分子生物学技术在废水脱氮工艺微生物学研究中的应用

秦 宇[1,2]，郭劲松[2]，方 芳[2]
（1. 重庆交通大学河海学院，重庆 400074；2. 重庆大学城市建设与环境工程学院，重庆 400045）

摘 要：分子生物学作为一门现代生物学技术，弥补了常规微生物学试验的不足，能对环境样品中的微生物进行原位观察，有效、快速、准确地反映环境样品中的微生物信息。为总结分子生物学在废水脱氮领域微生物学研究中的应用，介绍了最常用的几种相关技术，并以SHARON、ANAMMOX、CANON以及OLAND等新型生物脱氮工艺为例，回顾了分子生物学技术在该领域的研究进展，同时对其在该领域的发展进行了展望。

关键词：分子生物学；微生物；新型脱氮工艺
中图分类号：X703.1 **文献标志码**：A **文章编号**：1673－7180(2011)05－0385－5

Application of molecular biology technology on microbiology study of nitrogen removal processes in wastewater treatment

Qin Yu[1,2], Guo Jinsong[2], Fang Fang[2]
(1. *School of River and Ocean Engineering*, *Chongqing Jiaotong University*, *Chongqing* 400074, *China*;
2. *Faculty of Urban Construction and Eviromental Engineering*, *Chongqing University*, *Chongqing* 400045, *China*)

Abstract: As a modern technology, molecular biology would compensate for the defaults of traditional ones. Without cultivation, some information about microorganism would be quickly effectively and accurately gained. To retrospect the application and development of molecular biology technology on the microbiology study of some novel nitrogen removal processes, some typical technologies were analyzed, and the process such as SHARON, ANAMMOX, CANON and OLAND were taken for example. Meanwhile, the prospect of molecular biology technologies was forecasted.

Key words: molecular biology；microorganism；novel nitrogen removal process

水体氮污染威胁到我们赖以生存的生态环境，开发经济有效的生物脱氮技术已成为国内外的研究热点，其中新型脱氮工艺，如 SHARON（single reactor high activity ammonium removal over nitrite，短程硝化反硝化），ANAMMOX（anaerobic ammonium oxidation，厌氧氨氧化），CANON（completely autotrophic nitrogen removal over nitrite，一体化自养脱氮），OLAND（oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification，限氧硝化/反硝化）等，以其高效节能的特点近年来更是受到学者的广泛关注。由于这类工艺在反应原理上与传统脱氮工艺有本质上区别，其机理研究日益成为研究重点。

新型脱氮工艺反应器内微生物学研究是其机理研

收稿日期：2010-04-20
基金项目：国家自然科学基金资助项目(50608071)；重庆大学研究生创新项目(200811A1A0120301)；重庆交通大学引进人才科研启动基金资助项目
作者简介：秦宇(1981－)，女，讲师，主要研究方向：废水生物处理理论与技术，qinyu54001@163.com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

究的一个重要组成部分。传统微生物学实验虽能在一定程度上检测出新型脱氮工艺中某类已知细菌的总数、通过功能判断以及外表观测确定功能菌种等，但对于微生物多样性及其在环境领域作用的了解仅靠传统的微生物学方法如显微镜、菌种培养等是不够的，这主要是由于微生物形态简单，缺乏明显的外部特征；而且由于难以模拟大多数自然环境中微生物生长繁殖的真实条件而不能获得微生物的纯培养[1]；此外，一些细菌的世代周期很长，比如 ANAMMOX 工艺中的厌氧氨氧化菌，其世代周期在 11 d 以上，很难采用培养的方法进行分离[2]。再加上如选择性培养基计数等定量方法的不准确性，使得现今对于处理工艺中微生物与处理效果相关性的研究仍处于“黑箱”阶段。此外，由于新型脱氮工艺关于其机理研究尚处于初级阶段，到底有哪些微生物参与了反应尚不明确，这也使得采用常规微生物学手段有一定的困难。因此，为了更好地研究新型脱氮工艺的反应机理，为其控制反应条件提供理论依据，为实际应用奠定理论基础，迫切需要其他的生物学新技术。

