



全国中文核心期刊
中国科技核心期刊

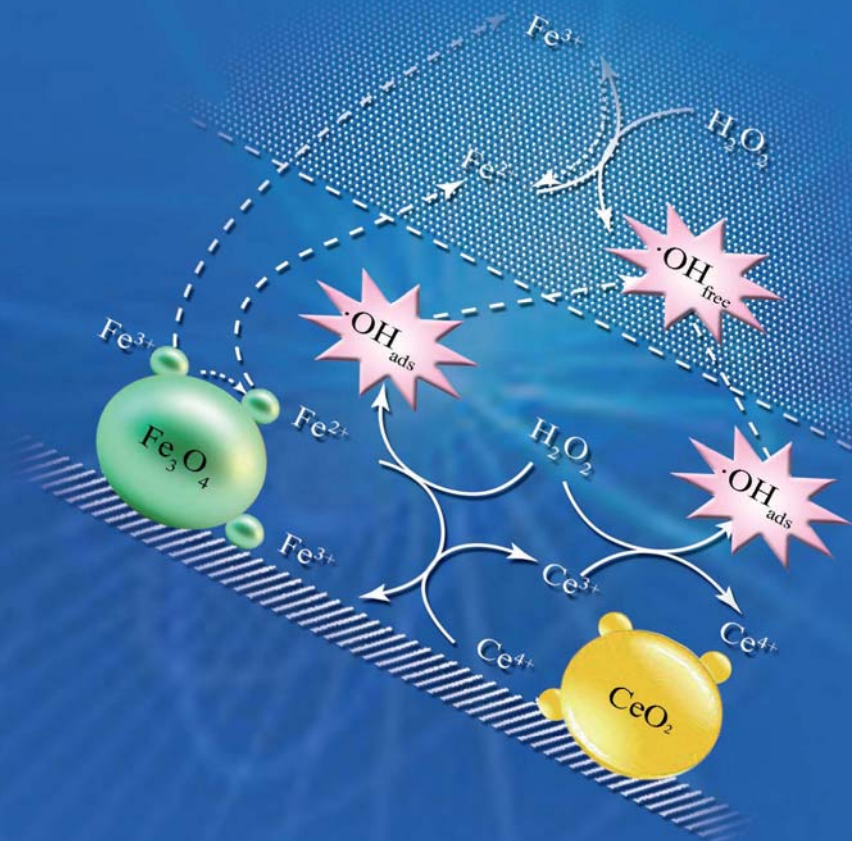
环境工程学报

Chinese Journal of Environmental Engineering

封面文章

磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒的制备及在水处理中的应用

展思辉, 张宇, 朱丹丹, 等, 2016, 10(1): 1-11



中国科学院
生态环境研究中心

主办



科学出版社

出版

Vol. 10 No. 1

2016.1

目次

综 述

磁性 Fe₃O₄ 纳米颗粒的制备及在水处理中的应用 展思辉 张 宇 朱丹丹 邱明英 于雯超 史 强(1)

水 污 染 防 治

人工湿地对水产养殖废水典型污染物的去除	黄翔峰	王 坤	陈国鑫	陆丽君	刘 佳(12)
选矿废水中黄药的生化处理	夏丽娟	胡学伟	张雅琳	靳松望	王亚冰(21)
增强型中空纤维膜生物反应器处理污水	赵 微	肖长发	权 全	胡晓宇	环国兰(27)
TEMPO 氧化微晶纤维素和马来酸酐接枝微晶纤维素的制备及对 Cu ²⁺ 的吸附 ...	杨 阳	王一宁	潘远凤	肖惠宁	(33)
利用活性氧分子消除污水中的 COD	白敏茹	毛首蕾	李超群	周建纲	(38)
污水颗粒尺寸分布对深度过滤中雌激素去除的影响	胡碧波	阳 春	刘 达	(43)	
于桥水库溶解性有机碳分布特征及三卤甲烷的生成势	牛志广	魏晓婷	张 颖	(48)	
不同 pH 下纳米级天然黄铁矿对水中 ReO ₄ ⁻ 的去除规律	丁 峰	钱天伟	丁庆伟	赵东叶	崔晋艳 王莉霄(55)
聚酰胺小球负载 <i>Comamonas</i> sp. (bdq06) 生物降解水中的喹啉	蔺 尧	陈 瑜	郭树君	邵德武	耿 直 霍明昕 刘志强 朱遂一(60)
草酸改性柚子皮对废水中镉离子的吸附性能	毛艳丽	康海彦	吴俊峰	(65)	
合肥城郊典型排水沟渠沉积物磷形态及其释放风险	唐文坤	李如忠	钱 靖	金菊良	常 笑(73)
新型缓释碳源的制备及其性能	王润众	郝瑞霞	赵文莉	(81)	
乳液电纺纤维膜固定化漆酶及其对水中酚类污染物的降解	袁 钰	代云容	宋永会	于彩虹	(88)
螺蚌和沉水植物搭配对微污染水体的净化作用	李雪娟	和树庄	常学秀	谭福广	申 意 陆福田 侯文通(95)
HRT 和 SRT 对 AO 工艺去除四环素及耐药菌的影响	郑 宇	黄满红	陈 亮	徐 奇	(103)
对乙酰氨基磺酰氯生产废水的 UASB 处理及硫酸盐的影响	李伟成	张 红	戚伟康	牛启桂	刘予宇 李玉友 高迎新(110)
炼化污水的厌氧生物预处理技术	王 宇	许双双	阎光绪	王庆宏	李 敏 马文峰 马静园 郭绍辉(115)
多胺改性 PGMA-DAAM 树脂的合成及对 Pb ²⁺ 的吸附性能	杨迎霞	宋明超	陶子元	刘春萍	(121)
光催化剂磷酸钾的制备及结构表征	刘天成	黄家卫	王天丽	唐光阳	贾丽娟 王博涛 王红斌(127)
重庆市加油站周边浅层地下水中石油烃污染调查与特征分析	赵 丽	张 韵	郭劲松	张 丹	邓春光(131)
太湖地区典型降雨水稻田径流污染物输出特点及相关性分析	陈育超	李 阳	于海明	乔 斌	孙井梅(137)
铁屑耦合生物麦饭石的 PRB 系统修复含铬酸根与硝酸根地下水	狄军贞	朱志涛	戴男男	江 富	(145)
山核桃加工废水的成分测定与分析	张贝贝	刘文洪	李俊峰	叶志青	(150)
煤基活性炭的改性及其对含铜废水的吸附性能	吕 游	刘树根	谢容生	宁 平	谷俊杰(157)
以养殖固体废弃物发酵产物为碳源的 SND 系统的脱氮除磷效果	成小婷	罗国芝	李 丽	谭洪新	(163)
石墨烯/TiO ₂ 复合物的制备及其光催化性能	张宏忠	秦小青	王明花	(169)	
剩余污泥对活性黑和酸性大红混合染料的吸附	王春英	黄平清	黄晓霞	刘 茹	(175)
狭叶香蒲活性炭对 Cd ²⁺ 与 Pb ²⁺ 的吸附及机理分析	舒 艳	李科林	宋金凤	李 冰	汤春芳(181)
催化湿式氧化法处理垃圾渗滤液	蔡先明	秦 侠	张 丽	崔红蕊	(189)
印染废水中氮硫形态转化和去除效率	王兴华	李 蕾	刁新星	王 浩	(194)
反硝化生物滤池用于再生水脱氮效能及动力学研究	高建锋	杨碧印	赵建树	张金松	(199)
TiO ₂ 光催化耦合 SO ₄ ²⁻ · 体系对硝基苯酚的降解性能及动力学	唐 海	沙俊鹏	颜酉斌	蔡昌凤	王军刚(205)
铁碳微电解/H ₂ O ₂ 耦合类 Fenton 法预处理高浓度焦化废水	殷旭东	李德豪	毛玉凤	朱越平	刘正辉(212)
生化-Fenton 氧化联合工艺处理石化净化水的回用	王泳超	李玉平	陈 娟	(217)	
模拟优化模型在地下水监测布井中的应用	熊 锋	苏 婧	翟秋敏	孙源媛	吴 超 姜永海 席北斗(223)
活性炭负载 CuO 催化过硫酸盐去除活性艳红 X-3B 染料	王宇轩	王应军	方明珠	(230)	
生物接触氧化法应急处理原水突发性藻类污染	许 骆	罗建中	邓俊强	刘敏强	(237)
次氯酸钠降解水中萘普生的效果	纪夏玲	吕文英	李富华	陈 平	李若白 范斯娜 姚 琨 张祥丹 刘国光(243)

