

DOI:10.3880/j.issn.1004-6933.2018.01.15

养猪废水处理系统微生物群落结构变化及影响因素研究

翟一帆¹, 袁青彬², 胡南¹

(1. 南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏 南京 211800; 2. 南京工业大学环境工程学院, 江苏 南京 211800)

摘要:利用 Illumina 高通量测序技术对某养猪场不同处理单元细菌和真菌群落变化特征进行分析, 并采用冗余性分析方法考察其受水质参数的影响。结果表明:活性污泥各阶段主要细菌类群为变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和放线菌门 (Actinobacteria); 生物处理后, 变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度降低近 15%, 厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度从进水到出水降低了近 6%, 同时放线菌门 (Actinobacteria) 的相对丰度增加近 7%; 主要真菌类群为子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota) 和少量壶菌门 (Chytridiomycota)。值得注意的是处理后出水中仍含有丰度较高的曲霉属 (*Aspergillus*)、毛孢子菌属 (*Trichosporon*)、念珠菌属 (*Cladosporium*) 等真菌致病菌, 对后续环境和公共健康造成潜在威胁。养猪废水处理系统众多细菌和真菌群落的变化受水质参数 (主要是 COD 和氮) 的影响明显。

关键词:养猪废水; 活性污泥; 群落; 致病菌; 冗余性分析

中图分类号: X826 文献标志码: A 文章编号: 1004-6933(2018)01-0088-07

Study on structure variation and influencing factors of microbial community in swine wastewater treatment system

ZHAI Yifan¹, YUAN Qingbin², HU Nan¹

(1. College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211800, China; 2. College of Environment, Nanjing Tech University, Nanjing 211800, China)

Abstract: The characteristics of bacterial and fungal community changes in different treatment units of a pig farm was analyzed by Illumina high-throughput sequencing technologies. Their influence on those water quality parameters was inspected by means of redundancy analysis. The results show that the main bacterial groups in the activated sludge were *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Actinobacteria*; After biological treatment, the content of *Proteobacteria* decreased by nearly 15%, while the one of *Firmicutes* dropped by nearly 6% from incoming water to out water, and in the meantime the content of *Actinobacteria* increased by almost 7%; the main fungi groups are *Ascomycota*, *Basidiomycota* and a small amount of *Chytridiomycetes*. It's worth noting that after treatment, the effluent still contained abundant fungal pathogens such as *Aspergillus*, *Trichosporon* and *Cladosporium*, which can be potential threats to future environmental and public health. The variation of many bacterial and fungal community in swine wastewater treatment system is significantly affected by water quality parameters (mainly COD and nitrogen concentration).

Keywords: swine wastewater; activated sludge; community; pathogenic bacteria; redundancy analysis

作者简介: 翟一帆(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子生物学。E-mail: 173882961@qq.com

通信作者: 胡南, 副教授。E-mail: 19943254@qq.com

近年来,我国畜禽养殖业的迅猛发展极大促进了经济和社会的发展,但该过程中产生的各种畜禽废弃物,尤其是废水引发的环境污染问题也日趋严重。畜禽养殖废水中不仅常规污染物(如 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$)浓度高,而且含有大量的抗生素和各种病原菌,对生态安全和公共健康构成严重威胁^[1-4]。寻求适宜的废水处理方法已成为养殖场和污水处理行业共同关心的焦点。目前已开发出多种处理方法,包括活性污泥法、生物接触氧化法、SBR、A/O 及氧化沟等^[5-9]。但作为核心的生物处理单元,活性污泥法在当前养殖废水处理中应用较为广泛^[10-12]。活性污泥法对不同养殖废水具有适应范围广、处理效果好等优点,以厌氧-缺氧-好氧方式运行的活性污泥法对养殖废水中的氮磷有较好的脱除效果。

养殖废水处理系统中复杂的微生物种群对处理效果和后续出水安全性具有显著影响。据报道,养殖废水的微生物主要有硝化螺菌属、芽单孢菌属、子囊菌门等^[13],另外还存在弯曲杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等病原菌^[14-16]。目前对养殖废水处理过程中真菌类群的种类及其丰度变化的研究极少。另外,废水处理系统中微生物种类可能受到多种因素的影响^[17],从而对处理效果造成显著影响,但目前对养殖废水微生物的相关研究报道也很少。定量表征养殖废水处理过程中微生物种群变化的影响因素,对揭示微生物种群变化规律具有重要意义。