近年来，分子生物学技术因其能对环境样品中的微生物进行原位观察，且能快速、灵敏、有效得到遗传水平上环境微生物的多样性信息，在环境领域得到了重要进展，随着人们对新型脱氮工艺的关注，该技术在脱氮系统中微生物的多样性、系统发育地位、种群结构以及与功能的相关性等研究中的成为了该领域的应用热点。笔者回顾分子生物学技术在废水脱氮工艺中微生物学研究方面的应用，并对其在该领域的发展进行展望。

1 分子生物学技术概述

分子生物学(molecular biology)是一门现代生物学，是在生物化学与遗传学、微生物学、细胞学、生物物理学等学科相结合的基础上发展起来的崭新学科[3]。它将研究对象主要集中于生物大分子——核酸（DNA 和 RNA）。分子生物学正对生物科学各个领域进行广泛渗透和影响，而成为带动整个生命科学的前沿学科，并已成为现代生命科学的“共同语言”[3]。目前，已开发并应用于环境领域。研究微生物群落的分子生物学技术主要有以下几种。

1.1 荧光原位杂交

荧光原位杂交技术(fluorescent *in situ* hybridazation，FISH)问世于 20 世纪 70 年代后期，是根据已知微生物不同分类级别上种群特异的 DNA 序列，以利用荧光标记的特异寡核苷酸片段作为探针，与环境基因组中 DNA 分子杂交，检测该特异微生物种群的存在与丰度。该方法的特点是可以进行样品的原位杂交，避免细菌的纯培养过程。此外，该技术可以有效反应环境样品中细菌数量及空间位置，并具有定性、定量分析和空间位置识别特点，因此，FISH 技术成为了微生物学的一个突破，近年来应用于环境中特定微生物种群的鉴定、种群数量分析及其特异微生物跟踪检测。采用该技术已发现了许多新的微生物物种。

1.2 多聚酶链式反应

多聚酶链式反应(polymerase chain reaction，PCR)是由美国 Cetus 公司 Mullis 等在 1985 年建立起来的一套大量快速扩增特异 DNA 片段的系统，属 DNA 体外合成技术，类似于生物体内 DNA 的复制过程，重复经过若干个变性、退火、延伸这 3 步循环，就可以使目的 DNA 扩增放大，解决了环境样品中由于提取 DNA 含量过低而不能很好分析的难题。目前，PCR 已成为分子生物学家手中不可或缺的工具，通过 PCR，可以在几小时内将一个分子的遗传物质成百乃至上亿倍的复制。该技术具有特异性强、灵敏度高、快速、简便以及重复性好等特点和优点，短短几十年得到了迅速发展和应用。从 PCR 技术发明至今，该技术已不断得到改进，除经典 PCR 以外，还开发出了荧光定量 PCR(Real-time PCR)等。

1.3 变性梯度凝胶电泳

变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis，DGGE)由 Myers 等首先创建，属于 DNA 指纹图谱技术。PCR 扩增产物在具有变性浓度梯度的聚丙烯酰胺凝胶中具有不同的迁移位点，不同的 G＋C 含量在胶中产生不同分离的条带，每一条条带代表一个不同的微生物种群，通常用条带数目的多少来反映微生物种群的多样性，用条带的染色强度反映不同细菌种群的丰度。这样仅仅分析条带就能得到很有用的信息。DGGE 在微生物分子生态学方面的应用，不仅使得人们对复杂微生态系统的解析成为可能，也使得对微生物群落动态变化的研究成为可能，近年来，该技术用于环境微生物种群研究的文章越来越多，涉及的领域也越来越广泛。

1.4 DNA 克隆

环境样品微生物分析的一个较突出的问题是得不到足够的目标物质进行分析。譬如 10 L 生长到最大浓度的 *E.Coli* 培养菌只包含 7 mg DNA 多聚酶 I，许多其他蛋白质的量则更少。此外，微生物体内的蛋白质，能被纯化的部分几乎不到一半，真核细菌的蛋白质则更难得到，分子克隆技术的发展和应用克服了这一不足。分子克隆的主要技术要点是：将目标 DNA 片断插入一段自复制的 DNA 分子（克隆载体）中，而后目标 DNA

