

稻香湖景酒店景观再生水生产中的细菌群落结构变化

朱竞男¹, 王晓丹¹, 翟振华¹, 马文林², 李荣旗³, 王雪莲³, 李艳红^{1*}

(1. 首都师范大学生命科学学院, 北京 100048; 2. 北京建筑工程学院环境工程系, 北京 100044; 3. 北京科润维德生物技术有限公司, 北京 100049)

摘要: 为了解生活污水处理系统对水体细菌群落结构及多样性的影响, 以北京稻香湖景酒店生活污水处理系统为例, 利用 16S rDNA 文库技术研究了不同处理阶段水体细菌的群落结构及多样性。结果表明, 酒店排放的生活污水中细菌类型较多, Shannon-Weaver 多样性指数为 3.12, 其中 ϵ -变形杆菌纲在克隆文库中所占比例最高, 达 32%; 另外还有 9% ~ 15% 的克隆分别与 CFB 类群、 γ -变形杆菌纲、梭杆菌门和厚壁菌门的细菌高度同源; 经中水站处理后, 水体细菌多样性指数下降到 2.41, β -变形杆菌纲的细菌占据绝对优势, 比例高达 73%; 进一步经小型人工湿地处理后, 细菌的多样性指数提高到 3.38, 其中放线菌门的细菌比例最高达 33%, 成为最优势的类群, 蓝细菌的比例次之, 达 26%; 而对照样品中蓝细菌为最主要的优势类群, 比例高达 38%, 主要涉及的种属为蓝菌属、聚球藻属和微囊藻属, 比例分别为 47.1%、17.6% 和 8.8%, 且检测到少量铜绿微囊藻, 水体有轻度蓝藻水华暴发。因此, 该酒店的生活污水经过逐级处理改造成景观再生水的过程中改变了细菌的优势群落结构和多样性; 经过处理的水体未有蓝藻水华出现, 水体状况优于对照。该研究对了解景观再生水生产过程中细菌微生态的变化、将来从生态学的角度加强蓝藻水华的控制提供有用的资料。

关键词: 16S rDNA 文库; 细菌群落结构; 细菌多样性; 景观再生水; 稻香湖景酒店

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)05-1299-08

Changes of Bacterial Community Structure on Reusing Domestic Sewage of Daoxianghujing Hotel to Landscape Water

ZHU Jing-nan¹, WANG Xiao-dan¹, ZHAI Zhen-hua¹, MA Wen-lin², LI Rong-qi³, WANG Xue-lian³, LI Yan-hong¹

(1. College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048, China; 2. Department of Environmental Engineering, University of Beijing Architecture Engineering, Beijing 100044, China; 3. Beijing Kerunweide Co. Ltd., Beijing 100049, China)

Abstract: A 16S rDNA library was used to evaluate the bacterial diversity and identify dominant groups of bacteria in different treatment pools in the domestic sewage system of the Beijing Daoxianghujing Hotel. The results revealed that there were many types of bacteria in the hotel domestic sewage, and the bacterial Shannon-Weaver diversity index was 3.12. In addition, epsilon Proteobacteria was found to be the dominant group with the ratio of 32%. In addition, both the CFB phylum, Fusobacteria, gamma Proteobacteria and Firmicutes were also reached to 9% -15%. After treated with the reclaimed water station, the bacterial Shannon-Weaver diversity index was reduced to 2.41 and beta Proteobacteria became the dominant group and occupied 73% of the total clones. However, following artificial wetland training, the bacterial Shannon-Weaver diversity index in the sample increased to 3.38, Actinobacteria arrived to 33% and became the most dominant group; Cyanobacteria reached to 26%, and was the second dominant group. But, the control sample comprised 38% Cyanobacteria, and mainly involved in *Cyanobium*, *Synechoccus* and *Microcystis*, with ratios of 47.1%, 17.6% and 8.8%, respectively. Some bacteria of *Microcystis aeruginosa* were also detected, which probably resulted in the light bloom finally. Therefore, the bacterial diversity and community structures changed in response to treatment of the hotel domestic sewage; there was no cyanobacteria bloom explosion in the treated water. This study will aid in investigation the changes of microbial ecology in different types of water and providing the useful information for enhancing the cyanobacteria blooms control from ecological angle.