传统细菌培养法在前期的研究中应用较多^[18],然而据报道自然界中大多数的微生物属于不可培养细菌^[19],使得采用细菌培养法研究微生物种群缺乏全面和准确性。现代分子生物技术的建立,包括变性梯度凝胶电泳(DGGE)、荧光原位杂交(FISH)和高通量测序(High-throughput sequencing)技术等则极大提高了环境微生物种群鉴别的高效和准确性,在近来的研究中得到广泛应用^[17]。特别是基于Illumina 或 454 焦磷酸的高通量测序成为考察土壤、海洋、人类肠道微生物和活性污泥等多种复杂环境介质中细菌群落的有效方法^[23-26]。然而目前养殖废水处理系统中应用高通量测序的研究仍少见报道。笔者对宿迁市沐阳县某养猪废水处理系统微生物种群特征进行了研究,通过 Miseq 高通量测序分析各不同处理单元的细菌和真菌群落。为考察微生物种群的影响因素,采用冗余性分析考察了 TN、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 等常规水质指标对细菌和真菌相对丰度的影响,以期对养殖废水微生物的群落特征及其影响因素的研究提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 水样采集

样本取自宿迁市沐阳县某养猪场废水处理系统,该养猪场的生猪养殖规模约 10 000 头,废水排放量为 $150\text{ m}^3/\text{d}$ 。养猪场污水处理工艺经厌氧-缺氧-好氧塘处理后排放。取样时间为 2015 年 8 月中旬,取样点位包括进水口、厌氧池、缺氧池、好氧曝气池和出水口。每个点位废水取 4 000 mL 置于 5 000 mL 无菌 PV 瓶,取样后密封放入冰桶中,4 h 内运至实验室进行后续分析。

1.2 微生物群落分析

1.2.1 DNA 提取

收集的水样通过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜进行过滤,滤膜剪碎后置于 DNA 提取管。采用 E. Z. N. A. ® Soil DNA Kit(OMEGA)土壤 DNA 提取试剂盒进行提取,提取过程参照操作说明书进行。提取的 DNA 用琼脂糖凝胶电泳(Biolab, USA)进行鉴定,并用微量分光光度计(NanoDrop 8000, NanDrop Technologies, Willmington, USA)测定浓度。

1.2.2 高通量测序

将提取的 DNA 样品为 PCR 扩增细菌的 16S 和真菌的 18S,引物为细菌:515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),真菌:ITS1F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。PCR 采用 TransStartFastpfu DNA Polymerase, 20 μL 反应体系:4 μL 5 × FastPfu Buffer, 2 μL 2.5 mmol/LdNTP, 0.8 μL 正向和反向引物(5 $\mu\text{mol/L}$), 0.4 μL FastPfu Polymerase, 1 μL DNA, 补 ddH₂O 至总体积为 20 μL 。PCR 送至深圳恒创基因有限公司,采用 Illumina MiSeq 高通量 DNA 测序平台进行测序。测序数据通过 GreenGene (16S、叶绿体、线粒体), RDP (16S), Silva(18S), Unite(ITS)数据库比对获得物种注释信息(置信度阈值默认为 0.8 以上)。采用 KRONA、Mega 4.0/BioEdit 软件构建系统发育树,采用 UPGMA (Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Mean)聚类分析方法构建样品的聚类树。

1.3 水质检测

为考察常规水质指标对细菌和真菌群落分布的影响,分别测定各水样的常规水质参数,包括 pH、TN、COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和异养菌总数。pH 值采用标准型酸度计(PB-10/C)测定, TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894—

89)测定;COD 采用快速消解分光光度法(HJ/T 399—2007)测定, NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 分别采用 HJ/T 346—2007 和 GB 7493—87 中的紫外分光光度法测定。

1.4 冗余性分析

使用 Canoco 4.5 研究微生物种群和水质因子间的相关性。首先,对物种矩阵进行趋势分析,得出第一排序轴长度相对较短 (<4),所以选用线性模型冗余性分析法对物种组成数据与堆肥环境因子进行多元相关性分析;再采用手动选择方式,用 Monte Carlo permutation test 检验显著性,置换次数为 999,找出显著影响 ($P < 0.05$) 和极显著影响 ($P < 0.01$) 菌群结构变化的环境因子;最后用 Canodraw 4.5 作图,直观展示相关性结果。

2 结果与讨论

2.1 细菌群落的空间分布特征

对各点位细菌群落的监测表明主要门类为变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和放线菌门 (Actinobacteria) 等。其中变形菌门 (Proteobacteria) 最丰富, 5 个位点的平均相对丰度达 55.56%; 其次是厚壁菌门 (Firmicutes), 5 个位点的平均相对丰度达 16.84%, 拟杆菌门和放线菌门 (Actinobacteria) 平均相对丰度分别为 11.97% 和 3.29%; 其他含量较高的门类包括酸杆菌门 (Acidobacteria)、互养菌门 (Synergistetes)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、绿菌门 (Chlorobi)、浮霉菌门 (Planctomycetes) 等。