大 气 污 染 防 治

活性炭纤维负载功能化离子液体的脱硫性能	王建英	张丽喆	穆惠英	陈 莹	胡永琪(248)
滤袋式膜生物反应器净化二甲苯	徐孟孟	陈 效	蒋轶锋	吴成强	(257)
电极配置对多针-板脉冲等离子体反应器放电特性的影响 ...	董冰岩	周海金	施志勇	黄尝伟	丁奇岨 王 晖(262)

油茶果壳炭对油烟的吸附性能	刘 超	廖 雷	覃爱苗	周江喜	彭 娟(267)
防止中小型锅炉脱硫除尘一体化系统中引风机积灰振动的研究	吕 太	贺培叶(272)			
程序升温脱附法测定活性炭上酯类有机物的脱附活化能	任爱玲	孟少左	田森	张丁超	韩梦非(277)
大流量低浓度 VOCs 气体二次吸附浓缩净化技术开发					

挥发性有机物生物增溶性能及效果	荀志萌	李照海	何 娇	羌 宁	覃兰雪	徐素玮	曹 熠(283)
制备条件对锰氧化物 SCR 脱硝性能的影响	刘育松	高凤雨	唐晓龙	易红宏	王国惠	许亚楠	李慧敏(289)
					赵顺征	曹雨萌	(295)

固体废物处置

水泥回转窑共处置含砷污泥	熊正为	朱 雷	杨博豪	戴清伟	陆 森(301)	
进出料频率对牛粪两相厌氧发酵特性的影响	王光远	李文哲	李 雷	蔡康妮	王忠江(306)	
城市污泥过热蒸汽薄层干燥初始段凝结特性	张绪坤	孙瑞晨	王学成	温祥东	吴 起	邢 普(311)
家电报废量预测模型与安徽省实例分析	刘志峰	张雅堃	黄海鸿	薛亚琼	王 玲(317)	
药渣与煤共热解动力学模型及逸出气红外特性分析	刘宝宣	蒋旭光	吕国钧	王 飞	池 涌	严建华(323)
温度对热水解预处理高含固污泥特性的影响	程 瑶	韩 芸	卓 杨	代 璐	彭党聪(330)	
疏浚底泥固化改性与资源化利用技术				武博然	柴晓利(335)	
利用旋转炉热解城市污泥的产物特性	王学涛	张兴宇	徐 斌	兰维娟	(343)	
次氯酸钠氧化废轮胎胶粉对改性沥青性能的影响						

聚乙烯醇/超细羽绒粒子共混膜的制备及其染料吸附动力学	于 凯	张 琛	王 欢	张 楠	陆宇鹏	李彤彤	李沁宇	刘双喜(350)
	陈凤翔	谢文雅	董兵海	王世敏	赵 丽	许祖勋	万 丽(355)	

以粉煤灰为原料制备高纯度 NaP 型分子筛	周慧云	徐婷婷	陈彦广	解聪浩	宋 华(360)
核桃壳骨架构建剂对污泥脱水性能的影响	董凌霄	丁绍兰	谢林花	蔡 丽	杨慧佳(365)
巢湖蓝藻酸提取液提高玉米秸秆的酶解效率	吴玉杰	王 进	崔康平	洪天求	岳正波(370)
稻壳基高比表面积介孔活性炭的制备与表征	薛广钊	侯贵华	乔仁静	董鹏玉	张勤芳(375)
改性油菜秸秆对 Co(II) 的吸附				汪 洋	吴 纓(379)
化工污泥基轻质填料的制备及其应用	俞敏洁	胡 俊	孙 婧	李 溪	徐炎华(385)
不同碱剂对污泥与餐厨垃圾联合厌氧发酵产氢余物产甲烷的影响	郑育毅	林 鸿	林志龙	罗鸿信	刘常青(393)
废弃 LCD 面板金属铜的超声协同浸出	庄绪宁	李英顺	杨义晨	胡冰倩	赵颖璠(399)
脉冲电场在污泥处理中的应用	姜俊杰	梁美生	李 伟		裴旭倩(405)

土壤污染防治

外源铅在不同类型土壤的形态转化					宋 波	曾炜铨(410)
荧光假单胞菌产铁载体对油麦菜吸收砂基和水基中镉的影响	晋银佳	刘 文	朱 跃	王丰吉(415)		
再生水灌溉区土壤对头孢噻肟的吸附特征	虞敏达	张 媛	张 慧	檀文炳	高如泰	席北斗
化学氧化法治理焦化厂 PAHs 污染土壤	杨 勇	张蒋维	陈 恺	李忠博	李洪旺	牛 静
循环流化床燃煤固硫灰改良云南红粘土	李勇辉	王群英	邓庆德	景文斌	张石华(432)	

生态修复工程

不同沉水植物组配对北大港水库水体净化效果的影响	常素云	吴 涛	赵静静(439)			
生态修复工程对城市内河水体细菌多样性的影响	唐方园	张秋芳	周阳靖	陈力行	徐继荣	程军蕊(445)
组合型生态浮床处理农家乐污水	王 郑	崔康平	许为义	孟 蓉	孙 鹏	陈鸿汉(455)
微宇宙法研究环境因子对南方典型梯级水库群藻类生长的影响	周 利	朱嘉成	朱 佳	高静思(461)		

环境生物技术

水葫芦多环芳烃含量及其与脂肪含量的关系	杨海燕	郭金鹏	卢少勇	曲洁婷	贾九敏(467)		
金鱼藻对不同扰动方式下悬浮物的生理响应		张翠英	王丽萍	万 蕾	张后虎(473)		
以不同底物和苯胺为燃料的微生物燃料电池的产电特性	佟海龙	黄力群	何 燕	刘解答	刘承鸿	于 荆(480)	
含固率和电极间距对牛粪发酵产电性能的影响	王成显	张艺臻	吴淑娜	张小梅	沈建国	丁仕林	辛言君(485)

工程实例

城镇污水处理厂的综合绩效评价	魏 亮	陈 滢	刘 敏	翟宇超(490)	
膜工艺在电镀废水处理工程中的应用	夏仙兵	蔡邦肖	缪 佳	林建平	倪 政(495)

环境监测与评价

SPE-HPLC 法检测环境水样中的痕量三氯卡班	朱开抗	曾庆玲	沈春花	周真明	李 飞(503)
--------------------------------	-----	-----	-----	-----	----------

生态修复工程对城市内河水体细菌多样性的影响

唐方园¹ 张秋芳^{1*} 周阳靖¹ 陈力行² 徐继荣¹ 程军蕊¹

(1. 宁波大学建筑工程与环境学院, 宁波 315211; 2. 宁波市城管局内河处, 宁波 315211)

摘要 微生物是城市内河生态系统的重要组成部分,其多样性与水环境密切相关。以 16S rRNA 基因作为原核细菌分子标记,应用 PCR-DGGE、定量 PCR、克隆和测序方法,分析经生态修复工程处理后不同污染程度的城市内河水体细菌多样性特征。结果表明:生态修复工程明显提高了污染程度较低水体总氮(TN)、总磷(TP)和化学需氧量(COD_{Mn})的消减能力,影响着城市内河水体中细菌群落的组成和含量,且随时间和空间不同而不同;生态修复工程显著地提高了重度污染水体细菌的含量;冗余分析(RDA)表明,水体中细菌群落组成与 COD_{Mn}、TP 和溶解氧(DO)等指标密切相关。

关键词 16S rRNA 基因 生态修复 城市内河 水质

中图分类号 X172 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2016)01-0445-10

Impacts of ecological restoration treatments on diversity of prokaryotic bacteria in urban river

