

高效除磷菌 P7 的生长特征及除磷性能研究

亢 涵¹, 藏春月¹, 焦 洋², 唐 婧¹, 李 玲¹

(1. 沈阳建筑大学市政与环境工程学院, 辽宁 沈阳 110168;

2. 沈阳建筑大学建筑与规划学院, 辽宁 沈阳 110168)

摘 要 目的 获取除磷菌纯菌株 P7, 研究其生长特性和除磷性能. 方法 从运行良好的生物除磷反应器中分离出一株高效除磷菌株 P7, 对该菌株进行除磷能力检测、生理生化鉴定、16S rRNA 基因比对、生长曲线监测和除磷条件优化等. 结果 经鉴定菌株 P7 为假单胞菌, Genbank 登记号为 KX181642. 在不同温度条件下菌株 P7 均能较好增殖, 生长曲线出现了比较明显的迟缓期、对数期, 适宜生长温度为 25 ~ 35 ℃, 最佳生长温度为 35 ℃, 当 pH 为 6 ~ 8 时, 菌株 P7 的生长曲线比较典型, 最佳生长 pH 值为 7; 菌株 P7 在不同温度条件下的磷酸盐去除率均在 60% 以上, 最佳除磷温度为 30 ℃, 此时磷酸盐去除率达到最大值 98.1%, 最佳除磷 pH 值为 7. 结论 菌株 P7 与其他除磷菌株相比每小时吸磷率最大、最大吸磷量均处于中上水平, 除磷能力较高.

关键词 生物除磷; 假单胞菌; 生长曲线; 除磷性能

中图分类号 X172

文献标志码 A

The Growth Characteristics and the Phosphorus Removal Performance of Efficient Phosphorus Removal Bacteria P7

KANG Han¹, ZANG Chunyue¹, JIAO Yang², TANG Jing¹, LI Ling¹

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Shenyang Jianzhu University, Shenyang, China 110168; 2. School of Architecture and Urban Planning, Shenyang Jianzhu University, Shenyang, China 110168)

Abstract: A high efficiency phosphorus removal bacteria pure strain P7 was isolated from the biological phosphorus removal reactor in laboratory. The strain P7 was *Pseudomonas* sp. after physiological and biochemical identification and 16S rRNA gene comparison. Genbank registration number was KX181642. The effects of different temperature and pH on the growth characteristics of strain P7 showed that, strain P7 proliferated good under different temperature conditions. And the growth curve of strain P7 showed a lag phase and logarithmic phase obviously under suitable growth temperature range of 25 ℃ ~ 35 ℃. The suitable pH of strain P7 was 6 ~ 8. The phosphorus removal rate of strain P7 was studied under different temperature and pH conditions. The phosphor-

收稿日期: 2017-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(51308354); 辽宁省教育厅项目(LJZ2016003)

作者简介: 亢涵(1982—), 女, 博士, 主要从事微生物生理生态, 水资源规划与污染防治研究.

us removal rate of strain P7 was above 60% under different temperature conditions, and the maximum phosphorus removal rate was 98.1% at 30 ℃ and pH 7. In summary, the optimal growth temperature of strain P7 is 35 ℃, the optimum growth pH was 7, the best removal temperature was 30 ℃, and the optimum pH was 7. Compared with other phosphorus removal bacteria, the phosphorus removal capacity of strain P7 was higher.

Key words: biological phosphorus removal; *pseudomonas* sp. ; growth curve; phosphorus removal ability