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

片断就和载体复制在一起，将这个携带着目标 DNA 片断的载体在宿主细胞（如 *E.Coli* 或酵母菌）中克隆后就可产生大量的被插入的目标 DNA 片断。

1.5 DNA 测序及序列分析

与 PCR 类似，DNA 测序采用高温使 DNA 双链变性，引物被退火后得到延伸。*Taq* DNA 多聚酶也是 DNA 测序反应中常用的酶，它能使染料标记的 DNA 终端分布更加均匀，具有较高的测序准确度。

此外，DNA 序列分析是测序后一个重要步骤，不同微生物有不同 DNA 序列，因此经过准确和合理的序列分析即能鉴定目标微生物。目前，可以通过网络数据资源得到有关的序列信息，也可以应用软件在数据库中查询，还可以通过系统发育分析确定微生物在发育过程中种属关系。

2 分子生物学技术在新型脱氮工艺中的应用

新型生物脱氮工艺按其脱氮反应及反应器类型的不同，主要可以分为 SHARON、ANAMMOX、CANON 以及 OLAND 等几种。这几种工艺的发展，为水处理工作者在生物脱氮设计方面提供了新的理论和思路，它们逐渐成为各国学者研究的焦点。

2.1 SHARON 工艺

SHARON(single reactor high activity ammonium removal over nitrite)工艺由荷兰 Delft 技术大学 Hellinga 等于 1997 年开发成功。该工艺的核心是利用硝化菌与亚硝化菌在较高温度(30~40 ℃)下不同生长速率，硝化菌的生长速率明显低于亚硝化菌的生长速率。通过控制温度和污泥龄将硝化菌自然淘汰，使反应器中的亚硝化菌占绝对优势，从而在同一个反应器内，先在有氧的条件下，利用亚硝化菌将氨氮氧化生成 NO_2^-，然后在缺氧的条件下，以有机物为电子供体，将 NO_2^-反硝化生成 N_2。该工艺的关键在于将 NH_4^+氧化控制在 NO_2^-，阻止 NO_2^-进一步氧化，然后直接反硝化。

由于该工艺需对硝化菌进行有效淘汰而使亚硝化菌富集，所以之前很多研究者针对系统内如何培养、分离功能菌上进行了大量研究，如找到了适合亚硝化菌分离、生长的培养基，并得到其纯培养后进行了亚硝化菌的生理特性研究等[4]。但是由于亚硝化菌的富集时间需要 60 d[5]，且由于肉眼在辨别筛选菌落的过程中无法精确判断，这使得有些功能菌很可能被人为忽略掉。而分子生物学无需对工艺中微生物进行纯培养，可以在一次实验中发现可能存在的所有菌种并且得到精确判断，避免了常规培养中的人为误差，节省人力物力。Susanne 等[6]首次应用现代分子生物学技术对 SHARON 工艺中的微生物组成情况进行了研究。他们采用 PCR-DGGE-16S rRNA 序列分析技术，对 SHARON 工艺中微生物样品进行分子生物学技术检测，研究结果显示，系统内至少存在 4 种不同微生物，并且其中有 1 种占主导地位(69%)的细菌与 *Nitrosomonas europaea* 有 98.8%的相似性，采用 FISH 技术核实反应器内确实有 70%的细菌属于 *Nitrosomonas europaea*。A. Mosquera-Corral 等[7]在研究有机碳及盐对 SHARON 工艺的影响中，选用 NEU653 探针定期采用 FISH 技术探测该工艺污泥中微生物的组成。结果表明，尽管不同有机碳及盐浓度对反应效果有不同影响，但参与反应的主要细菌均为 *Nitrosomonas*。

2.2 ANAMMOX 工艺

1990 年荷兰 Delft 技术大学的 Kluyver 生物技术实验室首次发现了厌氧氨氧化现象(anaerobic ammonium oxidation，ANAMMOX)，它是指在严格厌氧条件下，微生物直接以 NH_4^+ 为电子供体，以 NO_2^-为电子受体，将 NO_2^-和 NH_4^+转变成 N_2的生物氧化过程。与传统生物脱氮途径相比，该工艺可以节省能耗，是一种经济有效的处理手段。

