. Bacterial diversity is determined by volume in membrane bioreactors[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(6):1048-1055.

[15]Han H, Zhang Y, Cui C, et al. Effect of COD level and HRT on microbial community in a yeast-predominant activated sludge system[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(10):3463-3465.

[16]Eikelboom D H, Geurkink B. Filamentous micro-organisms observed in industrial activated sludge plants[J]. Water Science & Technology, 2002, 46(1-2):535-542.

[17]Hong C, Tan K N, Cheung M W L. Filamentous growth in activated sludge[C]//Seventeenth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. Humana Press, 1996:851-856.

[18]Stackebrandt E, Rainey F A, Ward-Rainey N L. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1997, 47(2):479-491.

[19]Mesquita D P, Amaral A L, Ferreira E C. Activated sludge characterization through microscopy: A review on quantitative image analysis and chemometric techniques[J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 802:14-28.

[20]Vervaeren H, De Wilde K, Matthys J, et al. Quantification of an Eikelboom type 021N bulking event with fluorescence in situ hybridization and real-time PCR[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2005, 68(5):695-704.

[21]Mesquita D P, Amaral A L, Ferreira E C. Identifying different types of bulking in an activated sludge system through quantitative image analysis[J]. Chemosphere, 2011, 85(4):643-652.

[22]Seviour R J, Liu J R, Seviour E M, et al. The "Nostocoida limicola" story: resolving the phylogeny of this morphotype responsible for bulking in activated sludge[J]. Water Science and Technology, 2002, 46(1-2):105-110.

[23]Martins A M P, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. Effect of dissolved oxygen concentration on sludge settleability[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62(5-6):586-593.

[24]Purkhold U, Pommerening-Röser A, Juretschko S, et al. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(12):5368-5382.

[25]Thomsen T R, Nielsen J L, Ramsing N B, et al. Micromanipulation and further identification of FISH - labelled microcolonies of a dominant denitrifying bacterium in activated sludge[J]. Environmental Microbiology, 2004, 6(5):470-479.

[26]Wagner M, Rath G, Koops H P, et al. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants[J]. Water Science and Technology, 1996, 34(1-2):237-244.

[27]Juretschko S, Timmermann G, Schmid M, et al. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: Nitrosococcus mobilis and Nitrospira-like bacteria as dominant populations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(8):3042-3051.

[28]Daims H, Nielsen P H, Nielsen J L, et al. Novel Nitrospira-like bacteria as dominant nitrite-oxidizers in biofilms from wastewater treatment plants: diversity and in situ physiology[J]. Water Science and Technology, 2000, 41(4-5):85-90.

[29]Spieck E, Hartwig C, McCormack I, et al. Selective enrichment and molecular characterization of a previously uncultured Nitrospira - like bacterium from activated sludge[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(3):405-415.

[30]Seviour Robert, Nielsen Per H. Microbial ecology of activated sludge[M]. IWA Publishing, 2010.

[31]Knowles R. Denitrification[J]. Microbiological Reviews, 1982, 46(1):43-70.

[32]Ginige M P, Keller J, Blackall L L. Investigation of an acetate-fed denitrifying microbial community by stable isotope probing, full-cycle rRNA analysis, and fluorescent in situ hybridization-microautoradiography[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12):8683-8691.

[33]Osaka T, Yoshie S, Tsuneda S, et al. Identification of acetate-or methanol-assimilating bacteria under nitrate-reducing conditions by stable-isotope probing[J]. Microbial Ecology, 2006, 52(2):253-266.

[34]Heylen K, Gevers D, Vanparys B, et al. The incidence of nirS and nirK and their genetic heterogeneity in cultivated denitrifiers[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(11):2012-2021.

[35]Philippot L. Denitrifying genes in bacterial and archaeal genomes[J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1577(3):355-376.

[36]Fredriksson N J, Hermansson M, Wilén B M. Diversity and dynamics of Archaea in an activated sludge wastewater treatment plant[J]. BMC Microbiology, 2012, 12:140-157.

[37]Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. Nature, 2006, 442(7104):806-809.

[38]Stahl D A, de la Torre J R. Physiology and diversity of ammonia-oxidizing archaea[J]. Annual Review of Microbiology, 2012, 66:83-101.

[39]Zhang T, Ye L, Tong A H Y, et al. Ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria in six full-scale wastewater treatment bioreactors[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 91(4):1215-1225.

[40]Jin T, Zhang T, Yan Q. Characterization and quantification of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB) in a nitrogen-removing reactor using T-RFLP and qPCR[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87:1167-1176.

[41]郑 平, 张 蕾. 厌氧氨氧化菌的特性与分类[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 35(5): 473-481.

[42]Fuhs G W, Chen M. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater[J]. Microbial Ecology, 1975, 2(2):119-138.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[43]Bond P L, Hugenholtz P, Keller J, et al. Bacterial community structures of phosphate-removing and non-phosphate-removing activated sludges from sequencing batch reactors[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(5):1910-1916.

[44]Santos M M, Lemos P C, Reis M A M, et al. Glucose metabolism and kinetics of phosphorus removal by the fermentative bacterium Microlunatus phosphovorus[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(9):3920-3928.

[45]Carvalho G, Lemos P C, Oehmen A, et al. Denitrifying phosphorus removal: Linking the process performance with the microbial community structure[J]. Water Research, 2007, 41(19):4383-4396.

[46]Zilles J L, Hung C H, Noguera D R. Presence of Rhodocyclus in a full-scale wastewater treatment plant and their participation in enhanced biological phosphorus removal[J]. Water Science & Technology, 2002, 46(1-2):123-128.