Tang Fangyuan¹ Zhang Qiufang¹ Zhou Yangjing¹ Chen Lixing² Xu Jirong¹ Cheng Junrui

(1. Faculty of Architectural Civil Engineering and Environment, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Ningbo Municipal Urban Management Bureau of the River, Ningbo 315211, China)

Abstract Microorganism is of significance in the ecosystem of urban river and its diversity is closely related to the water environment. In order to explore the impacts of ecological restoration treatments on the prokaryotic bacteria in urban rivers, the methods of PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), real-time quantitative PCR (qPCR), cloning and sequencing were used to detect the composition and quantity of 16S rRNA gene. The results showed that the higher ability of reducing total nitrogen(TN), total phosphorus(TP) and chemical oxygen demand(COD_{Mn}) was promoted by the ecological restoration treatments in the cleaner surface waters than those of others. The composition and abundance of bacterial 16S rRNA gene were spatio-temporally different after the restoration treatment. Especially, the quantity of prokaryotic bacteria was improved dramatically in the waters of seriously polluted zones than those of others. The redundancy analysis(RDA) revealed that the bacterial composition was significantly related to COD_{Mn}, TP and dissolved oxygen(DO) in the urban river.

Key words bacterial 16S rRNA gene; ecological restoration; urban river; water quality

原核微生物是生态系统的重要组成部分,其代谢活动能有效降解污染物,具有重要生态功能,其生物多样性与环境因子密切相关^[1],具有高度特异性的 16S rRNA 基因已经成功应用于水环境中原核生物群落多样性的评价研究中^[2,3]。河道是城市景观重要组成之一,但由于宁波市内河河网位于水系末端,为防止海水倒灌,入江闸门经常关闭,河道内水流缓慢,加之城市生活污水和工业废水的排入,内河水体处于严重富营养化状态^[4-7]。

为改善宁波市内河水体污染现状,以污染极为严重的典型城中村河道史魏家河作为试点,综合应用由微纳米气泡、土著微生物膜氧化和生态浮岛等

技术作为水体生态修复净化系统。

为了解生态修复工程对城市内河水体细菌多样性的影响,研究以 16S rRNA 基因作为分子标记,应

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41571252);浙江省公益性技术应用研究计划项目(2012C23065);浙江省自然科学基金项目(Y5110331);宁波市自然科学基金项目(2011A610085)和;宁波市社会发展项目(2011C50050)资助。

收稿日期:2014-09-21; **修订日期:**2014-11-19

作者简介:唐方园(1991-),硕士研究生,主要从事水处理和氮循环研究。E-mail: ahtangfangyuan@163.com

* 通讯联系人, E-mail: zhangqiufang@nbu.edu.cn

用聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE)、定量 PCR、克隆和测序等方法,定性 & 定量分析河道细菌多样性及其与主要水质指标相关性,为评价生态修复工程对污染河道的生态恢复作用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 生态修复工程简介和样品采集

史魏家河位于宁波市江东区,全长 270 m,是典型的城中村断头河,水流凝滞,水体自净能力较差。近年来,随着城市发展,大量生活、工业污水排入内河,水质已受到严重污染^[8,9]。

工程采用由微纳气泡、微生物膜载体、生态浮岛组成的可移动式水体净化集成系统并结合推流曝气机对史魏家河的宁穿路以北河段(河长 160 m,河宽 8~16 m,水深 1.5 m,水域面积约 2 360 m²)进行治理,以改善其水体环境。工程共布置 3 套可移动式水体净化集成系统、3 台推流曝气机(每台最大清水充氧量为 4.6 kg O₂/h)及 1 台微纳气泡气液分散系统。微纳气泡气液分散系统对水体进行高效复氧置于河流上游,推流曝气机将微纳气泡推送至更远,增加水体溶解氧,与可移动式水体净化集成系统交替布置。其中,可移动式水体净化集成系统上部栽种以美人蕉为主的水生景观植物,形成漂浮在水面的生态景观浮岛,每个浮岛约 3 m²,系统水下由水中的土著微生物在载体表面富集繁殖所形成的生物膜和微纳气泡气液分散系统组成,对水中的污染物实现高强度的生化降解。

分别于生态修复工程实施前(2010 年 12 月)、实施过程中(10 个月后,2011 年 10 月)和实施 12 个月(2011 年 12 月),采集史魏家河从高到低污染程度的等间距的依次标记为 A(污水排放口)、B、C、D、E 和 F 的 6 个区域水样。为保证采集的水样具代表性和可比性,采样时避开水体修复系统中植物根际和处理系统等的近距离区域。在同一时段内,于垂直距水面 30 cm 深度处,每个区域在半径 5 m 范围内,随机采集 5 个点水样,设为重复 5 次,每点取 1 000 mL,低温保存,迅速送回实验室进行水质分析和总 DNA 提取。

1.2 主要水质指标分析

用塞氏盘现场测定水体透明度,并用便携式水质测定仪(Hach,CO,USA)测定 pH 和 DO;参照《水和废水监测分析方法》及相关国标,检测水体中

COD_{Mn}、NH₄⁺-N、TN、TP 和 chl-a 含量。

1.3 分子生物学实验

1.3.1 水体中总基因组 DNA 提取

从每个区域采集到水样中随机选取 3 个,各取 500 mL 水样,用 0.22 μm 滤膜(Millipore,USA)进行抽滤,将收集到微生物的滤纸用消毒后的剪刀剪碎后,采用 FastDNA Spin Kit for Soil(Qbiogene,Carlsbad,CA,USA)试剂盒,应用核酸提取仪(Qbiogene 公司,美国),均质条件为 18 s 和 4.5 m/s,将获得的总 DNA 用 70 μL DES 溶液收集,并用 Nonadrop-1000 超微量紫外分光光度计(美)进行含量和纯度测定后,储存于 -76℃ 下备用。

1.3.2 PCR-DGGE 分析

采用 341FGC/534R^[8]为通用细菌 16S rRNA 基因引物进行 PCR 扩增。50 μL PCR 扩增的反应体系为:1 × PCR buffer 缓冲液(Fermentas 公司,Canada),MgCl₂ 为 3.0 mmol/L,每种 dNTP 为 400 μmol/L(Fermentas 公司,Canada),2.5 U Taq DNA 聚合酶(Fermentas 公司,Canada),0.2 mg/mL 牛血清蛋白(BSA)并加每个引物浓度至 0.2 mmol/L,和 6 ng 的水体总基因组 DNA 作为模板。PCR 反应程序为:93℃ 预变性 2 min,接着 30 个循环为:94℃ 变性 30 s,54℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,最后 72℃ 延伸 20 min。用 1.2% (W/V) 琼脂糖凝胶加核酸染料染色检查 PCR 扩增产物,片段大小约为 193 bp。

应用 D-code 通用免疫突变检测系统(Bio-Rad Laboratories,Hercules,USA)对通用细菌 16S rRNA 基因片段 PCR 产物进行 DGGE 分析。往每个聚丙烯酰胺凝胶孔分别加入 8 μL 的 16S rRNA 基因 PCR 产物进行 DGGE 分析。采用梯度为 40%~70% 的 8% 聚丙烯酰胺凝胶(化学变性剂为 100% 尿素 10 mol/L 和 40% (v/v) 的去离子甲酰胺)在 1 × TAE 缓冲液中 150 V 60℃ 下电泳 7 h。电泳后用 50 mL 的 SYBR green I (Sigma,USA) (稀释 10 000 倍)核酸染料均匀染色 30 min 后,用 GelDoc XR (BIO-RAD, USA) 凝胶成像系统拍照。

1.4 细菌 16S rRNA 基因探针荧光定量 PCR 分析

水体中总细菌 16S rRNA 基因拷贝数采用 Taq-Man 荧光探针进行定量 PCR 分析。实验应用 Eppendorf Mastercycler ep realplex(德国)定量 PCR 分析仪器进行测定。每个样品设 3 个平行,采用正向引物 BACT1369F: 5'-CGGTGAATACGTTTCYCGG-3' 和反向引物 PROK1492R: 5'-GGWTACCTTGT-