我国水体污染严重,全国主要流域的Ⅰ~Ⅲ类水质断面占 64.2%,劣Ⅴ类占 17.2%,56 个湖(库)的营养状态监测显示,中度富营养的 3 个,占 5.2%;轻度富营养的 10 个,占 17.2%^[1]. 磷酸盐作为水体污染源是导致水体富营养化的主要原因之一. 生物法因其绿色环保、不产生二次污染、高效的同时还可循环利用等特点,被广泛应用于污水处理厂的磷酸盐处理当中. 生物法除磷的发展历史悠久,20 世纪 60 年代科学家在运行反应器的过程中观察到超量吸磷现象^[2]. J. L. BARNARD 等^[3]认为这是一种除磷的新方法,因此设计了一系列反应器设施,经过调试反应器运行参数的实验,改进和发展了这种除磷方法,并逐渐建立起生物除磷工艺的概念. 后来有学者从深层次揭示了这一现象的原因,认为活性污泥中存在着除磷微生物,能在特定情况下吸收超过其正常生长繁殖所需磷量,并将磷转化为聚合形态贮藏在体内^[4]. 为了获取这类除磷微生物,1975 年科学家首先尝试从污泥中分离出聚磷菌^[5],分离得到的菌种中不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)是最多的,当时其他研究人员也在污泥中筛得了 *Acinetobacter* spp.,因此认为 *Acinetobacter* spp. 是聚磷菌^[6-9]. 但有学者在研究生物除磷反应器活性污泥中的微生物时发现,不动杆菌属只占总菌量的 1%~10%^[6]. 还有学者利用荧光抗体技术检测污泥中的 *Acinetobacter* spp. 发现,在反应器中占主导地位的数量与总菌量的比值小于 10%^[6]. 有报道称,在 A/O 生物除磷反应器的活性污泥中不动杆菌属只占 1%

左右^[6]. 在后续实验中研究人员发现,不动杆菌属并不是 EBPR 系统的特有菌属^[10],它也不是生物除磷系统中唯一的聚磷菌,而其他种属的聚磷菌仍需继续研究和发现. 为了获取聚磷菌纯菌株,笔者从运行良好的生物除磷反应器中筛选得到高效除磷纯菌株 P7,并研究不同条件下纯菌株的生长特征与除磷特性,此研究结果为进行后续纯菌液投加反应器实验提供基础数据与理论依据.

1 实验

1.1 实验材料

1.1.1 菌种来源

从实验室运行良好的生物除磷 SBR 反应器中经富集、初筛、复筛和除磷能力检测之后,得到一株高效除磷菌株 P7.

1.1.2 培养基

分离培养基、综合培养基、微量元素液和维生素液等按照文献[11]中描述进行配制.

1.2 实验方法

1.2.1 菌株生理生化鉴定

取对数生长期的菌株进行革兰氏染色、鞭毛染色、芽孢染色,并在显微镜下观察细菌的形态特征. 参照《常见细菌系统鉴定手册》^[12],对菌株进行生理生化鉴定. 其中包括革兰氏染色、甲基红和 VP 反应检测、接触酶和氧化酶检测、吲哚反应、淀粉水解和明胶液化检测.

1.2.2 异染颗粒染色

将菌液涂布在洗净消毒的载玻片上,自然风干,滴加奈瑟染液甲液于载玻片上,15~30 s 后水洗风干,用奈瑟染液乙复染 10~30 s,用水洗净风干后,在电镜下观察异染颗

粒的分布情况.

1.2.3 菌株 16S rRNA 基因扩增及分析

采用上海华舜生物工程有限公司生产的细菌 DNA 小量抽提试剂盒提取 DNA,并进行 PCR 扩增.用于 16S rRNA 基因扩增的 PCR 反应引物为通用引物:正向引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';反向引物 1 492 R:5'-GGTTACCTTGTTACGACT T-3'.PCR 反应体系(50μL)为:10 × Buffer 5 μL,dNTPs(2.5 mmol/L)4 μL,rTaq DNA 酶(5 U/μL)0.2 μL,引物 1(27f)1 μL,引物 2(1 492 r)1 μL,模板 2 μL,dd H₂O 37 μL. PCR 扩增条件:95 ℃ 预变性 5 min;(94 ℃ 变性 1min,53 ℃ 退火 1min,72 ℃ 延伸 3 min)30 个循环;72 ℃ 最终延伸 10 min.4 ℃ 保温.将 PCR 产物纯化后进行连接转化.

1.2.4 16S rRNA 序列比对与系统发育分析

将测序所得序列提交 BLAST 进行 16S rRNA 序列分析,从结果中得到菌株的种属与相似度.将所有菌株的 DNA 序列和从 GenBank 基因数据库中下载的对比如株序列,共同输入 MEGA 5.0 中构建系统进化树.

1.2.5 分析方法

上清液中的磷酸盐质量浓度采用钼锑抗分光光度法测定;上清液中的 COD 质量浓度采用重铬酸钾法测定^[13].