Key words: 16S rDNA library; bacterial community structure; bacterial diversity; landscape reclaimed wastewater; Daoxianghujing hotel

进入 21 世纪后, 水资源短缺已经成为制约我国可持续发展的一个重要因素。而污水的再生与回用是将城市污水加以处理后回用于可用再生水的去, 从而取代干净的优质水源, 节约优质水, 缓解水资源紧缺。目前污水的再生与回用已经成为世界各国解决水问题的必选策略。国外从 20 世纪 20 年代

开始试验城市污水回用技术, 在工业发达国家的污

收稿日期: 2009-07-08; 修订日期: 2009-09-15

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (5062003); 北京市海淀区科学技术委员会项目 (K2007083)

作者简介: 朱竞男 (1984 ~), 女, 硕士研究生, 主要方向为环境微生物, E-mail: zhujn84ah@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: liyh@mail.cnu.edu.cn

水回用率已达到 50% ~ 90%^[1,2]. 而我国在近 20 年来才开始大规模应用污水深度处理后的再生水, 2002 ~ 2008 年间, 北京市新建的较大建筑如旅店、饭店、机关、科研机构等均有配套的中水设施. 城市再生水主要应用于农业灌溉、工业用水、环境用水、娱乐和景观用水、生活杂用水等方面^[3~5], 但是大部分污水深度处理的再生水中, 氮、磷、有机物等污染物的浓度较高, 作为城市景观生态用水会导致水体富营养化并引发蓝藻水华, 造成新的污染^[6~9]. 如何解决这一问题, 从而更加合理有效地利用再生水, 对于加强城市生态建设和缓解淡水供需矛盾意义重大, 也是当前面临的重要课题.

微生物是水生态环境中的一个重要组成部分, 水体中微生物群落的变化与其水质有着密切的联系, 因此水体中微生物多样性研究对于深入了解再生水净化的机制具有重要意义. 过去人们主要采用传统的分离培养法研究环境中微生物的类别, 具有很大的局限性. 近十多年来, 分子生物学技术广泛应用于微生物多样性及群落结构动态变化的研究中, 其中 16S rDNA 文库构建在国内外应用比较广泛^[10~14]. 为此, 本研究利用构建 16S rDNA 文库技术分析了北京稻香湖景酒店的生活污水在转化为景观再生水的过程中, 不同处理阶段水体细菌的群落结构及多样性, 以期从较系统全面地从微生物的角度评价再生水的水质, 加强再生水的改善、尽可能地防止发生蓝藻水华提供有利的资料.

1 材料与方法

稻香湖景酒店位于北京市海淀区西北部, 该酒店的生活污水处理系统工作流程如下: 首先收集并过滤酒店生活污水于沉淀池内, 然后利用酒店的中水站处理(采用缺氧-好氧生物法一体化的复合污水处理工艺及生物过滤 + 石英砂过滤 + 消毒)得到再生水; 接着经过约 200 m 长的湿地型河道净化后, 水体进入蓄水池.

本试验于 2007 年 7 月在稻香湖景酒店的污水处理站至该水系末端选择 3 个监测断面分别取样(图 1), 每样点使用取样器各取 2 份 500 mL 的水样于无菌瓶中, 混匀后各取 500 mL 备用. 其中 D1 为生活污水蓄水池中的水体; D2 为经中水站处理后的再生水体; D3 为再生水经湿地型河道净化后的水体; 另取酒店北侧未经任何处理的上庄水库的水体标记为 D6, 作为对照样品, 用以与净化后的再生水进行比较.



图 1 稻香湖景酒店生活污水处理系统监测断面分布

Fig. 1 Distribution of sampling section in domestic sewage system of Daoxianghu Hotel

1.1 基因组 DNA 的提取

采用 0.22 μm 的微孔滤膜在真空抽滤泵 (AP-9908S, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司) 抽滤作用下富集水体中微生物, 将其收集到滤膜上. 然后将滤膜剪碎, 用 Bio101 Fast DNA Spin Kit for Soil 试剂盒 (Q-Biogene) 提取样品的 DNA, 并用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测.