TACGACT T-3';寡核苷酸探针 ProbeTM1389F: 5'-CTTGACACACCGCC CGTC-3' (其中,探针 5'端为 FAM 6-carboxy-fluorescein 标记;3'端为 TAMRA 6-carboxy-tetramethylrhodamine 标记)^[9]。每个 PCR 反应为 25 μ L 体系,其组成包括:12.5 μ L Premix Ex taqTM (Takara,大连宝生),1 μ L 的 DNA 提取液(包含 6 ng 沉积物基因组 DNA)为模板,0.2 mg/mL BSA(牛血清蛋白),各引物和探针浓度都为 0.4 mmol/L (Takara,大连宝生)。按照说明书设扩增反应程序为:95℃变性 30 s,接着 40 个循环为:95℃变性 15 s,56℃退火 60 s。

标准曲线生成所用的标准细菌 16S rRNA 基因片段的制备方法如下:应用引物 27F(5'-AGAGTTTG ATCMTGGCTCAG-3')/1492R (5'-TACGGYTACCTT-GTTACGACTT-3')^[10]扩增提取到的总基因组 DNA,将扩增的产物经 Takara Agarose Gel DNA Purification Kit Ver2.0 (Takara,大连宝生)纯化后连接至载体 pGEM-T Easy Vector (Promega Madison, WI)。连接产生转化入感受态大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5 α (Tiangen)。转化后的大肠杆菌经 37℃、150 r/min 摇床上培养 1 h,然后均匀涂至含 100 mg/L 氨苄青霉素、0.5 mmol/LIPTG 和 80 mg/L X-Gal 的 LB 培养基平板上,过夜培养。在有菌斑出现后,挑选白色的斑重新接入 2 mL 的 LB 液体培养基中,在 37℃下进行悬浮培养 20 h。然后直接使用培养液蘸取少量作为模板用引物 27F/1492R 进行 PCR 扩增,若为阳性,则将培养的菌液送去测序。选取一已知序列的 16S rRNA 基因的质粒作为定量 PCR 标准的 DNA,质粒提取使用 MiniBEST Plasmid Purification Kit (Takara,大连宝生)试剂盒,将提取到的质粒用超微量核酸蛋白质分析仪 (Nanodrop) 检测其含量和纯度,用于本实验的 16S rRNA 基因质粒的浓度为 58.0 ng/ μ L。按公式 $\text{copies}/\mu\text{L} = 6.02 \times 10^{23} \times \text{质粒浓度}(\text{ng}/\mu\text{L}) / (\text{质粒分子质量} \times 10^9)$ 计算出基因拷贝数,标样的定量 PCR 曲线用 10 倍梯度稀释已知拷贝数 16S rRNA 基因片段作为模板,浓度从 1.17×10^4 到 1.17×10^{10} copies/ μ L,每个浓度设 3 次重复,共 7 个浓度。标准曲线和扩增曲线由仪器自带的分析软件生成。扩增效率 ($E = 10^{-1/\text{斜率}} - 1$) 为 97.4%,标准曲线的线性 R^2 值大于 0.99,斜率为 -3.386,每批实验过程中皆设不加 DNA 模板的阴性对照。DNA 提取物的抑制物对定量 PCR 影响的分析参照 Dumonceaux T. J. 等^[11] (2006) 的方法。测

定结果表明,当总基因组中的 DNA 浓度在 1 ~ 120 ng/ μ L,提取物中的抑制对 PCR 反应没有抑制作用。

1.5 16S rRNA 克隆和序列测定

将 DGGE 凝胶上的 DNA 条带切割下来,用无菌水洗涤后,捣碎,加 40 μ L 无菌水于 4℃下浸渍过夜,使 DNA 片断溶出。以此作为模板,分别用不带 GC 夹的引物对 F341 和 R534^[8]进行 PCR 扩增目的片断,并将 PCR 产物用 DNA 凝胶纯化试剂盒 (Takara,大连宝生)纯化、回收后,采用 PMDTM 19-T (Takara,大连宝生)载体进行链接后,转化到感受态细胞 *Escherichia coli* DH5 α ,均匀涂布到含有氨苄青霉素 (ampicillin)/IPTG/X-Gal 的 LB (Luria-Bertani) 培养基平板上,37℃下培养 16 ~ 24 h,设置对照。随机选取一定数量白色阳性克隆子,进行 PCR,将阳性菌落用含氨苄青霉素 LB 培养液培养后送至上海英骏生物技术公司测序。

1.6 数据统计分析

由于河流上游采样点 A (排污口) 污染源的不稳定性及水流等因素影响,可能会引起河流下游水质的不稳定,故以水质指标相对消减量表示生态修复工程对内河污染修复的效果。其中,各水质指标相对消减量是指以排污口 A 的污染量为基数,其他各采样点水质指标值相对于 A 点的消减量,即相对消减量

$$\eta = \frac{c_a - c_x}{c_a} \quad (1)$$

式中: c_a 为 A 点各水质指标值; c_x 为对应的 B、C、D、E 和 F 各点水质指标值,依次代入各数值即可。

应用 SPSS 软件 (16.0 版本) 分析采样位置和时间双因素对 16S rRNA 基因含量的影响。

采用 GelDoc XR (BIO-RAD, USA) 系统中的 Quantity One 软件 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) 的 UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Mathematical Averages) 方法对 16S rRNA 基因的 DGGE 图谱进行相似度分析。

采用 Canoco (version 5.5; Microcomputer Power)^[12,13] 软件对细菌 16S rRNA 基因组成与水质参数之间的相关性进行分析。其中,每条 DNA 条带被认为是单一的操作分类单元 (OTU),一个 OTU 被认为是一个“生物多样性单元”。把所有样品中的 DGGE 图谱上出现 DNA 条带“OTU”的认为是“1”,不出现的认为是“0”,进行数据标准化,建立二阶矩阵。应用分类排列技术对水质指标,如:pH、chl-a、

COD_{Mn}、TN、TP、DO、透明度和 NH₄⁺-N, 分析其与 DGGE 图谱结构之间的相关性。为了验证每个变量对功能型分布格局的影响程度, 应用 Canoco 软件的自动向前选择程序 (automatic forward selection procedure) 对水体中的环境因子进行逐一筛选, 利用 Monte Carlo 检验 (Using 999 permutations) 判断候选变量的解释效果 (即对总解释方差的贡献程度), 当环境因子变量 $P > 0.05$ 时, 予以排除, 当环境因子变量 $P \leq 0.05$ 时, 用箭头在图上表示出来, 箭头的长短表示沉积物理化性状的重要性大小。

1.7 DNA 序列登录

所有来自 DGGE 条带上的 16S rRNA 基因的 DNA 序列都已登录到 EMBL 基因数据库中。已获得水体的细菌 16S rRNA 基因序列的登录号为 HF586423-HF586456。

2 结果与讨论

2.1 水质指标及分析

由史魏家河水质的监测结果 (见表 1) 可知, 史魏家河主要水质指标如 NH₄⁺-N、TN、TP 和 COD_{Mn} 随

时间变化明显。治理前后的水体 pH 始终保持在 7 左右; 经生态修复工程治理 12 个月后, 史魏家河水中 DO 有明显增长; 水体叶绿素 a 含量和水体透明度均有明显提升。但如氨氮均大于 4 mg/L、总磷均大于 0.6 mg/L 等, 根据《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002), 皆属劣 V 类, 说明水体已经处于严重污染状态。

经过生态修复工程 12 个月的治理, 对于不同污染程度的 B、C、D、E 和 F 点位各主要水质指标的相对消减量如图 1 所示。可知, B、C 点 NH₄⁺-N 相对消减量明显高于治理前, 尤其是, 离污染源排污口 A 最远处 F 点位水体中的 COD_{Mn}、TN 和 TP 相对消减量分别由 56.78%、34.15% 和 44.90% 增加至 69.54%、45.63% 和 79.52%, 但 NH₄⁺-N 消减量从 62.29% 降至 39.29%, 这说明本次生态修复工程对史魏家河水体中的 COD_{Mn}、TN 和 TP 消除均有一定促进作用。但不同污染程度的位点不同水质指标的变化不同, 并没有呈现出明显的规律性, 这可能是由于环境多种因子相互综合作用的复杂性以及污染源排放量和污染物组成的不稳定性造成, 对于离排污