1.2.6 除磷能力检测方法

将扩增培养离心收集之后的纯菌株置于厌氧培养基中混匀,厌氧静置 1h,之后将混合液离心,收集菌体,置于好氧培养基中曝气 2 h,在 20 min、40 min、60 min、90 min、120 min 取样,离心后测上清液磷质量浓度.检测结束后收集菌体,将一定体积的菌液离心,收集菌体沉淀悬浮于 5 mL 无菌水中,对其中的菌体进行计数.检测实验于室温下进行.

1.2.7 温度对菌株生长特性的影响

将 P7 纯菌株按 1% 的接种量接种于含有 150 mL 分离培养基的 250 mL 锥形瓶中,分别在 15、20、25、30、35、40 ℃ 的恒温摇床上

150 r/min 培养 24 h,每隔 2 h 取菌液测定 OD600 吸光值.

1.2.8 pH 对菌株生长特性的影响

将 P7 纯菌株按 1% 的接种量接种于含有 150 mL 分离培养基的 250 mL 锥形瓶中,使用 1 mol/L 的 HCl 或者 1 mol/L NaOH 调节混合液中的 pH 值分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,置于室温(22 ± 2)℃ 恒温摇床中 150 r/min 培养 24 h,每隔 2 h 取菌液测定 OD600 吸光值.

1.2.9 温度对菌株除磷效果的影响

设置 6 种温度梯度,为 15、20、25、30、35、40 ℃.将菌株 P7 按 2% 接种量接种至含有 150 mL 综合培养基的 250 mL 锥形瓶中,置于不同温度的恒温摇床中 150 r/min 培养 24 h,之后检测上清液中的磷酸盐质量浓度.

1.2.10 pH 对菌株除磷效果的影响

将菌株 P7 按 2% 接种量接种至含有 150 mL 综合培养基的 250 mL 锥形瓶中,使用 1 mol/L 的 HCl 或者 1 mol/L NaOH 调节混合液中的 pH 值分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,置于室温(22 ± 2)℃ 恒温摇床中 150 r/min 培养 24 h,之后检测上清液中的磷酸盐质量浓度.

2 结果与分析

2.1 菌株 P7 的鉴定

2.1.1 菌株 P7 的生理生化鉴定

菌株 P7 的生理生化鉴定结果如表 1 所

表 1 菌株 P7 的生理生化鉴定

Table 1 Biological and chemical identification of strain P7

检测项目	鉴定结果
革兰氏染色	-
甲基红	-
VP 反映	-
接触酶	+
氧化酶	+
吲哚反应	-
淀粉水解	-
明胶液化	-
菌体形态	呈长杆状,无芽孢,有鞭毛
菌落形状	呈乳白色透明状,形状为圆形,边缘平整,表面光滑,湿润平坦

注:“+”为阳性,“-”为阴性.

示. 经异染颗粒染色可见胞内存在紫色异染颗粒(见图 1).

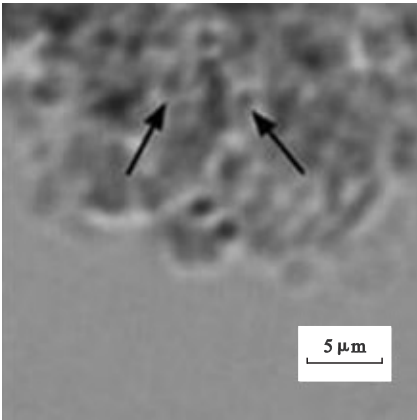


图 1 菌株 P7 的胞内异染颗粒

Fig. 1 Intracellular metachromatic granules of strain P7

2. 1. 2 菌株 P7 除磷能力检测结果

菌株 P7 除磷能力检测结果如图 2 所示. 经检测,该菌株的最大磷酸盐吸磷速率为每细胞 7.94×10^{-11} mg/h,除磷总量达到 20.88 mg/L,每细胞吸磷量为 5.26×10^{-11} mg,除磷能力优秀.