进水中变形菌门相对丰度为 56.74%,是最丰富的门类,从图 1 可见,主要有弓形杆菌属(*arcobacter*, 0.96%)和不动杆菌属(*acinetobacter*, 1.06%)。厚壁菌门其次(18.46%),从具体种属看,主要有葡萄球菌属(*turcibacter*)、SMB53、互营单孢菌属(*syntrophomonas*)和消化链球菌属(*sedimentibacter*),其含量分别为 1.73%、0.67%、2.34%和 3.02%。

活性污泥中细菌群落相比进水发生了明显的变化。变形菌门仍为最主要的门类,且其相对丰度进一步增至 66.21%,这与近几年文献^[10]的报道相符。从具体种类看, α -变形菌纲(Alphabacteria)、 γ -变形菌纲(Gamaproteobacteria)、 ϵ -变形菌纲(Epsilonproteobacteria)分别占 3.57%、6.32% 和 5.62%。假单胞菌属(*Pseudomonadale*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等优势菌属均属于 γ -变形菌纲。

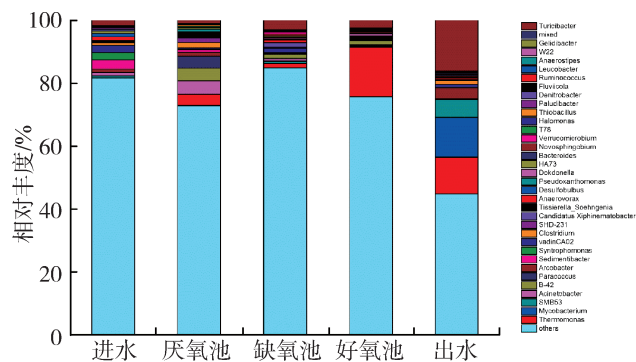


图1 养殖废水处理系统各位点细菌在属分类的相对丰度

(Gamaproteobacteria),在活性污泥中所占比例较大(图1)。在厌氧池和缺氧池中,副球菌属(*paracobacter*)、弓形杆菌属(*arcobacter*)、不动杆菌属(*acinetobacter*)和热厌氧单孢菌属(*themonmonas*)为优势菌属,在活性污泥中的相对丰度分别为1.88%、0.71%、2.51%和2.40%。厚壁菌也是在活性污泥中相对丰度较高的种类,为13.07%。从具体种属看,芽孢杆菌属(*Bacilli*)和梭状芽孢杆菌属(*Clostridia*)相对丰度较高。在好氧池中,葡萄球菌属和SMB53相对丰度较高,分别为2.29%和0.27%。在缺氧池和厌氧池中,芽孢杆菌属(*Bacilli*)占2.53%,梭状芽孢杆菌属(*Clostridia*)占0.96%。芽孢杆菌(*Bacilli*)可以转化吸收畜禽养殖废水中的氮元素,促进硝化作用,降低 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量,同时产生淀粉酶和蛋白酶分解养殖废水中的有机大分子,对养殖废水有较高的净化能力。在厌氧池和缺氧池中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)、假黄单孢菌属(*Pseudoxanthomonas*)、T-74等丰度较高,在曝气池中疣微菌属(*Verrucomicrobium*)、*Dokdonella*、鞘脂单孢菌属(*Novosphingobium*)等丰度较高,并一直增加。从细菌多样性数据看,活性污泥S-H指数由进水的4.518增至5.323,表明多样性程度显著提高。

生物处理后,变形菌门在出水中含量显著下降,相对丰度为 41.03%。弓形杆菌属(*Arcobacter*)在出水中的丰度较高。类似地,厚壁菌门(*Firmicutes*)的相对丰度同样降至 26.27%,拟杆菌门的相对丰度下降至 8.19%。可能这两类细菌主要在生物处理单元发挥降解污染物质的功能,从而在出水中相对丰度降低。相比之下,放线菌门(*Actinobacteria*)的相对丰度增至 12.98%,盐单孢菌属(*Halomonas*)和分支杆菌属(*Mycobacterium*)等在出水中的相对丰度较高。这可能是因为放线菌门多为自养型,自身对营养物质需求不高,所以出水中营养物质降低,放线菌门的含量升高。