表 1 史魏家河水体主要水质指标
Table 1 Main water quality indicators of Shiweijia River

采样点	pH	叶绿素 a (mg/L)	COD _{Mn} (mg/L)	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)	DO (mg/L)	透明度 (cm)
A1	7.01	1.11	17.77	13.1	14.2	1.47	5.0	18.1
B1	6.94	0.98	17.34	14.4	15.6	1.53	4.8	15.6
C1	7.12	1.11	17.67	13.5	14.4	1.50	5.1	14.9
D1	7.32	2.23	14.56	9.43	9.99	1.05	5.1	14.8
E1	7.25	4.46	11.78	8.30	8.94	0.93	5.9	17.8
F1	7.18	13.4	7.68	4.94	9.35	0.81	6.8	15.6
A2	7.23	5.58	11.37	22.8	35.9	4.40	1.6	5.0
B2	7.01	8.37	12.41	22.7	24.6	3.30	1.3	17.5
C2	7.24	13.95	8.33	22.8	32.3	3.12	4.3	19.0
D2	6.99	41.85	16	21.6	29.5	2.62	4.9	21.5
E2	7.13	80.91	8.64	13.8	16.4	1.65	11.7	20.1
F2	7.22	47.43	5.49	12.0	13.2	1.35	8.5	22.0
A3	7.69	5.58	24.26	16.8	25.2	3.32	5.5	10.2
B3	7.60	8.37	19.76	15.4	22.4	2.50	5.2	16.3
C3	6.98	5.58	28.83	14.8	22.1	2.42	5.2	17.1
D3	7.10	13.95	10.54	12.5	21.8	1.92	6.2	24.2
E3	7.49	19.53	8.47	11.7	18.6	2.00	8.5	30.0
F3	7.74	25.11	7.39	10.2	13.7	0.68	10.1	28.2

注: A、B、C、D、E 和 F 表示污染程度为从高到低的 6 个水域, 1、2 和 3 分别表示生态修复工程治理前、治理 10 和 12 个月后 3 个时间点。

口最远处的 F 点可能由于受污染源的影响低于其他位点,而使得生态修复工程对水体修复的效果显现出来,这说明了要使城市内河整治取得明显效果,除了采取必要的生态修复工程等治理措施外,必须严格控制污染物的排放,采取防治相结合。

2.2 细菌群落组成及其与环境因子相关关系

2.2.1 细菌群落组成

从史魏家河水体通用细菌 16S rRNA 基因的

DGGE 图谱及其指纹图谱相似度分析(图 2 和图 3)可知,不同工程治理阶段在不同位置的水体中细菌群落结构组成存在差异。生态修复工程处理前,不同污染点位所采集的水体的通用细菌群落组成较为相似;经 10 个月工程的治理,不同点位的水体中细菌群落组成出现了明显变化,A2、B2 和 C2 之间较为相似,B2 与 C2 之间的相似度达 81%,且 D2、E2 和 F2 之间也较相似,E2 与 F2 之间相似度达 78% ;

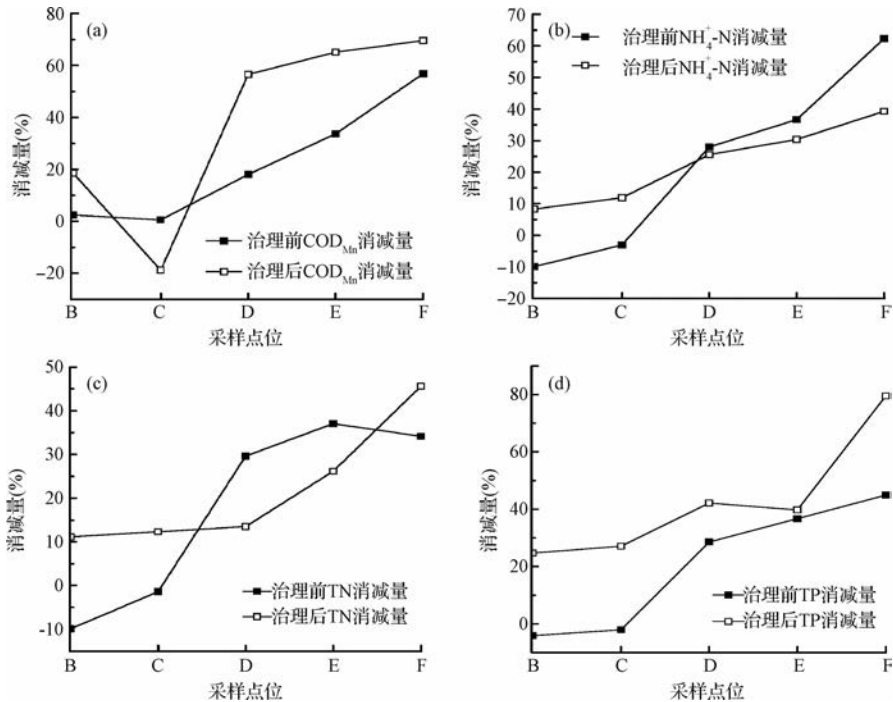


图 1 史魏家河水体主要水质指标的相对消减量

Fig.1 Relative decrease of main water properties of waters in Shiweijia River

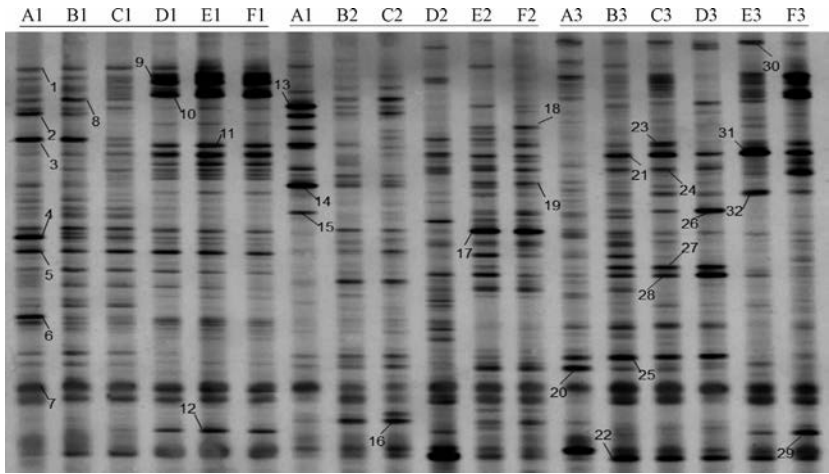


图 2 不同时空下史魏家河水体通用细菌 16S rRNA 基因的 DGGE 图谱

Fig.2 Spatio-temporal bacterial 16S rRNA gene DGGE patterns of waters in Shiweijia River

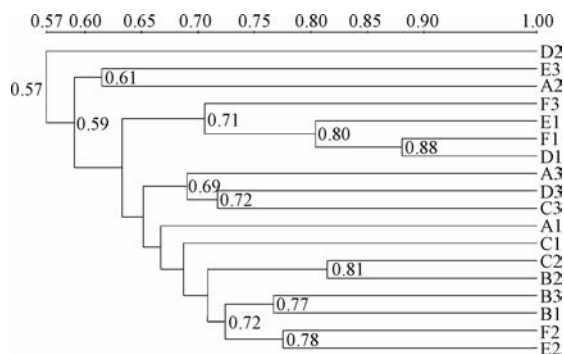


图3 不同水样 16S rRNA 基因 DGGE 指纹图谱相似度分析

Fig. 3 Cluster analysis of DGGE profiles
based on 16S rRNA gene in waters

经 12 个月的治理后,不同点位间的水体细菌群落组成相似度又有了变化,B3、C3 和 D3 之间菌落组成较为相似,C3 与 D3 之间相似度达 72%。由 DGGE 图谱可看出,经 12 个月的生态修复工程治理后的水体中的细菌群落多样性明显不同于治理前,说明了生态修复工程对城市内河水体的细菌群落结构组成已经产生了影响。