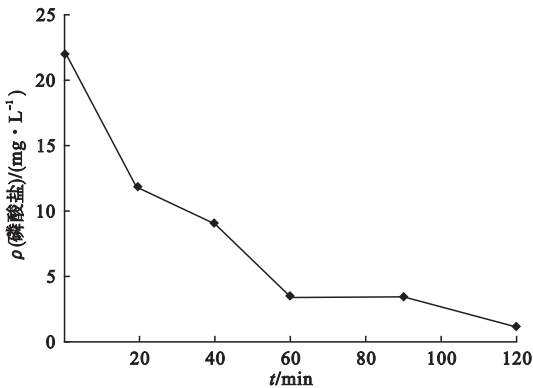


图 2 菌株 P7 除磷能力检测结果

Fig. 2 Phosphate removal ability of strain P7

2. 1. 3 16S rRNA 基因序列同源性比较

测序结果输入 NCBL 网站上的 BLAST 系统中进行比对,得出菌株 P7 与多株 *Pseudomonas* sp. 菌株的相似度在 99% 以上,因此认为菌株 P7 属于假单胞菌属. 将菌株 P7 的基因序列上传 Genbank 获得登记号为 KX181642. 利用 MEGA5.0 软件,选择 Neighbor – Joining 法建立系统发育树见图 3,可看出菌株 P7 与其他相近菌株之间的亲缘关系.

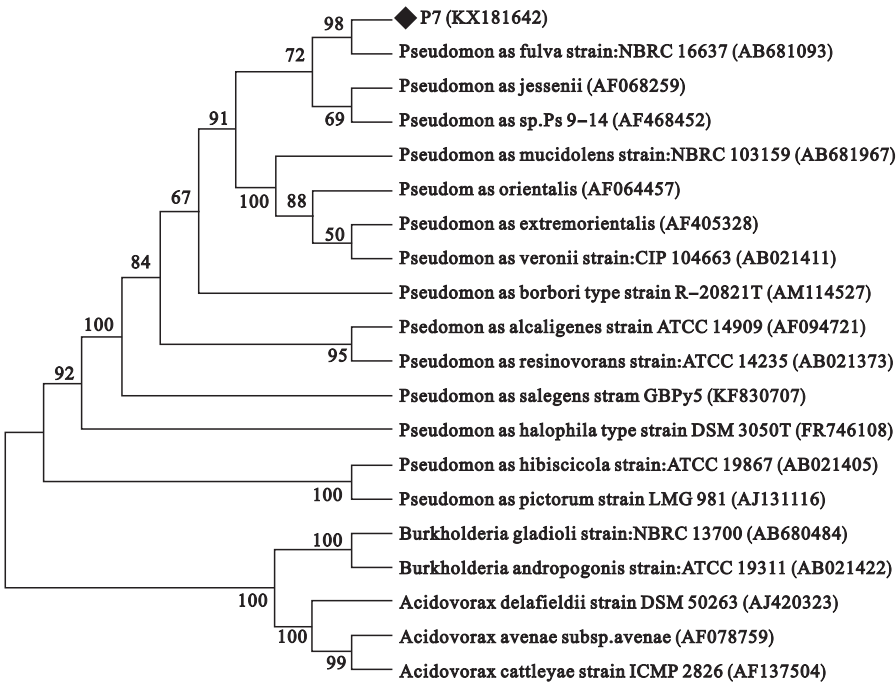


图 3 菌株 P7 与亲缘性相近的其他细菌的系统发育树

Fig. 3 Unrooted phylogenetic trees of strain P7 and the related strains

2.2 菌株 P7 的生长特性

2.2.1 温度对菌株 P7 生长特性的影响

图4为菌株P7在不同温度条件下的生长曲线.在不同温度条件下,菌株P7均能很好地增殖,生长曲线出现了比较明显的迟缓期、对数期,但发生时间存在差异.在15℃时的迟缓期持续时间较长,对数期始于12h左右;20℃时,对数期始于6h左右;其他温度时,对数期始于4h左右.当温度小于20℃时,在24h内生长曲线没有出现明显的平稳期,生长速度较缓慢,其中20℃在对数期后期出现增长缓慢,这说明此时生长曲线正在逐渐进入到平稳期;当温度大于25℃时,生长曲线均出现了明显的平稳期,其中35℃和25℃时的对数期持续时间最长,为14h左右,温度时为12h左右.在40℃时,菌液最终浓度出现下降趋势,考虑是温度过高出现菌体死亡,提前进入衰减期.