1.2 16S rDNA 文库的构建

采用细菌 16S rDNA 的 V3 区特异性扩增引物: 338F (5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC -3') 和 530R (5'-GTA TTA CCG CGG CTG CTG-3') 对样品的基因组 DNA 进行扩增 (具体方法参见文献 [15]). 将 PCR 产物纯化后, 与 pMD18-T 载体 (Takara) 连接, 经转化及蓝白斑筛选后^[16], 每样品随机挑取 100 个克隆测序 (Applied system).

1.3 细菌多样性和群落结构分析

将测定正确的序列用 DNASTar 软件中的 EditSeq 编辑, 人工校对后, 登录到 GenBank (登录号: FJ558627 ~ FJ558898, GQ359012 ~ GQ359101) 并与数据库进行比对. 然后利用 Sequencher 4.8 分析具有不重复序列 (16S rDNA > 97% 为重复序列) 的克隆数, 再利用公式计算覆盖率 $[C = 1 - (n_1/N) \times 100\%]$ 来评估所构建文库对环境微生物多样性的体现 (其中 n_1 代表具有不重复序列的克隆数; N 代表分析的总克隆数); 同时利用 Ecosim 7.0^[17] 计算各样品细菌的 Shannon-Weaver 多样性指数; 再将 4 个样品的序列利用 Clustal W 比对^[18] 后采用 MEGA 3.1 软件中的邻接法 (neighbor joining, NJ), 以 *Thermoproteus tenax* (GenBank 登录号: M35966) 的 16S rRNA 基因序列作为外类群, 根据 Kimura 遗传

距离构建进化树^[19],重复计算(Bootstrap)1 000次.最后以得出的各类群所占的克隆数与总克隆数的比值计算该类群在本样品中所占的比例,并在不同样品间加以比较来进行样品间细菌群落结构特征的分析.

2 结果与分析

2.1 酒店生活污水中的细菌群落特征

D1 样品取自稻香湖景酒店生活污水收集池.该收集池长期处于封闭的条件下,水体较浑浊、灰白至灰黑色,污染物浓度很高且缺氧,水体散发出明显的恶臭味.将样品 D1 得到的克隆序列编辑分析后发现,该样品克隆文库的覆盖率最低,仅为 67.03%,其 Shannon-Weaver 多样性指数相对较高,为 3.12(表 1),表明酒店排出的生活污水中细菌的种类较多;进一步的序列分析发现(表 2 和图 2),本样品克隆文库 32% 的克隆表现出与变形杆菌门 ϵ -变形杆菌纲(epsilon Proteobacteria)较高的相似性,主要包含弯曲杆菌属(*Campylobacter*)、弓形菌属(*Arcobacter*)、硫化螺旋菌属(*Sulfurospirillum*)3 个属的细菌;18% 的克隆与噬纤维菌属/屈挠杆菌属/拟杆菌属(*Cytophaga/Flexibacter/Bacteroides*, CFB)类群的细菌具有较高的同源性,主要包括拟杆菌属

表 1 不同样品细菌 16S rDNA 克隆文库分析结果

样品	N	n ₁	C/%	Shannon-Weaver 多样性指数
D1	91	30	67.03	3.12
D2	99	15	84.85	2.41
D3	82	21	74.39	3.38
D6	90	28	68.89	3.28

表 2 北京稻香湖景酒店不同样品中优势细菌种群比例¹⁾/%

类群	样品 D1	样品 D2	样品 D3	样品 D6
Cyanobacteria	—	—	26	38
CFB	18	3	5	24
High GC Gram-Positive bacteria	1	1	33	13
Firmicutes	14	3	—	—
beta Proteobacteria	3	73	7	12
alpha Proteobacteria	—	2	16	4
gamma Proteobacteria	9	11	10	3
delta Proteobacteria	2	1	—	—
epsilon Proteobacteria	32	5	—	2
Fusobacteria	15	—	—	—
Chloroflexi	—	—	2	—
Unidentified bacteria	5	1	1	4

1) “—”表示未检测到的类群

(*Bacteroides*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)等;15% 的克隆与梭杆菌门(*Fusobacteria*)的细菌相似;9% 与 γ -变形杆菌纲(gamma Proteobacteria)的细菌相似性较高,主要与气单胞菌属(*Aeromonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)有较高的同源性;14% 的克隆与厚壁菌门(Firmicutes)的梭菌属(*Clostridium*)相似;还有少量克隆与变形杆菌门 β -变形杆菌纲(beta Proteobacteria)、放线菌门(高 G + C 含量的革兰氏阳性菌)及螺旋体门钩端螺旋体属(*Leptospira*)的细菌相似性较高,另外还出现约 5% 左右的克隆与未知的细菌具有较高的相似性.