生态修复影响着水体中细菌的多样性^[14,15],且研究发现,污染程度相近的水域在同一时间的细菌群落组成较为相似,如 D1 与 F1、B2 与 C2、C3 与 D3,其中 D1 与 F1 相似度最高。从整体监测结果来看,不同污染程度的采样点的通用细菌群落组成存有差异。

2.2.2 细菌群落组成与环境因子关系

水质指标的冗余分析排序图表是基于 DGGE 图谱所表现出的 16S rRNA 基因组成而得到。排序图的第一个和第二个轴的特征值分别为 $\lambda_1 = 0.156$ 和 $\lambda_2 = 0.084$ 。对 DNA 条带出现与否与水质指标进行除趋势对应分析(DCA)的结果表明,最长的梯度长度皆小于 3.0,认为这 3 个数据矩阵利用线性响应模型冗余分析(redundancy analysis, RDA)比非线性的典型对应分析(canonical correspondence analysis, CCA)更适合用于本研究的分析^[12]。因此,本研究应用冗余分析(RDA)分析 16S rRNA 基因组成和主要水质指标之间的关系(图 4)。

冗余分析结果表明:对于通用细菌,物种与环境关系的累积方差为 65.5%,OTUs 与水质指标相关性的强度可得到有效的解释。Monte Carlo 置换方法的冗余分析排序表明:水质指标中的 TP ($P = 0.022$)、DO ($P = 0.021$) 和 COD_{Mn} ($P = 0.019$) 均与

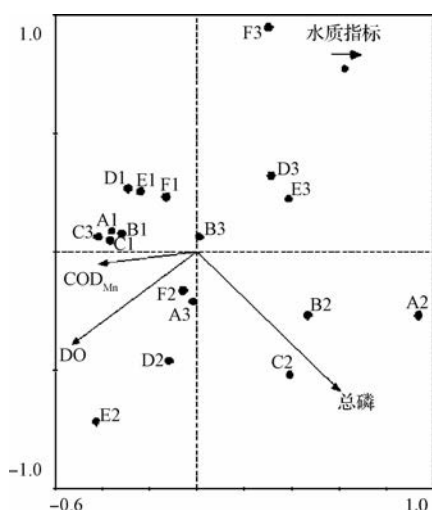


图4 通用细菌群落组成和水质指标相关关系 RDA 分析

Fig. 4 RDA analysis for relationships between water
properties and bacterial community composition

16S rRNA 基因组成有显著相关性。然而,水中 16S rRNA 基因组成受 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ($P = 0.080$)、透明度 ($P = 0.111$)、pH ($P = 0.423$)、总氮 ($P = 0.583$) 和叶绿素 a ($P = 0.054$) 无显著性影响。

由上述结果可看出,水体 TP、DO 和 COD_{Mn} 对细菌群落结构有显著性影响,且以 TP 影响最显著。已有研究表明,细菌群落结构与环境因子密切相关^[16],经生态修复工程治理后的各采样水域的通用细菌群落组成均发生不同程度变化,其中,A2 与 E3 的细菌群落组成相似度达 61%,但部分采样点的细菌群落组成变化相对较小,如 B3 水体 TP、DO 和 COD_{Mn} 较 B1 水体的分别增加了 8.33%、4.87% 和 13.96%,但 B1 与 B3 之间的细菌群落组成相似度达 77%,这可能是由于相对于其他采样水域,B 点最靠近排污口 A 点,污染程度始终相对较高,生态修复的治理对其微环境的影响不显著,故其群落组成变化不大。

2.3 细菌 16S rRNA 基因含量及其与环境关系

由定量 PCR 得出的水体细菌含量(图 5)可知,相对于治理前水体细菌含量,在生物修复工程治理 12 个月后,各采样点水体通用细菌 16S rRNA 基因含量均有所上升。其中,污染程度较重的 A、B 和 C 点的 16S rRNA 基因含量变化幅度较大,每升河水中所含 16S rRNA 基因的拷贝数分别由原来的 1.25×10^9 、 4.78×10^8 和 3.23×10^7 上升到 3.82×10^9 、 2.73×10^9 和 3.56×10^9 ,而污染较小区域水体中通用细菌含量变化幅度不大。

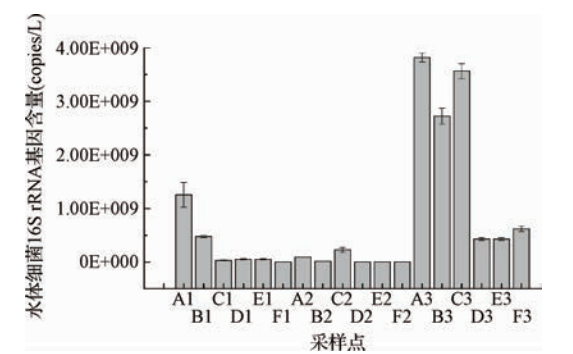


图 5 史魏家河水体中细菌 16S rRNA 基因含量

Fig. 5 Bacterial 16S RNA gene quantity in Shiweijia River

经采样时间和地点对细菌含量影响双因素方差分析(表 2)可知:采样时间对史魏家河通用细菌含量有显著影响,表明生态修复过程中城市内河细菌数量已经发生了显著变化。治理 10 个月后,水体中细菌含量普遍较低,这可能是由于季节变化而使得温度等条件变化产生的影响。治理 12 个月后,排污口 A 及距其较近的 B 和 C 点水体细菌含量变化增长最为明显,污染程度较小的 D、E 和 F 点的细菌含量呈小幅度上升,这说明生态修复工程对水体细菌含量有一定影响。已有研究表明,微纳米气泡可以增加水中微生物活性,生态浮岛能有效降低水中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、TP、 COD_{Mn} ,促进微生物的代谢繁殖,改变水体细菌数量,修复水质,且细菌含量与营养物质和叶绿素 a 含量呈正相关^[17-22],经生态修复治理 12 个月,史魏家河水体 DO、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、TP、 COD_{Mn} 、叶绿素 a 的增加致使河道水体环境发生变化,从而促使水体细菌含量发生变化,但 D、E 和 F 的细菌含量增长不明显,这可能是由于这 3 处水体污染程度相对较小,

营养元素含量相对较低,限制了细菌的繁殖生长。

2.4 16S rRNA 基因遗传多样性

从 DGGE 凝胶上切取了各样品中主要及共同的 16S rRNA 基因 DNA 条带,共 32 条(见图 2)。将水体中所获细菌 16S rRNA 基因 DNA 片段与 NCBI 基因库中已知序列的信息比对,得出细菌各序列所具有的特点。

不同水体中原核生物 DNA 与来自不同地域的已知序列皆具有高度同源性,且环境因子对生物多样性有一定影响。史魏家河水体中的 16S rRNA 基因序列如 SW16S-1、SW16S-16、SW16S-22 在多氯联苯污染的沉积物、太湖、美国俄亥俄河沉积物中均有发现相似性达到 100% 的序列;序列 SW16S-3, SW16S-18 在饮用水管道、污水处理厂发现相似性达 99% 的序列,详见表 3。

3 结 论

- (1)内河水体通用细菌群落的组成与其 TP、DO 和 COD_{Mn} 值显著相关,且与水中总磷含量相关性最强。
- (2)生态修复工程提高了城市内河水中的细菌含量。同时,与污染较小的水体相比,生态修复工程对距排污口较近、污染相对较大的水体的通用细菌含量影响更大,且对距排污口较远水体的 TP 的消减最有效。
- (3)生态修复工程能有效促进水体污染物降解和去除,但对于重度污染水体,生态修复工程的原位水体净化系统仍需进一步优化,同时对于河道污染的治理应该以防为主,防治结合。

表 2 采样时间和地点对细菌含量影响的双因素方差分析

Table 2 Sampling time and site analysis of variance for impacts of bacterial quantity