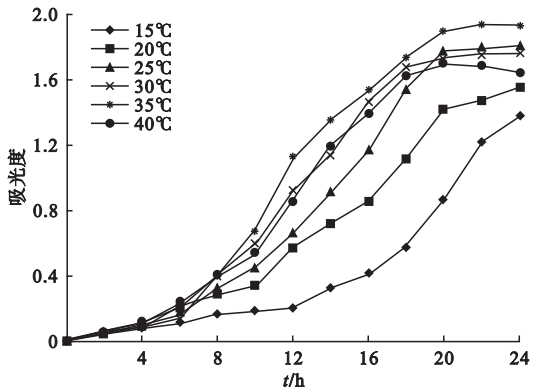


图4 不同温度下菌株 P7 的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of strain P7 under different temperature

菌株P7在温度大于等于25℃时的增殖速度快,能在20h以内迅速进入平稳期.与其他温度条件下的生长曲线相比,菌株P7在35℃条件下的迟缓期较短,对数增长期长,增值速度快,最终的菌液浓度是最高的,因此认为,菌株P7的最佳生长温度为35℃,适宜生长温度为25~35℃.

2.2.2 pH 对菌株 P7 生长特性的影响

图5为不同pH条件下菌株P7的生长

曲线.当pH在6~8时,菌株P7的生长曲线比较典型,出现了明显的迟缓期、对数期和平稳期.其中,pH为7和8时的生长曲线比较接近,pH为7时的最终菌液OD600值最高为1.83,对数期持续时长均为16h左右.pH为6时的生长曲线在对数期的增长速率比pH为7和8时要低,且对数期持续时长为14h左右,所以最终菌液OD600值较低为1.56.当pH=5时,菌株P7菌液浓度增长缓慢,24h时的OD600值仅为0.152.当pH=9时,菌株P7的生长曲线存在较明显的迟缓期和对数期,对数期始于6h左右,且在对数期内增长速率较慢,所以最终菌液OD600值较低,为0.67.

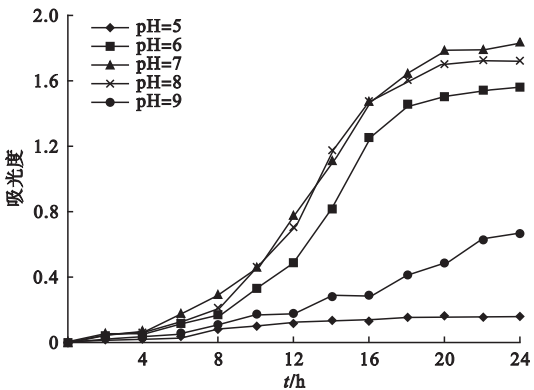


图5 不同pH条件下菌株 P7 的生长曲线

Fig. 5 Growth curve of strain P7 under different pH

菌株P7在pH为6~8时,生长曲线比较典型,且最终菌液浓度较高.但在pH为5和9时,菌株增殖速度缓慢.因此认为,菌株P7的最佳生长pH为7,适宜生长pH为6~8.

2.3 菌株 P7 的除磷能力

2.3.1 温度对菌株 P7 除磷能力的影响

图6为不同温度下菌株P7的磷酸盐去除率.菌株P7在不同温度条件下的除磷率均在60%以上.当温度低于30℃时,菌株P7的磷酸盐去除率随温度升高而升高,到30℃时除磷率达到最大值为98.1%.当温度大于30℃时,菌株P7的磷酸盐去除率随温度的

升高而降低. 当温度为 40 ℃ 时磷酸盐去除率降低至 64%. 因此, 温度过高和过低都不利于菌株 P7 除磷, 最佳除磷温度为 25 ~ 35 ℃.