2.2 真菌群落的空间分布特征

养殖废水系统各点位真菌共检测到 3 个门、34 个属,分别为子囊菌门(Ascomycota)(29.72%)、担子菌门(Basidiomycota)(9.8%)和少量壶菌门(Chytridiomycota)。其中相对丰度较高的属有支顶孢属(*Acremonium*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、青霉菌属(*Penicillium*)、念珠菌属(*Candida*)、毛孢子菌属(*Trichosporon*)、马拉色霉菌属(*Malassezia*)、红酵母属(*Rhodotorula*)、轮枝孢菌属(*Verticillium*)、单端孢属(*Trichothecium*)、分子孢子属(*Cladosporium*)、茎点霉属(*Phoma*)和盘二孢菌属(*Marssonina*)等。

进水中子囊菌门相对丰度为 39.12%,是最丰富的门类,其中念珠菌属占 20.63%,支顶孢属占 3.79%;担子菌门的相对丰度为 18.75%,其中马拉色霉菌属占 0.21%,红酵母属占 2.40%,毛孢子菌属占 16.27%(图 2)。

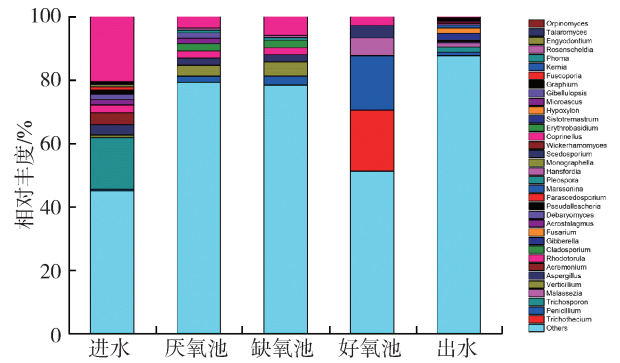


图2 养殖废水处理系统各位点真菌在属分类的相对丰度

活性污泥中真菌群落相比进水发生显著改变。子囊菌门仍为最主要的门类,但其含量在厌氧池和缺氧池中减少至 22.27%,而在好氧池中其相对丰度上升至 53.22%,这意味着在好氧池中有大量好氧真菌繁殖。值得注意的是,子囊菌门中曲霉菌属(*Aspergillus*)在活性污泥中相对丰度为 0.06%,据报道黄曲霉(*aspergillus flavus*)中的黄曲霉素对人体十分有害,少量可致死。从具体分布看,曲霉菌属在厌氧池中的相对丰度尤为突出,几乎是其他点位的2~3倍^[27]。

另外,担子菌门(Basidiomycota)中的毛孢子菌属(*Trichosporon*)、马拉色霉菌属(*Malassezia*)在厌氧池和缺氧池中相对丰度很小,而在好氧池中分别达 19.26%、5.61%,据报道上述菌属可导致人畜皮肤病的感染。枝孢子菌属(*Cladosporium*)在厌氧池和缺氧池中相对丰度较高,达 2.23%,但在好氧池中几乎无检出。枝孢子菌属(*Cladosporium*)会导致麦类的黑变^[28-29]。从真菌多样性数据看,活性污泥 S-H 指数由进水的 5.252 降至 3.292,表明多样性程

度显著降低。

生物处理后出水中子囊菌门相对丰度显著降低至 9.94%。同样地,担子菌门的相对丰度降至 4.17%。念珠菌属、青霉菌属、红酵母属等相对丰度也相应降低。相比之下,小麦赤霉菌属(*Gibber*)和盘二孢菌属(*Marssonina*)在进水和活性污泥中未检出,而在出水中相对丰度分别为 2.16% 和 0.95%,这意味着养殖废水经处理后可能产生新的真菌类群,这可能和出水水质条件变化有关。另外,出水中曲霉菌属仍占 0.34%~0.45%,马拉色霉菌属仍占 1.22%~1.47%,青霉菌属仍占 0.93%~1.09%,毛孢子菌属仍占 1.52%~1.64%,这意味着养殖废水中致病真菌可能排放到后续环境中,但目前国家暂未对水处理后致病菌的排放指标严格规定。

综合上述研究发现,不同的废水处理阶段优势菌属不尽相同。处理后出水中的细菌群落和活性污泥中具有明显差异。活性污泥处理对禽畜养殖废水中的致病菌有显著的减量作用,但是并不能彻底去除或降低至相对可忽略的水平,尤其出水中仍可检出几种致病真菌,其对后续生态环境和公共健康的影响不容忽视。