ANAMMOX 菌是一种生理生化特性较为特殊的古细菌，虽然在自然界中广泛存在，如土壤干湿界面、海底缺氧环境、海湾等，但因其生长缓慢、对氧气相当敏感严格厌氧，且只有在高浓度时才显示出活性，使得传统的微生物培养方法至今还没有获得 ANAMMOX 菌纯培养物[8]。厌氧氨氧化基础理论研究方面，对具厌氧氨氧化功能的细菌分类研究一直是重点之一，现代分子生物学技术在该领域起了至关重要的作用。

目前，用现代分子生物学技术，无需纯培养，已经鉴定出 5 类 ANAMMOX 菌种，分别为 *Candidatus* “*Brocadia anammoxidans*”，*Candidatus* “*Kuenenia stuttgartiensis*”，*Candidatus* “*Scalindua brodae*”，*Candidatus* “*Scalindua wagneri*”和 *Candidatus*“*Scalindua Sorokinii*”。其中 *Candidatus Brocadia anammoxidans* 由 Strous 等[9]最先发现并确定其 16S rDNA 序列及在细菌进化树上的位置， *B.anammoxidans* 的 16S rDNA 基因序列常被用来设计为特定的寡核苷酸探针，以用于荧光原位杂交(FISH)[10]。*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 被 Schmid 等[11]在德国几个污水处理厂中发现，它们的 16S rDNA 序列形成了一个明显独立的种群，其中有 85%的细菌与已发现的 *B.anammoxidans* 的 16S rDNA 序列相似性少于 90%，因而认为是一种新的厌氧氨氧化菌。Egli[12]在瑞士 Kolliken 附近处理有毒废物垃圾填埋场的生物转盘中富集到一种厌氧氨氧化菌，该细菌 16S

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

rDNA 序列与 *B.anammoxidans* 有 90.9%相似，而与 *K stuttgartiensis* 有 98.5%~98.9% 相似，命名为 K. stuttgartiensis 细菌。荷兰 Delft 技术大学 Markus Schmid 等学者[13]在英国 Pitsea 某一垃圾填埋场渗滤液中将具有厌氧氨氧化功能的细菌用厌氧氨氧化菌通用探针进行荧光原位杂交却没有探测到与该探针反应的细菌存在，而用浮霉菌目探针重复试验发现有 99%的细菌发生了反应，且这类细菌占全部细菌总数的 20%，进一步通过鉴定后发现这些细菌属于 2 个菌种，他们把这 2 种新的厌氧氨氧化菌命名为 *Candidatus* "*Scalindua brodae*" 及 "*Scalindua wagneri*"。与此同时，在黑海中也发现一种 Scalindua sorokinii 的细菌同样具有厌氧氨氧化功能[14]。这 5 类厌氧氨氧化菌由于至今仍未能分离得到纯菌株，尚未获得正式命名和分类。目前有研究表明，自然环境中还存在一种以前未被发现的可进行厌氧氨氧化的细菌[15]。

2.3 CANON/OLAND 工艺

CANON(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite)工艺首先由荷兰 Delft 大学提出，即一体化自养脱氮工艺。该工艺在一个反应器内通过控制溶解氧实现短程硝化和厌氧氨氧化 2 个脱氮过程。OLAND (oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification) 工艺 1998 年由比利时根特大学微生物生态实验室开发研制的，该工艺是利用普通硝化污泥在限氧条件下（溶解氧 0.1~0.3 mg/L），使硝化过程仅进行到亚硝酸盐氮阶段，无需外加碳源，实现生物脱氮在较低温度(22~30 ℃)下的稳定运行并去除富氮废水中氮的过程。虽然 OLAND 强调的是控制溶解氧，但从 OLAND 和 CANON 工艺各自反应条件与反应过程来看，二者属同一机理，只是冠名不同。