2.2 经中水处理后水体细菌群落结构发生变化

经过污水站处理后,水体(D2 样品)外观状况略有改善,臭味减小,水体呈灰绿或土绿色.该样品克隆文库的结果表明,其细菌多样性及群落结构特征发生了较大变化.随机选取的克隆对文库的覆盖率最高,达 84.85%,初步说明该样品的细菌种类较少,表 1 也证实其细菌 Shannon-Weaver 多样性指数在几个样品中最低,仅为 2.41,进一步证实了该样品细菌多样性较低.对细菌类群的深入分析发现其克隆文库中变形杆菌门 β -变形杆菌纲占据了绝对优势,高达 73%,主要包括食酸菌属(*Acidovorax*)、索氏菌属(*Thauera*)、*Polynucleobacter necessarius*.和 *Dechloromonas* 等 4 个属的细菌;其次为 γ -变形杆菌纲,约占总克隆数的 11%,主要与 *Aeromonas* 和 *Enterobacter* 2 个属的细菌相似性较高;其他类群如 CFB、 ϵ -变形杆菌纲、 α -变形杆菌纲(alpha Proteobacteria)、厚壁菌门和放线菌门等均占据较低的比例(表 2 和图 3).推测经过中水站的处理去除了原 D1 样品中部分类型的细菌,导致 β -变形杆菌的大量增生.

2.3 人工湿地河道处理对细菌群落结构的影响

水体进一步经过人工湿地河道处理后,水质得到较明显改善,水体(D3 样品)呈浅绿色,透明度提高.对其克隆文库的分析表明,其克隆文库的覆盖率为 74.39%,介于前 2 个样品之间,其细菌 Shannon-Weaver 多样性指数最高,达到 3.38(表 1).细菌 16S rDNA 系统发育树表明(表 2 和图 4):33% 的克隆表现出与放线菌门较高的同源性,大部分为非培养类型,少部分与赖氏菌属(*Leifsonia*)亲缘关系较近;26% 的克隆与蓝细菌门(Cyanobacteria)的细菌相似性较高,主要以聚球藻属(*Synechococcus*)为主;另外也有 16% 和 10% 的克隆分别与 α 和 γ -变形杆菌纲的细菌具有较高的同源性;少部分克隆与绿