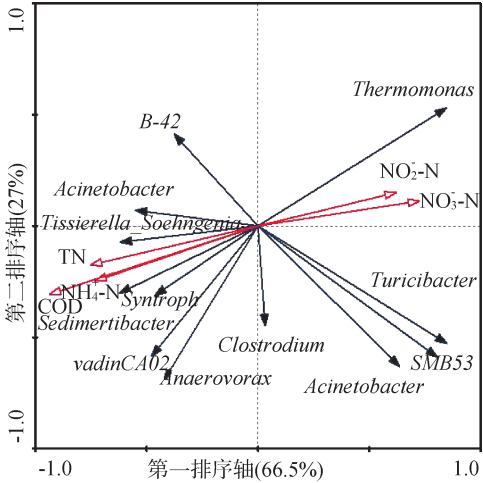
2.3 污水水质对养猪废水处理系统细菌和真菌群落分布的影响

经过生物处理后,养猪废水的 COD 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 都得到显著的改善,去除率分别为 96.04% 和 88.91%(表 1)。在 COD 脱除方面,厌氧阶段 COD 的吸收量增多,养猪废水为活性污泥中的菌群提供了大量的碳源和营养物质^[30-31]。在脱氮方面,TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在缺氧池和好氧池中的水平相差不大,可能是好氧池吹脱产生的氮气,强化污泥的沉淀效果,防止了硝化反应的发生,而缺氧池进行了反硝化反应,从而提高了整个养猪废水的水质^[32]。

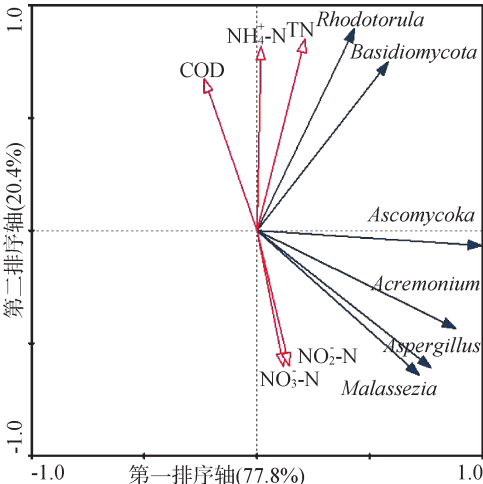
表 1 各点位的水质指标值					mg/L
指标	$\rho(\text{TN})$	$\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})$	$\rho(\text{NO}_3^-\text{-N})$	$\rho(\text{NO}_2^-\text{-N})$	$\rho(\text{COD})$
进水	658.75	629.10	1.84	0.01	8203.18
厌氧池	406.53	408.65	1.90	0.03	7645.14
缺氧池	296.25	142.97	10.01	1.72	4499.22
好氧池	257.36	72.70	10.40	1.62	568.75
出水	189.35	69.72	11.08	1.56	424.55

采用冗余性分析对细菌和真菌主要菌属相对丰度受水质指标的影响进行了分析。细菌中选取了相对丰度大于 1% 的类型,包括 SMB53、B-42、热单胞菌属(*Thermomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、弓形杆菌属(*Arcobacter*)、互营单胞菌属

(*Syntrophomonas*)、梭菌属 (*Clostridium*) 等;真菌中选取了毛孢子菌属 (*Trichosporon*)、念珠菌属 (*Candida*)、马拉色霉菌属 (*Malassezia*)、枝孢菌属 (*Cladosporium*)、支顶孢菌属 (*Acremonium*);水质参数包括 COD、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 。结果见图 3。结果发现,细菌方面变形菌门 (*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*) 中的几个相对丰度较高的菌与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度呈正相关 (图 3 (a)),随着 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度的增加,芽孢杆菌 (*Bacilli*)、假单胞菌 (*Pseudomonadale*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*) 等的相对丰度提高,这可能是由于在厌氧池和缺氧池中硝化细菌的大量生长,能够降低 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度,同时消耗有机物作碳源。而绿弯菌门 (*chloroflexi*) 和疣微菌门 (*Verrucomicrobia*) 中的绿弯菌属 (*Chloroflexus*) 和疣微菌属 (*Verrucomicrobium*) 与 TN、COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈负相关,有可能是因为反硝化细菌进行反硝化脱氮反应。



(a) 细菌



(b) 真菌

图 3 养殖废水中细菌和真菌主要菌属相对丰度与污水水质参数间的冗余性分析关系图

真菌方面,曲霉属 (*Aspergillus*)、青霉属 (*Penicillium*)、念珠菌属 (*Candida*)、马拉色霉菌属 (*Malassezia*) 等真菌与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度呈正相关,而和 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度呈显著负相关 (图 3 (b))。这些真菌有可能和硝化作用相关,在将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 氧化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的同时降解有机物。