荷兰 Delft 大学针对 CANON 工艺内可能存在的功能菌应用 FISH 技术展开了研究[16]，研究结果显示系统中可能存在 3 种微生物：类亚硝化单胞菌的好氧氨氧化菌、类浮霉状菌的厌氧氨氧化菌以及氧化亚硝酸盐的硝化菌和硝化螺菌。Egli 等[17]通过分子生物学的方法，分析了生物膜 CANON 工艺的生物构成和基质代谢的途径。A Olav Sliekers 等[18-19]用荧光原位杂交技术监测全程自养脱氮反应器中的微生物，发现在反应器处于稳定阶段时即使在限制曝气的情况下，反应器中仍然存在有活性的厌氧氨氧化菌，不存在硝化菌。中国科学院应用生态研究所与比利时根特大学农业与应用生物技术学院合作[20]，应用荧光原位杂交技术，对 OLAND 生物脱氮系统硝化阶段不同时期硝化菌群的变化进行分子生物学检测，揭示了随溶氧浓度的降低，氨氧化菌的数量基本保持恒定、亚硝酸氧化菌的数量略有减少的变化规律，并且发现，在两阶段限氧自养硝化-反硝化生物脱氮系统中氨氮的氧化主要是由 *Nitrosomonas* sp.完成，亚硝酸的氧化主要由 *Nitrobacter* sp.完成。秦宇等[21-23]采用荧光定量 PCR 技术研究了溶解氧对单级自养脱氮系统功能菌数量的影响，同时通过 PCR-DGGE 技术对该系统进行微生物群落分析，结果表明，运行效能好的反应器活性污泥及生物膜浓度较高，微生物群落结构差异较大，溶解氧在活性污泥及生物膜内的分布特点为各类微生物及其代谢创造了良好环境，系统中好氧氨氧化菌 AOB 及厌氧氨氧化菌 ANAMMOX 在数量上绝对占优。

3 研究展望

近年来，分子生物学在基础理论及其技术开发应用方面均取得了突飞猛进的发展，该技术不断向生物科学的各个领域渗透，并为研究新型脱氮工艺微生态与微生物特性提供了强有力的方法和手段。

目前国际上多采用分子生物学手段对新型脱氮工艺的功能细菌进行鉴定，并在分子水平上阐述分子适应等生态问题的机制，而我国在这方面的研究中至今还仅停留在菌种的分离、纯培养和生理生化特性方面，很少涉及新型脱氮工艺微生物的分子生物学方面的工作。不仅与应用要求还有较大距离，而且与国外研究水平的差距也很大。新型脱氮工艺的分子生物学研究，即应用现代分子生物学技术，有目的地选择研究对象研究脱氮工艺的微生物生态结构和生态机制，为提高脱氮效率提供理论指导无疑将成为学者们今后研究的发展方向。此外，是否还存在其他的亚硝化菌、厌氧氨氧化菌等菌种，以及中间产物的形成机理等，尚有许多方面不清楚，需作进一步研究。随着分子生物学技术的发展及人们研究的深入，对新型脱氮工艺中参与反应的相关基因进行克隆，通过酶基因的改造，不仅可以提高脱氮的速度和效率，而且如将这些基因克隆到异养微生物中进行高效表达，便可以构建基因功能菌，这将为新型脱氮工艺的进一步实际应用开创一片新天地，这对更好地揭示新型脱氮工艺中微生物与环境之间的生态学关系以及为实现新型脱氮工艺系统的优化运行具有深刻的理论研究意义与实际应用价值。

[参考文献](References)

[1] Amann R I, Ludwig W, Schlefier K-H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation [J]. Microbiol Rew, 1995, 59(1): 143-169.

[2] Jetten M S M, Strous M, Pas-Schoonen K T, et al. The anaerobic

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

oxidation of ammonium [J]. FEMS Microbiol Rev, 1998, 22(5): 421-437.

[3] 龙华. 分子生物学的发展[J]. 生物学通报，2005, 40(5): 58-60.
Long Hua. The development of molecular biology [J]. Bulletin of biology, 2005, 40(5): 58-60. (in Chinese)

[4] 曾国驱，许玫英，梁燕珍，等. 亚硝化细菌的分离和特性的研究[J]. 生物技术，2005, 15(1): 27-28.
Zeng Guoqu, Xu Meiying, Liang Yanzhen, et al. Isolation and characterization of an ammonia-oxidizing bacterium [J]. Biotechnology, 2005, 15 (1): 27-28. (in Chinese)

[5] 郑金来，李君文. 几株亚硝化菌的筛选及初步鉴定[J]. 上海环境科学，2002, 21(5): 291-293.
Zheng Jinlai, Li Junwen. Screening and preliminary identification of several strains of nitroso-bacteria [J]. Shanghai Environment Sciences, 2002, 21(5): 291-293. (in Chinese)

[6] Susanne L. Molecular microbial diversity in a nitrifying reactor system without sludge retention [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1998, 27: 239-249.