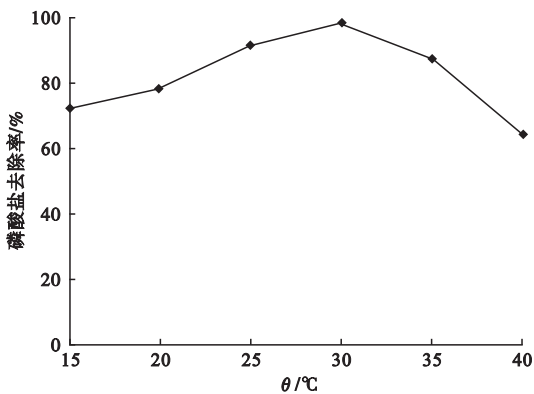


图 6 不同温度下菌株 P7 的磷酸盐去除率

Fig. 6 Phosphate removal rate in batch experiments under different temperature

2.3.2 pH 对菌株 P7 除磷能力的影响

图 7 为不同 pH 下菌株 P7 的磷酸盐去除率. pH 值显著影响菌株 P7 的除磷能力. 随着 pH 值增加, 菌株 P7 的除磷能力出现两端低中间高的特征. 当 pH 为 5 时, 菌株 P7 的磷酸盐去除率只有 22.2%. pH 值为 6 ~ 8 时, 菌株 P7 的磷酸盐去除率保持在 80% 以上, pH 为 7 时除磷率最高为 89.5%. 当 pH 达到 9 时, 菌株 P7 的磷酸盐去除率下降到 30.6%. 因此, 菌株 P7 的最佳除磷 pH 为 6 ~ 8.

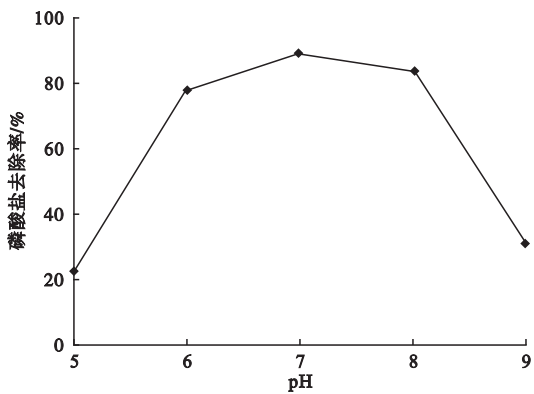


图 7 不同 pH 下菌株 P7 的磷酸盐去除率

Fig. 7 Phosphate removal rate in batch experiments under different pH

3 菌株 P7 的除磷性能评价

为了获取更多种类的除磷菌, 学者们做了大量筛菌实验, 目前已发表的具有除磷能力的菌株有 *Microtholunatus phosphovor*, *Tetrasphaera japonica*, *Tetrasphaera australiensis*^[14], *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Moraxella* spp., *Enterobacter* spp., *Bacillus cereus*^[15], *Tetrasphaera elongata*^[16], 等等. 而不同菌株的除磷能力也存在差异. 有研究人员于 1999 年汇总了发表出来的有除磷能力菌株种属, 把每细胞吸磷量作为衡量除磷能力的标准^[11]. 从汇总结果看, 大部分菌株的每细胞吸磷量为 (1.0 ~ 4.0) × 10⁻¹¹ mg. 筛选除磷菌的研究近年来又有大批成果发表, 表 2 为近年来参考文献报道的除磷菌及其除磷能力汇总. 从表中可以看出, 大部分菌株的 24 h 吸磷量为 10 ~ 20 mg/L. 与 1999 年汇总的和表 2 中的除磷菌相比, 菌株 P7 的最大磷酸盐吸磷速率为每细胞 7.94 × 10⁻¹¹ mg/h, 高于 1999 年汇总的所有菌株; 而 24 h 除磷量为 20.88 mg/L, 在表 2 中处于中上位置. 因此, 菌株 P7 是一株具有高效除磷能力的除磷菌株.

表 2 不同种属除磷菌及除磷能力

Table 2 Phosphorus removal bacteria and their phosphorus removal ability

菌株 种属	吸磷量/ (mg·L ⁻¹)	参考 文献
<i>Acinetobacterbaumannii</i>	34.00	[17]
<i>Alcaligenes</i> sp.	17.70	[18]
<i>Bacillus cereus</i>	20.25	[19]
<i>Bacillus cereus</i>	9.95	[20]
<i>Bacillus</i> sp.	4.10	[21]
<i>Pseudoalteromonas</i>	9.00	[22]
<i>Pseudomonas</i>	13.20	[23]
<i>Pseudomonas</i> spp.	17.40	[24]
<i>Pseudomonas grimontii</i>	36.43	[25]

4 结 论

(1)从生物除磷 SBR 反应器好养结束后的活性污泥中筛选出高效除磷菌 P7,经 16S rRNA 基因序列分析及生理生化实验,鉴定菌株 P7 为假单胞菌,Genbank 登录号为 KX181642.