通过上述分析发现,养猪污水的处理过程中众多细菌和真菌群落的变化可能受水质参数 (主要是 COD 和氮) 变化的明显影响。对于养猪废水处理,创造合理的生存条件,促进微生物特别是功能菌的增殖,最大程度发挥降解有机物和脱除氮的功能,可能是提高其处理效果的有效途径。

3 结 论

畜禽废水处理厂活性污泥中具有极其丰富的生物多样性,细菌域中变形菌门 (55.56%)、厚壁菌门 (16.84%)、拟杆菌门 (11.97%) 和放线菌门 (3.29%) 丰度较高。变形菌门为活性污泥中最主要的门类,经生物处理后,弓形杆菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属等的相对丰度大幅度下降。在出水中,厚壁菌门中的芽孢杆菌属、梭状芽孢杆菌属的相对丰度也有显著降低。拟杆菌门的相对丰度同样显著下降。相比之下,放线菌门的相对丰度经过生物处理后小幅增加,盐单胞菌属和分枝杆菌属等的相对丰度在出水中相对较高。

在真菌域中子囊菌门 (29.72%)、担子菌门 (9.8%) 和壶菌门相对丰度较高。同时还在活性污泥中检测到曲霉菌属、葡萄球菌属、马拉色霉菌属、盘二孢菌属等能产生大量有害真菌的菌属。生物处理后出水中子囊菌门、担子菌门的相对丰度显著降低。念珠菌属、青霉菌属、马拉色霉菌属、毛孢子菌属、红酵母属等相对丰度也相应降低。同时,在出水中还检测出了新的菌属,如小麦赤霉菌属和盘二孢菌属。从出水各个菌属相对丰度看,活性污泥法处理养殖废水并不彻底,曲霉菌属、青霉菌属、马拉色霉菌属等中的致病菌将随着污水外排进入到后续环境。加强畜禽养殖行业监管、提高畜禽养殖废水处理效率以最大程度降低养殖废水环境和公共健康威胁刻不容缓。

参考文献:

[1] 陈峻峰,颜智勇,邵继海,等.金霉素对畜禽养殖废水厌氧生物处理及细菌多样性的影响[J].净水技术,2014,33(2):76-80. (CHEN Junfeng, YAN Zhiyong, SHAO