来 源	平方和	自由度	均方差	组方差值	差异性显著的检验值
校正模型	1.837E19 ¹⁾	7	2.625E18	3.240	0.046
截 距	1.087E19	1	1.087E19	13.418	0.004
采样时间	1.167E19	2	5.833E18	7.201	0.012
采样点	6.706E18	5	1.341E18	1.656	0.232
误 差	8.100E18	10	8.100E17		
总 计	3.734E19	18			
校正总计	2.647E19	17			

1) R Squared = 0.694 (Adjusted R Squared = 0.480)

表 3 史魏家河水体中细菌 16S rRNA 基因序列与基因库中已知序列相似性

Table 3 Identity between bacterial 16S rRNA gene sequences in Shiweijia River and eqeunces in NCBI

条 带	已知基因序列(序列号)	相似度(%)	已知 16S rRNA 基因来源	参考文献
SW16S-1	KC161662	100	多氯联苯污染的沉积物	[23]
SW16S-2	GU496161	99	Guri 污水处理厂悬浮固体	[24]
SW16S-3	JF922416	99	饮用水管道	[25]
SW16S-4	N371299	98	湖 水	[26]
SW16S-5	HE995762	99	从土壤中分离的菌株	[27]
SW16S-6	AB698040	100	柔佛河(位于马来西亚西部最南端)	[28]
SW16S-7	JQ978298	100	太 湖	[29]
SW16S-8	JX271945	100	在溶解氧高于 2.5 mg/L 的活性污泥中	[30]
SW16S-9	JN391898	100	厌氧化混合反应器	[31]
SW16S-10	EU373192	100	富营养化太湖中有机聚合物	[32]
SW16S-11	JN183228	100	太湖水样	[33]
SW16S-12	DQ409901	96	废 水	[34]
SW16S-13	JX990142	100	工蚁的口下囊	[35]
SW16S-14	HM243905	100	洪湖沉积物	[36]
SW16S-15	DQ211396	99	日本 Shimanto 河系	[37]
SW16S-16	JQ968741	100	Grasse 河沉积物	[38]
SW16S-17	JN371603	100	湖 水	[26]
SW16S-18	JN245825	99	污水处理厂	[39]
SW16S-19	JX909164	100	菌株 <i>Acinetobacter</i> sp. EEECC-440	[40]
SW16S-20	JX301599	99	雨季流式厌氧污泥	[41]
SW16S-21	GQ860160	100	美国俄亥俄河沉积物	[42]
SW16S-22	JN183228	100	太湖水样	[33]
SW16S-23	JQ963298	99	废水生物过滤器	[43]
SW16S-24	GU127087	97	巴西亚马逊 Tucurui 水电站水库沉积物	[44]
SW16S-25	EF471681	99	美国 Chesapeake 海湾地表水	[45]
SW16S-26	JN232900	100	回收再利用的污水	[46]
SW16S-27	AB470411	100	淡盐水湖	[47]
SW16S-28	JN641541	99	南方淡水河流沉积物	[48]
SW16S-29	AB518644	100	水井内沉积物	[49]
SW16S-30	HM442711	100	人类和牛的污水	[50]
SW16S-31	CP003333	100	淡水沼泽沉积物	[51]
SW16S-32	KC128840	100	从冰川沉积物中分离的菌株	[52]

参 考 文 献

[1] Bik H. M. , Halanych K. M. , Sharma J. , et al. Dramatic shifts in Benthic microbial eukaryote communities following the deepwater horizon oil spill. *PLoS One*, **2012**, 7 (6) :e38550

[2] van Hannen E. J. , van Agterveld M. P. , Gons H. J. , et al. Revealing genetic diversity of eukaryotic microorganisms in aquatic environments by denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Phycology*, **1998**, 34(2) :206-213

[3] Yu Zhongtang, García-González R. , Schanbacher F. L. , et al. Evaluations of different hypervariable regions of archaeal 16S rRNA genes in profiling of methanogens by *archaea*-specific PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, **2008**, 74 (3) : 889-893

[4] 李立山,刘洪文. 宁波市内河水环境治理与保护措施研究. *宁波工程学院学报*, **2005**, 17(2) :57-58, 86
Li Lishan, Liu Hongwen. Research on harnessig and protection measure of Ningbo inland water environment. *Journal of Ningbo University of Technology*, **2005**, 17 (2) : 57-58, 86 (in Chinese)

[5] 史建静. 宁波市城市内河配水研究. *浙江水利科技*, **2006**, (4) :54-55
Shi Jianjing. Study on water distribution in internal rivers of Ningbo. *Zhejiang Hydrotechnics*, **2006**, (4) :54-55 (in Chi-

- nese)
- [6] 郑琦宏,沈浩,李立山,等.宁波市城区内河水质与沉积物污染特征研究.宁波大学学报(理工版),**2012**,25(3):109-113
Zheng Qihong, Shen Hao, Li Lishan, et al. Research on the pollution characteristics of water quality and sediments in inner rivers of Ningbo. Journal of Ningbo University (NSEE), **2012**, 25(3):109-113 (in Chinese)
 - [7] 水政处. 2011 年宁波市水资源公报. 宁波:宁波市水利局, **2012**
 - [8] Muyzer G., De Waal E. C., Uitterlinden A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, **1993**, 59(3):695-700
 - [9] Peng Dan, Tan Jiaheng, Chen Shuobin, et al. Bisaryldiketene derivatives: A new class of selective ligands for *c-myc* G-quadruplex DNA. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2010**, 18(23):8235-8242
 - [10] Stackebrandt E., Goodfellow M. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. Chichester: John Wiley & Sons, **1991**
 - [11] Dumonceaux T. J., Hill J. E., Hemmingsen S. M., et al. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. Applied and Environmental Microbiology, **2006**, 72(4):2815-2823
 - [12] Lepš J., Šmilauer P. Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO. Cambridge: Cambridge University Press, **2003**
 - [13] Bremer C., Braker G., Matthies D., et al. Impact of plant functional group, plant species, and sampling time on the composition of *nirK*-type denitrifier communities in soil. Applied and Environmental Microbiology, **2007**, 73(21):6876-6884
 - [14] 李琳琳,汤祥明,高光,等.沉水植物生态修复对西湖细菌多样性及群落结构的影响.湖泊科学,**2013**,25(2):188-198
Li Linlin, Tang Xiangming, Gao Guang, et al. Influence of submerged vegetation restoration on bacterial diversity and community composition in West Lake. Journal of Lake Science, **2013**, 25(2):188-198 (in Chinese)
 - [15] 高慧琴,刘凌,方泽建.夏季湖泊表层沉积物的理化性质与微生物多样性.河海大学学报(自然科学版),**2011**,39(4):361-366
Gao Huiqin, Liu Ling, Fang Zejian. Physicochemical properties and microbial diversity of superficial deposits of lakes in summer. Journal of Hohai University (Natural Sciences), **2011**, 39(4):361-366 (in Chinese)
 - [16] 颜庆云,余育和,冯伟松,等.洞庭湖浮游生物群落 DNA 指纹与理化因子的关系.水生生物学报,**2005**,29(6):601-606
Yan Qingyun, Yu Yuhe, Feng Weisong, et al. Relationship between DNA fingerprinting of plankton community and physico-chemical factors. Acta Hydrobiologica Sinica, **2005**, 29(6):601-606 (in Chinese)
 - [17] Ning Daliang, Huang Yong, Pan Ruisong, et al. Effect of eco-remediation using planted floating bed system on nutrients and heavy metals in urban river water and sediment: A field study in China. Science of the Total Environment, **2014**, 485-486:596-603
 - [18] 杨丽,廖传华,朱跃钊,等.微纳米气泡特性及在环境污染控制中的应用.化工进展,**2012**,31(6):1333-1337
Yang Li, Liao Chuanhua, Zhu Yuezhao, et al. Characteristics of micro-bubble and nano-bubble and their application in environmental pollution control. Chemical Industry and Engineering Progress, **2012**, 31(6):1333-1337 (in Chinese)
 - [19] 章文贤,韩永和,卢文显,等.植物生态浮床的制备及其对富营养化水体的净化效果.环境工程学报,**2014**,8(8):3253-3258
Zhang Wenxian, Han Yonghe, Lu Wenxian, et al. Preparation of plants-combined ecological floating bed and its purifying effects for eutrophic water. Chinese Journal of Environmental Engineering, **2014**, 8(8):3253-3258 (in Chinese)
 - [20] 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.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. Chinese Journal of Environmental Engineering, **2014**, 8(8):3331-3336 (in Chinese)
 - [21] 夏倩,刘凌,高慧琴,等.湖泊沉积物中细菌含量影响因子分析.河海大学学报(自然科学版),**2012**,40(3):275-280
Xia Qian, Liu Ling, Gao Huiqin, et al. Influencing factor analysis of bacterial content in lake sediments. Journal of Hohai University (Natural Sciences), **2012**, 40(3):275-280 (in Chinese)
 - [22] 白洁,李岷然,李正炎,等.渤海春季浮游细菌分布与生态环境因子的关系.青岛海洋大学学报,**2003**,33(6):841-846
Bai Jie, Li Kuiran, Li Zhengyan, et al. Relationship between the environmental factors and distribution of bacterioplankton in the Bohai Sea. Journal of Ocean University of Qingdao, **2003**, 33(6):841-846 (in Chinese)
 - [23] Wang C. H. T., Xu Y., Minkley E. G. Jr., et al. Phylogenetic and biodiversity characterization of microbial communities associated with PCB-dechlorination in river sediment enrichment microcosms [J/OL]. [2013-01-09]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KC161662>
 - [24] Kwon S., Kim T. S., Yu G. H., et al. Bacterial community composition and diversity of a full-scale integrated fixed-film activated sludge system as investigated by pyrosequencing. Journal of Microbiology and Biotechnology, **2010**, 20(12):1717-1723
 - [25] Liu Ruyin, Yu Zhisheng, Zhang Hongxun, et al. Diversity of bacteria and mycobacteria in biofilms of two urban drinking water distribution systems. Canadian Journal of Microbiology, **2012**, 58(3):261-270
 - [26] Li Huabing, Xing Peng, Wu Q. L. The high resilience of