(2)菌株 P7 在不同温度条件下均生长良好,最佳生长温度为 35 ℃,适宜生长温度为 25 ~ 35 ℃. 菌株 P7 最佳生长 pH 值为 7,适宜生长 pH 值为 6 ~ 8.

(3)菌株 P7 的最佳除磷温度为 30 ℃,除磷适宜温度为 25 ~ 35 ℃. 最佳除磷 pH 值为 7,适宜除磷 pH 值为 6 ~ 8.

(4)与其他参考文献报道的除磷菌株相比,菌株 P7 最大磷酸盐吸磷速率为每细胞 7.94×10^{-11} mg/h,高于其他报道中的除磷菌;24 h 除磷量为 20.88 mg/L,处于中上水平. 因此,菌株 P7 是具有较高除磷能力的除磷菌.

参考文献

- [1] 胡进军. 城市水污染的现状与治理建议分析[J]. 市政·交通·水利工程设计, 2016, 12: 57 - 58.
(HU Jinjun. Analysis on the current situation and treatment recommendations of urban water pollution[J]. Municipal·traffic·water resource design engineering design, 2016, 12: 57 - 58.)
- [2] 赵爽. 城市污水处理厂活性污泥菌落结构及除磷效能分析[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2014.
(ZHAO Shuang. Characterization of the microbial community structure and effectiveness of phosphorus removal in municipal wastewater treatment plant[D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture & Technology, 2014.)
- [3] BARNARD J L, STEICHEN M T. Where is biological nutrient removal going now[J]. Water science and technology, 2006, 53 (3): 155 - 164.
- [4] 张超, 陈银广. 聚糖菌的代谢机制及生物学特性研究进展[J]. 环境污染与防治, 2008, 30 (8): 78 - 81.
(ZHANG Chao, CHEN Yinguang. Research advances in the metabolic mechanisms and the microbial characterization of glycogen-accumulating organisms[J]. Environmental pollution & control, 2008, 30 (8): 78 - 81.)
- [5] ATROUNI A A, JOLY-GUILLOU M L, HAMZE M, et al. Reservoirs of non-baumannii acinetobacter species[J]. Frontiers in microbiology, 2016, 7: 1 - 12.
- [6] KANG D W, NOGUERA D R. Candidatus accumulibacter phosphatis: elusive bacterium responsible for enhanced biological phosphorus removal[J]. Journal of environmental engineering, 2014, 140 (1): 2 - 10.
- [7] LIM J S, CHO S B, HWANG O H, et al. Isolation and characterization of phosphorus accumulating microorganisms under liquid fertilization of swine slurry[J]. Journal of animal environmental science, 2014, 20 (2): 77 - 84.
- [8] NAN Y, YUAN L, WANG X, et al. Study on characteristics of phosphorus release and accumulation of the two different strains of Escherichia[J]. International symposium on water resource & environmental protection, 2011, 2: 1298 - 1303.
- [9] MASLUNKA C, GIFFORD B, TUCCI J, et al. Insertions or deletions (Indels) in the rrn 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer region (ITS) compromise the typing and identification of strains within the acinetobacter calcoaceticus-baumannii (Acb) complex and closely related members[J]. Plos one, 2014, 9 (8): e105390.
- [10] NANCHARAI Y V, VENKATA M S, LENS P N. Recent advances in nutrient removal and recovery in biological and bioelectrochemical systems[J]. Bioresource technology, 2016, 215: 173.
- [11] 亢涵, 韩晓轩, 陈子逸, 等. 两相法筛选高效除磷菌的研究[J]. 环境科学与管理, 2016, 41 (7): 101 - 104.
(KANG Han, HAN Xiaoxuan, CHEN Ziyi, et al. Study on high phosphorus removal bacteria screening by two-phase method[J]. Environmental science and management, 2016, 41 (7): 101 - 104.)
- [12] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2011.
(DONG Xiuzhu, CAI Miaoying. The manual of systematic methods of determinative bacterial[M]. Beijing: Science Press, 2011.)
- [13] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委