[7] Mosquera-Corral A, Gonza´lez F, Campos J L, et al. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds [J]. Processes Biochemistry, 2005, 40(9): 3109-3118.

[8] Jetten M S M, Cirpus I, Kartal B, et al. 1994—2004: 10 years of research on the anaerobic oxidation of ammonium [J]. Biochem1 Soc Trans, 2005, 33: 119 -123.

[9] Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. Nature, 1999, 400(6743): 446-449.

[10] Van Dongen U, Jetten M S M, van Loosdrecht M C M. The SHARON-ANAMMOX process for treatment of ammonium rich wastewater [J]. Water Sci Technol, 2001, 44: 153-160.

[11] Schmid M. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation [J]. Syst Appl Microbiol, 2000, 23(1): 93-106.

[12] Egli K. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate [J]. Arch Microbiol, 2001, 175:198-207.

[13] Schmid M, Walsh K, Webb R, et al. Candidatus “Scalindua brodae”, sp. nov., Candidatus “Scalindua wagneri”, sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2003, 26(4): 529-538.

[14] Kuypers M M M, Sliekers A O, Lavik G, et al. Anaerobic ammonium oxidation by Anammox bacteria in the Black Sea [J]. Nature, 2003, 422: 608-611.

[15] 雒怀庆，胡勇有. 厌氧氨氧化污泥中效应菌的分子生物学研究[J]. 微生物学报，2005, 45(3): 335-338.
Luo Huaiqing, Hu Yongyou. Molecule biology study on the effective bacteria in ANAMMOX sludge [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(3): 335-338. (in Chinese)

[16] Third K A, Sliekers A O, Kuenen J G, et al. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: interaction and competition between three groups of bacteria [J]. System Appl Microbiol, 2001, 24(4): 588-596.

[17] 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]. Microb Ecol, 2003, 45(4): 419-432.

[18] Sliekers A O, Derwort N, Campos Gomez J L, et al. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. Water Reseach, 2002, 36(10): 2475 -2482.

[19] Sliekers A O, Third K A, Abma W. CANON and Aanammox in a gas-lift reactor [J]. FEMS Microbiology Letter, 2003, 218(2): 339-344.

[20] 张丹，徐慧，Van Cleemput Oswald，等. OLAND 生物脱氮系统运行及其硝化菌群的分子生物学检测[J]. 应用与环境生物学报，2003, 9(5): 530-533.
Zhang Dan, Xu Hui, LiuYaoping, et al. Performance and Molecular Monitoring of Nitrifying Bacteria in Nitrification Stage of OLAND System [J]. Chin J Appl Enrion Biol, 2003, 9(5): 530-533. (in Chinese)

[21] 秦宇，方芳，郭劲松，等. 溶解氧对单级自养脱氮系统功能菌数量的影响[J]. 微生物学报，2009, 49(6): 85-91.
Qin Yu, Fang Fang, Guo Jinsong, et al. Quantification of functional bacteria in one-step completely nitrogen removal process influenced by dissolved oxygen [J]. Acta Microbiological Sinica, 2009, 49(6): 85-91. (in Chinese)

[22] 秦宇，郭劲松，方芳，等. 溶解氧及曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构的影响[J]. 环境科学，2009, 30(2): 191-196.
Qin Yu, Guo Jinsong, Fang Fang, et al. Effect of DO and aeration/non-aeration ratio on the microbial community structure in One-step SBBR completely autotrophic nitrogen removal process [J]. Environment Science, 2009, 3030(2): 191-196. (in Chinese)

[23] 方芳，秦宇，郭劲松，等. 单级自养脱氮反应器效能与微生物群落结构的相关性[J]. 土木建筑与环境工程，2010, 32(3): 113-118.
Fang Fang, Qin Yu, Guo Jinsong, et al. Relationship between performance and microbial community structure of SBBR autotrophic nitrogen removal process [J]. Journal of Civil Architectural & Environmental Engineering, 2010, 32(3): 113-118. (in Chinese)

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net