[47]Zilles J L, Peccia J, Kim M W, et al. Involvement of Rhodocyclus-related organisms in phosphorus removal in full-scale wastewater treatment plants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6):2763-2769.

[48]He S, Gu A Z, McMahon K D. Progress toward understanding the distribution of Accumulibacter among full-scale enhanced biological phosphorus removal systems[J]. Microbial Ecology, 2008, 55(2):229-236.

[49]Liu W T, Nielsen A T, Wu J H, et al. In situ identification of polyphosphate - and polyhydroxyalkanoate - accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process[J]. Environmental Microbiology, 2001, 3(2):110-122.

[50]Kong Y, Nielsen J L, Nielsen P H. Microautoradiographic study of Rhodocyclus-related polyphosphate-accumulating bacteria in full-scale enhanced biological phosphorus removal plants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(9):5383-5390.

[51]Goel R K, Sanhueza P, Noguera D R. Evidence of Dechloromonas sp. participating in enhanced biological phosphorus removal (EBPR) in a bench-scale aerated-anoxic reactor[J]. Proceedings of the Water Environment Federation, 2005, 2005(41-50):3864-3871.

[52]Ahn J, Schroeder S, Beer M, et al. Ecology of the microbial community removing phosphate from wastewater under continuously aerobic conditions in a sequencing batch reactor[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(7):2257-2270.

[53]Mielczarek A T, Nguyen H T T, Nielsen J L, et al. Population dynamics of bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal in Danish wastewater treatment plants[J]. Water Research, 2013, 47(4):1529-1544.

[54]Crocetti G R, Banfield J F, Keller J, et al. Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes[J]. Microbiology, 2002, 148(11):3353-3364.

[55]Kong Y, Ong S L, Ng W J, et al. Diversity and distribution of a deeply branched novel proteobacterial group found in anaerobic-aerobic activated sludge processes[J]. Environmental Microbiology, 2002, 4(11):753-757.

[56]Meyer R L, Saunders A M, Blackall L L. Putative glycogen-accumulating organisms belonging to the Alphaproteobacteria identified through rRNA-based stable isotope probing[J]. Microbiology, 2006, 152(2):419-429.

[57]Wong M T, Liu W T. Ecophysiology of Defluviicoccus-related tetrad-forming organisms in an anaerobic-aerobic activated sludge process[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(6):1485-1496.

[58]Burow L C, Kong Y, Nielsen J L, et al. Abundance and ecophysiology of Defluviicoccus spp., glycogen-accumulating organisms in full-scale wastewater treatment processes[J]. Microbiology, 2007, 153(1):178-185.

[59]López-Vázquez C M, Hooijmans C M, Brdjanovic D, et al. Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in The Netherlands[J]. Water Research, 2008, 42(10-11):2349-2360.

危害师生健康，建议：加强污染严重区域的时间管理，尽量避免高峰时间人流量的突增；加强校园环境预警建设；加强师生卫生知识和环境保护意识的宣传；继续细化影响校园空气微生物因素和规律的研究，监控校园环境质量，为师生的工作学习打造良好的环境。

参考文献

[1]喻道军,叶丽杰,程 明,等.校园空气微生物浓度的监测与分析[J].微生物学志,2011,31(2):102-105.

[2]喻道军,叶丽杰,程 明,等.大学校园空气微生物污染调查[J].预防医学情报杂志,2011,27(10):766-769.

[3]孙平勇,刘雄伦,刘金灵,等.空气微生物的研究进展[J].中国农学通报,2010,26(11):336-340.

[4]孙宗科,康怀雄,申志新,等.南方和北方城市住宅室内空气微生物调查[J].环境与健康杂志,2011,28(2):130-132.

[5]张双民, 曾才彬, 刘龙军.陕西师范大学雁塔校区大气微生物污染调查[J].环境保护科学,2005,31(131):20-22.

[6]王 芹,田 甜,金 焰.楚州城区空气微生物含量的测定[J].仪器仪表与分析监测,2011,1:28-29.

[7]董晓寅,王卫涛,王文峰,等.现代空气微生物监测技术概述[J].现代科学仪器,2013(3):29-32.

[8]张杏辉,罗燕群,周振明.校园空气微生物和悬浮物污染评价及相关性分析[J].中国环境监测,2011,27(4):71-74.

[9]傅本重,赵洪波,永保聪,等.公共场所空气微生物污染研究进展[J].中国公共卫生,2012,28(6):857-858.

[10]方治国,欧阳志云,胡利锋,等.城市生态系统空气微生物群落研究进展[J].生态学报,2004,24(2):315-322.

[11]史军致.浅谈全面深入开展大气微生物污染监测的必要性[J].山西能源与节能,2010,3:82-91.

[12]徐 惠,翟 钧,刘振全.兰州市大气环境污染现状及治理对策研究[J].环境保护科学,2003,29(119):4-9

[13]周群英,高廷耀.环境工程微生物学（二版）[M].北京:高等教育出版社,2000.

[14]陈皓文.北海市空气微生物含量时空分布[J].广西科学, 1998, 5(2):83-86.

[15]贾 丽,巨天珍,常成虎,等.校园大气微生物的时空分布及与人群活动关系的研究[J].安全与环境工程,2006,13(2):34-37.

[16]陈 源,巨天珍,赵英杰,等.校园空气微生物污染状况及时空分布特征[J].云南地理环境研究,2007,19(5):123-128.

[17]刘国强,周 娅.校园空气污染微生物的检测与评价[J].微生物学杂志,2004,24(3):56-58.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net