- Jihai, et al. Effect of Chlortetracycline on bacterial diversity and anaerobic biological treatment for livestock wastewater [J]. Water Purification Technology, 2014, 33 (2):76-80. (in Chinese))
- [2] 段妮娜,董滨,何群彪,等. 规模化养猪废水处理模式现状和发展趋势 [J]. 净水技术, 2008, 27 (4): 9-15. (DUAN Nina, DONG Bin, HE Qunbiao, et al. Current status and advances in swine wastewater treatment technology for scaled hogger [J]. Water Purification Technology, 2008, 27(4): 9-15. (in Chinese))
- [3] 童朝锋,岳亮亮,郝嘉凌,等. 南京市外秦淮河水质模拟及引调水效果 [J]. 水资源保护, 2012, 28 (6): 49-54. (TONG Chaofeng, YUE Liangliang, HAO Jialing, et al. Water quality simulation and water diversion effect analysis of external Qinhuai River in Nanjing [J]. Water Resources Protection, 2012, 28(6): 49-54. (in Chinese))
- [4] 张红举,甘升伟,袁洪州,等. 环太湖河流入湖水质控制浓度分析 [J]. 水资源保护, 2012, 28 (6): 8-11. (ZHANG Hongju, GAN Shengwei, YUAN Hongzhou, et al. Analysis of controlled concentration of water quality of rivers around Taihu Lake [J]. Water Resources Protection, 2012, 28(6): 8-11. (in Chinese))
- [5] 高廷耀,顾国维,周琪. 水污染控制工程(下册) [M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,1999.
- [6] 余淦申. 生物接触氧化处理废水 [M]. 北京:环境科学出版社,1990.
- [7] 孟祥至,孟昭福,赵君楠,等. 进水氨氮浓度对 SBR 法处理猪场废水的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2013, 32 (8): 1656-1663. (MENG Xiangzhi, MENG Zhaofu, ZHAO Junnan, et al. Effect of influent concentrations of ammoniacal nitrogen on SBR treatment for swine wastewater [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(8): 1656-1663. (in Chinese))
- [8] ESTRADA-ARRIAGA E B, RAMIREZ-CAMPEROS E, MOELLER-CHAVEZ G E, et al. Anaerobic/aerobic treatment of a petrochemical wastewater from two aromatic transformation processes by fluidized bed reactors [J]. Water Science & Technology, 2012, 66(12): 2754-2763.
- [9] 区岳州. 氧化沟污水处理技术及工程实例 [M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- [10] LIDONG S, ANHUI H, RENCUN J, et al. Enrichment of anammox bacteria from three sludge sources for the startup of monosodium glutamate industrial wastewater treatment system [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 199/200 (2): 193-199.
- [11] WAKI M, YASUDA T, SUZUKI K, et al. Rate determination and distribution of anammox activity in activated sludge treating swine wastewater [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(8): 2685-90.
- [12] 操家顺,陆晓光,方芳. 浸没式超滤膜用于污水处理厂深度处理的试验 [J]. 水资源保护, 2013, 29(3): 61-65. (CAO Jiashun, LU Xiaoguang, FANG Fang. A pilot study on submerged ultrafiltration membrane for advanced treatment of wastewater in wastewater treatment PLANTS [J]. Water Resources Protection, 2013, 29 (3): 61-65. (IN CHINESE))
- [13] 马牧源,崔丽娟,张曼胤,等. 白洋淀养鸭废水水质组成及其扩散和消减特征 [J]. 水资源保护, 2017, 33(5): 145-153. (MA Muyuan, CUI Lijuan, ZHANG Manyin, et al. Water quality composition of duck farm wastewater in Baiyangdian Lake and its diffusion and reduction characteristics [J]. Water Resources Protection, 2017, 33 (5): 145-153. (in Chinese))
- [14] LUND M, MADSEN M. Strategies for the inclusion of an internal amplification control in conventional and real time PCR detection of Campylobacter spp in chicken fecal samples [J]. Molecular & Cellular Probes, 2006, 20(2): 92-99.
- [15] KUROWSKI P B, TRAUB-DARGATZ J L, MORLEY P S, et al. Detection of Salmonella spp in fecal specimens by use of real-time polymerase chain reaction assay [J]. American Journal of Veterinary Research, 2002, 63(9): 1265-1268.
- [16] SABET N S, SUBRAMANIAM G, NAVARATNAM P, et al. Detection of methicillin and aminoglycoside-resistant genes and simultaneous identification of S. aureus using triplex real-time PCR Taqman assay [J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 68(1): 157-162.
- [17] YUAN Q, GUO M, YANG J, et al. The sludge loading rate regulates the growth and release of heterotrophic bacteria resistant to six types of antibiotics in wastewater activated sludge [J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2014, 17(1): 206-212.
- [18] LIAWR B, CHENG M P, WU M C, et al. Use of metagenomic approaches to isolate lipolytic genes from activated sludge [J]. Bioresource Technology, 2010, 101 (21): 8323-8329.
- [19] GARCIAARMISEN T, ANZIL A, CORNELIS P, et al. Identification of antimicrobial resistant bacteria in rivers: insights into the cultivation bias [J]. Water Research, 2013, 47(14): 4938-4947.
- [20] 贺纪正, 张丽梅, 沈菊培, 等. 宏基因组学 (Metagenomics) 的研究现状和发展趋势 [J]. 环境科学学报, 2008, 28 (2): 209-218. (HE Jizheng, ZHANG Limei, SHEN Jupei, et al. Advances and perspectives of Metagenomics [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(2): 209-218. (in Chinese))
- [21] MARDIS E R. A decade's perspective on DNA sequencing technology [J]. Nature, 2011, 470: 198-203.
- [22] NEAFSEY D E, HAAS B J. 'Next-generation' sequencing becomes 'now-generation' [J]. Genome Biology, 2011, 12 (3): 1-3.

[23] QIN J, LI R, RAES J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. Nature, 2010, 464: 59-65.

[24] METCALF W W, GRIFFIN B M, CICCHILLO R M, et al. Synthesis of methylphosphonic acid by marine microbes: a source for methane in the aerobic ocean [J]. Science, 2012, 337: 1104-1107.

[25] MACKELPRANG R, WALDROP M P, DEANGELIS K M, et al. Metagenomic analysis of a permafrost microbial community reveals a rapid response to thaw [J]. Nature, 2011, 480: 368-371.

[26] WARNECKE F, LUGINBÜHL P, IVANOVA N, et al. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite [J]. Nature, 2007, 450: 560-565.