- the bacterioplankton community in the face of a catastrophic disturbance by a heavy *Microcystis* bloom. *FEMS Microbiology Ecology*, **2012**, 82(1):192-201
- [27] Subhash Y., Sasikala Ch., Ramana Ch. V. *Flavobacterium aquaticum* sp. nov., isolated from a water sample of a rice field. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **2013**, 63(Pt9):3463-3469
- [28] Hidayat T., Samat M. A. A., Elias M. A. B., et al. Metagenomic analysis of 16S rRNA sequences from selected rivers in Johor Malaysia. *Journal of Applied Sciences*, **2012**, 12(4):354-361
- [29] Shi Limei, Cai Yuanfang, Kong Fanxiang, et al. Specific association between bacteria and buoyant *Microcystis* colonies compared with other bulk bacterial communities in the eutrophic Lake Taihu, China. *Environmental Microbiology Reports*, **2012**, 4(6):669-678
- [30] Zheng Shaokui, Cui Cancan, Quan Ying, et al. Microaerobic DO-induced microbial mechanisms responsible for enormous energy saving in upflow microaerobic sludge blanket reactor. *Bioresource Technology*, **2013**, 140:192-198
- [31] Feng C., Chen S., Wang S., et al. Investigation of microbial community structure in a hybrid biofilm-activated sludge system with nitrogen & phosphorus removal [J/OL]. [2011-08-03]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN391898>
- [32] Tang Xiangming, Gao Guang, Qin Boqiang, et al. Characterization of bacterial communities associated with organic aggregates in a large, shallow, eutrophic freshwater lake (Lake Taihu, China). *Microbial Ecology*, **2009**, 58(2):307-322
- [33] Li Huabing, Xing Peng, Wu Q. L. Characterization of the bacterial community composition in a hypoxic zone induced by *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China. *FEMS Microbiology Ecology*, **2012**, 79(3):773-784
- [34] Garcia-de-Lomas J., Corzo A., Portillo C. M., et al. Nitrate stimulation of indigenous nitrate-reducing, sulfide-oxidising bacterial community in wastewater anaerobic biofilms. *Water Research*, **2007**, 41(14):3121-3131.
- [35] Kautz S., Rubin B. E. R., Russell J. A., et al. Surveying the microbiome of ants: Comparing 454 pyrosequencing with traditional methods to uncover bacterial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, **2013**, 79(2):525-534
- [36] Zheng S., Fang Z. Vertical distribution of prokaryotes and responses to their environment in Honghu Lake sediments [J/OL]. [2010-10-02]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HM243905>
- [37] Niu Shiquan, Fukushima J., Jiang Ying, et al. Analysis of bacterial community structure in the natural circulation system wastewater bioreactor by using a 16S rRNA gene clone library. *Microbiology and Immunology*, **2006**, 50(12):937-950
- [38] Xu Y., Yu Y., Gregory K. B., et al. Comprehensive assessment of bacterial communities and analysis of PCB congeners in PCB-contaminated sediment with depth [J/OL]. [2012-07-27]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JQ968741>
- [39] Liu Miaomiao, Zhang Yu, Yang Min, et al. Abundance and distribution of tetracycline resistance genes and mobile elements in an oxytetracycline production wastewater treatment system. *Environmental Science & Technology*, **2012**, 46(14):7551-7557
- [40] Mulugeta Y., Kelemu S., Stomeo F., et al. Isolation and molecular characterization of putative endophytes associated with enset [J/OL]. [2012-11-21]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JX909164>
- [41] Cardinali-Rezende J., Araújo J. C., Almeida P. G. S., et al. Organic loading rate and food-to-microorganism ratio shape prokaryotic diversity in a demo-scale up-flow anaerobic sludge blanket reactor treating domestic wastewater. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **2013**, 104(6):993-1003
- [42] D' Angelo E. M., Nunez A. E. Effects of temperature, electron donors, and FeSO₄ on a PCB dechlorinating bacterial community in a river sediment [J/OL]. [2009-10-03]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GQ860160>
- [43] Lian Y. L., Xu M. Y., Sun G. P. Uncultured bacterium of the high loading domestic wastewater biofilter [J/OL]. [2015-02-03]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JQ963298>
- [44] Silva A., Gracas D. A., Miranda P. R., et al. Metagenomic analysis of anoxic zone from hydropower plant reservoir in Brazilian Amazon [J/OL]. [2009-11-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GU127087>
- [45] Kan Jinjun., Evans S. E., Chen Feng, et al. Novel estuarine bacterioplankton in rRNA operon libraries from the Chesapeake Bay. *Aquatic Microbial Ecology*, **2008**, 51(1):55-56
- [46] Li K. Study on bacterial diversity in reclaimed wastewater lake after the aquatic ecosystem restoration [J/OL]. [2012-07-31]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN232900>
- [47] Watanabe K., Komatsu N., Kitamura T., et al. Ecological niche separation in the *Polynucleobacter* subclusters linked to quality of dissolved organic matter: A demonstration using a high sensitivity cultivation-based approach. *Environmental Microbiology*, **2012**, 14(9):2511-2525
- [48] Yu Riqing, Flanders J. R., Mack E. E., et al. Contribution of coexisting sulfate and iron reducing bacteria to methylmercury production in freshwater river sediments. *Environmental Science & Technology*, **2012**, 46(5):2684-2691
- [49] Arakaki A., Shibusawa M., Hosokawa M., et al. Preparation of genomic DNA from a single species of uncultured magnetotactic bacterium by multiple-displacement amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, **2010**, 76(5):1480-1485
- [50] Schulz C. J., Childers G. W. Fecal *Bacteroidales* diversity and decay in response to variations in temperature and salinity. *Applied and Environmental Microbiology*, **2011**, 77(8):2563-2572
- [51] Lucas S., Han J., Lapidus A., et al. Complete sequence of *Sulfurospirillum barnesii* SES-3 [J/OL]. [2013-07-17]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP003333>
- [52] Sakhi P. A., Rafiq M., Hasan F. Direct Submission [J/OL]. [2012-11-03]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KC128840>