- 会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- (National Environmental Protection Agency 《Water and exhausted water monitoring analysis methods》editorial board. Water and exhausted water monitoring analysis methods[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2009.)
- [14] MAJON M, VERDINI R, AULENTA F, et al. In situ groundwater and sediment bioremediation: barriers and perspectives at European contaminated sites[J]. New biotechnology, 2015, 32(1): 133-146.
 - [15] BELL T A, PRITHIVIRAJ B, WAHLEN B D, et al. A lipid-accumulating alga maintains growth in outdoor, alkaliphilic raceway pond with mixed microbial communities[J]. Frontiers in microbiology, 2015, 6: 1480.
 - [16] WEI M, YU Z, JIANG Z, et al. Microbial diversity and biogenic methane potential of a thermogenic-gas coal mine[J]. International journal of coal geology, 2014, 134/135: 96 - 107.
 - [17] 李博, 赵敏, 李宝赫, 等. 高效聚磷菌的筛选及除磷特性分析[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(10): 85 - 87.
(LI Bo, ZHAO Min, LI Baohe, et al. Screening of strain LB4 with high capability of accumulating polyphosphate and its characteristics[J]. Journal of northeast forestry university, 2009, 37(10): 85 - 87.)
 - [18] 庄志刚, 韩永和, 章文贤, 等. 高效聚磷菌 *Alcaligenes* sp. ED-12 菌株的分离鉴定及其除磷特性[J]. 环境科学学报, 2014, 34(3): 678 - 687.
(ZHUANG Zhigang, HAN Yonghe, ZHANG Wenxian, et al. Isolation identification and phosphorus-removal characterization of bacteria *alcaligenes* sp. strain ED-12 for phosphorus-accumulation[J]. Acta scientiae circumstantiae, 2014, 34(3): 678 - 687.)
 - [19] 张倩, 王弘宇, 桑稳姣, 等. 1 株反硝化除磷菌的鉴定及其反硝化功能基因研究[J]. 环境科学, 2013, 34(7): 2877 - 2881.
(ZHANG Qian, WANG Hongyu, SANG Wen-jiao, et al. Identification of a denitrifying polyphosphate-accumulating organism(DPAO) and study on its denitrifying functional genes[J]. Environmental science, 2013, 34(7): 2877 - 2881.)
 - [20] 安健, 伏光辉, 阮记明, 等. 反硝化除磷菌筛选及其特性研究[J]. 微生物学通报, 2012, 39(2): 162 - 171.
(AN Jian, FU Guanghui, RUAN Jiming, et al. Study on screening of denitrifying and phosphorus removal bacteria and its characteristics[J]. Microbiology China, 2012, 39(2): 162 - 171.)
 - [21] 马放, 杨菲菲, 张倩, 等. 一株高效反硝化聚磷菌的筛选及脱氮除磷效能[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2011, 43(12): 42 - 47.
(MA Fang, YANG Feifei, ZHANG Qian, et al. Isolation and identification of denitrifying polyphosphate-accumulating organisms and its efficiency of nitrogen and phosphorus removal[J]. Journal of Harbin institute of technology, 2011, 43(12): 42 - 47.)
 - [22] 高金强. 海洋聚磷菌的筛选、鉴定及其除磷特性的研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.
(GAO Jinqiang. Screening and characteristics of marine polyphosphate accumulating organisms for phosphorus removal[D]. Jinan: Shandong University, 2012.)
 - [23] 邵啸. 高效聚磷菌混合菌群除磷特性与影响因素研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2014.
(SHAO Xiao. Study on the characteristics and influence factors of high-effective microbiol consortium for phosphorus removal[D]. Hefei: Anhui University, 2014.)
 - [24] 陈舒. 反硝化聚磷菌的筛选鉴定及其脱氮除磷特性研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2012.
(CHEN Shu. Screening and identification of denitrifying phosphorus accumulating bacteria and their characteristics of nitrogen and phosphorus removal[D]. Qingdao: Qingdao University, 2012.)
 - [25] 蔡天明, 陈立伟, 吴守中, 等. 1 株脱氮除磷菌的筛选及其特性研究[J]. 环境科学, 2010, 31(10): 2487 - 2492.
(CAI Tianming, CHEN Liwei, WU Shouzhong, et al. Selection of denitrifying phosphorus-removing bacteria and its characteristic[J]. Environmental science, 2010, 31(10): 2487 - 2492.)