[27] 安虹, 邹广迅. 黄曲霉素毒性效应机制的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (24): 15007-15009. (AN Hong, ZOU Guangxun. Research progress of toxicological effects and mechanism of aflatoxin [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39 (24): 15007-15009. (in Chinese))

[28] 熊琳, 冉玉平, 周光平. 马拉色菌属的分类及其在几种皮肤病的分布情况 [J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33 (5): 318-320. (XIONG Lin, RAN Yuping, ZHOU Guangping. Study on taxonomy of the genus *Malassezia* and the distribution of it in some dermatoses [J]. Chinese Journal of Dermatoses, 2000, 33 (5): 318-320. (in Chinese))

[29] 龚弘强. 西藏地区青稞籽粒镰孢属真菌及其致病性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

[30] 于洋, 王晓燕, 张鹏飞. 北运河水体浮游细菌群落的空间分布特征及其与水质的关系 [J]. 生态毒理学报. 2012, 7 (3): 337-344. (YU Yang, WANG Xiaoyan, ZHANG Pengfei. Spatial distribution of planktonic bacterial community and its relationship to water quality in Beiyun River [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7 (3): 337-344. (in Chinese))

[31] 吴霞, 谢悦波. 直接投菌法在城市重污染河流治理中的应用研究 [J]. 环境工程学报, 2014, 8 (8): 3331-3336. (WU Xia, XIE Yuebo. Application of directly adding microbial agent to improve water quality of heavily polluted urban river [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8 (8): 3331-3336. (in Chinese))

[32] 王亮. 规模化猪场养殖废水高效脱氮除磷技术探究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013.

(收稿日期: 2017-04-14 编辑: 徐 娟)

(上接第 87 页)

[12] 朱树峰, 于茵, 胡洪营. 混合培养对城市污水厂二级出水培养能源微藻的生长促进作用 [J]. 生态环境学报, 2014, 23 (4): 642-648. (ZHU Shufeng, YU Yin, HU Hongying. Effects on the growth characteristic by mixed culture of three energy microalgae species using domestic secondary effluent [J]. Ecology and Environmental Science, 2014, 23 (4): 642-648. (in Chinese))

[13] HUNER N P A, WILSON K E, MISKIEWICZ E, et al. Regulation of light harvesting in photosystem II of plants, green algae and cyanobacteria [M]. Singapore: World Scientific Publishers, 2015: 97-142.

[14] DESHMANE A, NIMBALKAR D, NIKAM T D, et al. Exploring alternative treatment method for sugar industry effluent using “*spirulina platensis*” [J]. Sugar Technology, 2016, 18 (1): 105-108

[15] 陈春云, 庄源益, 方圣琼. 小球藻对养殖废水中 N、P 的去除研究 [J]. 海洋环境科学, 2009, 28 (1): 9-11. (CHEN Chunyun, ZHUANG Yuanyi, FANG Shengqiong. Study on N, P removed in culturing wastewater by *Chlorella* [J]. Marine Environmental Science, 2009, 28 (1): 9-11. (in Chinese))

[16] 王伟伟, 陈书秀, 钱瑞, 等. 海水养殖废水预处理方法与微藻藻种筛选 [J]. 水产科学, 2014, 33 (3): 181-185. (WANG Weiwei, CHEN Shuxiu, QIAN Rui, et al. Mariculture effluent pretreatment methods and screening of microalgae [J]. Fisheries Science, 2014, 33 (3): 181-185. (in Chinese))

[17] 胡开辉, 朱行, 汪世华, 等. 小球藻对水体氮磷的去除效率 [J]. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2006, 35 (6): 648-651. (HU Kaihui, ZHU Hang, WANG Shihua, et al. The removal effect of *Chlorella vulgaris* growth on nitrogen and phosphorus [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2006, 35 (6): 648-651. (in Chinese))

[18] SKRUPSKI B, WILSON K E, GOFF K L, et al. Effect of pH on neutral lipid and biomass accumulation in microalgal strains native to the Canadian prairies and the athabasca oil sands [J]. Journal of Applied Phycology, 2013, 25 (4): 937-949.

[19] MICHELON W, DA S M, MEZZARI M P, et al. Effects of nitrogen and phosphorus on biochemical composition of microalgae polyculture harvested from phycoremediation of piggery wastewater digestate. [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 178 (7): 1-13.

[20] 赵昕宇, 廖利民, 成杰, 等. 基于斜生栅藻培养的城市生活废水资源化利用研究 [J]. 水资源保护, 2016, 32 (3): 44-49. (ZHAO Xinyu, LIAO Limin, CHENG Jie, et al. Resource utilization of urban sewage water based on cultivation of *Scenedesmus obliqua* [J]. Water Resources Protection, 2016, 32 (3): 44-49. (in Chinese))

(收稿日期: 2017-02-08 编辑: 王 芳)