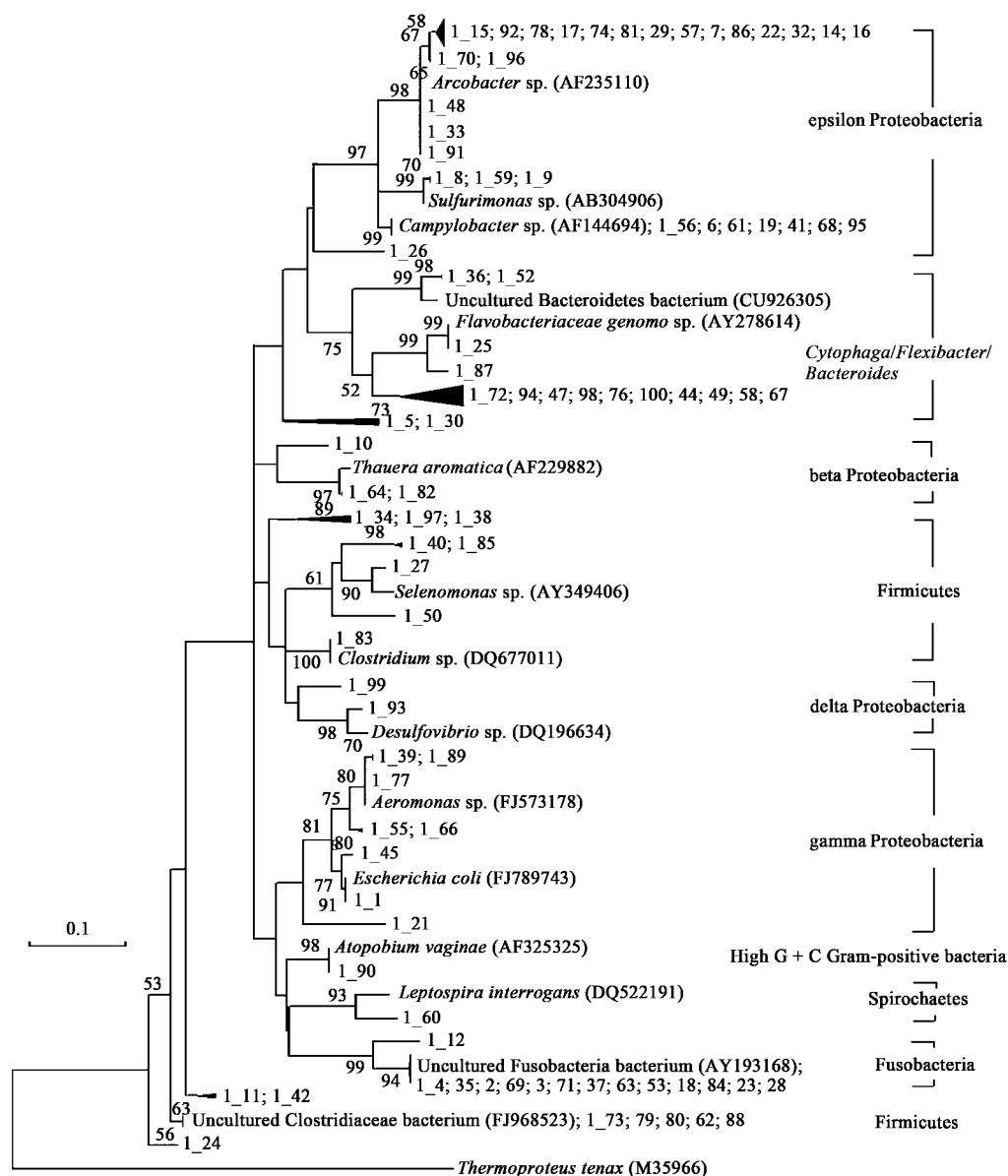


图2 NJ法构建的D1样品细菌16S rDNA系统发育树

Fig. 2 Neighbor joining tree of 16S rDNA of bacteria derived from sample D1

弯菌门 (Chloroflexi)、 β -变形杆菌纲和 CFB 类群的细菌相似性较高, 主要包含玫瑰弯菌属 (*Roseiflexus*)、嗜氢菌属 (*Hydrogenophaga*)、红环菌属 (*Rubrivivax*)、*Candidatus midichloria*、*Pseudomonas*、硫发菌属 (*Thiothrix*) 和 *Flavobacterium* 等属的细菌。估计与该水样处于暴露的环境中, 而且经过了人工湿地河道处理有关, 在一定程度上导致了一些新的细菌增生, 丰富了细菌的多样性。

对照样品 D6 来自酒店附近的上庄水库, 水体呈黄绿色, 表面有轻度的蓝藻水华发生。由表 1 可知, 该样品克隆文库的覆盖率也较低, 仅为

68.89%, 其细菌多样性指数为 3.28; 对细菌 16S rDNA 系统发育树的研究结果 (表 2, 图 5) 表明, 随机选取的克隆主要与 CFB 类群、变形杆菌门 (包括 α 、 β 、 γ 和 ε -变形杆菌纲)、放线菌门和蓝细菌门等 4 个大类群的细菌相似性较高, 其中与蓝细菌相似的克隆最多, 占克隆总数的 38%, 主要包含 3 个属: 聚球藻属 (*Synechococcus*)、微囊藻属 (*Microcystis*) 和蓝菌属 (*Cyanobium*) 的细菌, 分别占蓝细菌总数的 17.6%、8.8% 和 47.1%; 其次为 CFB 类群, 约占克隆总数的 24%, 部分与 *Flavobacterium* 的细菌高度相似; 与放线菌门细菌相似的克隆约占克隆总数

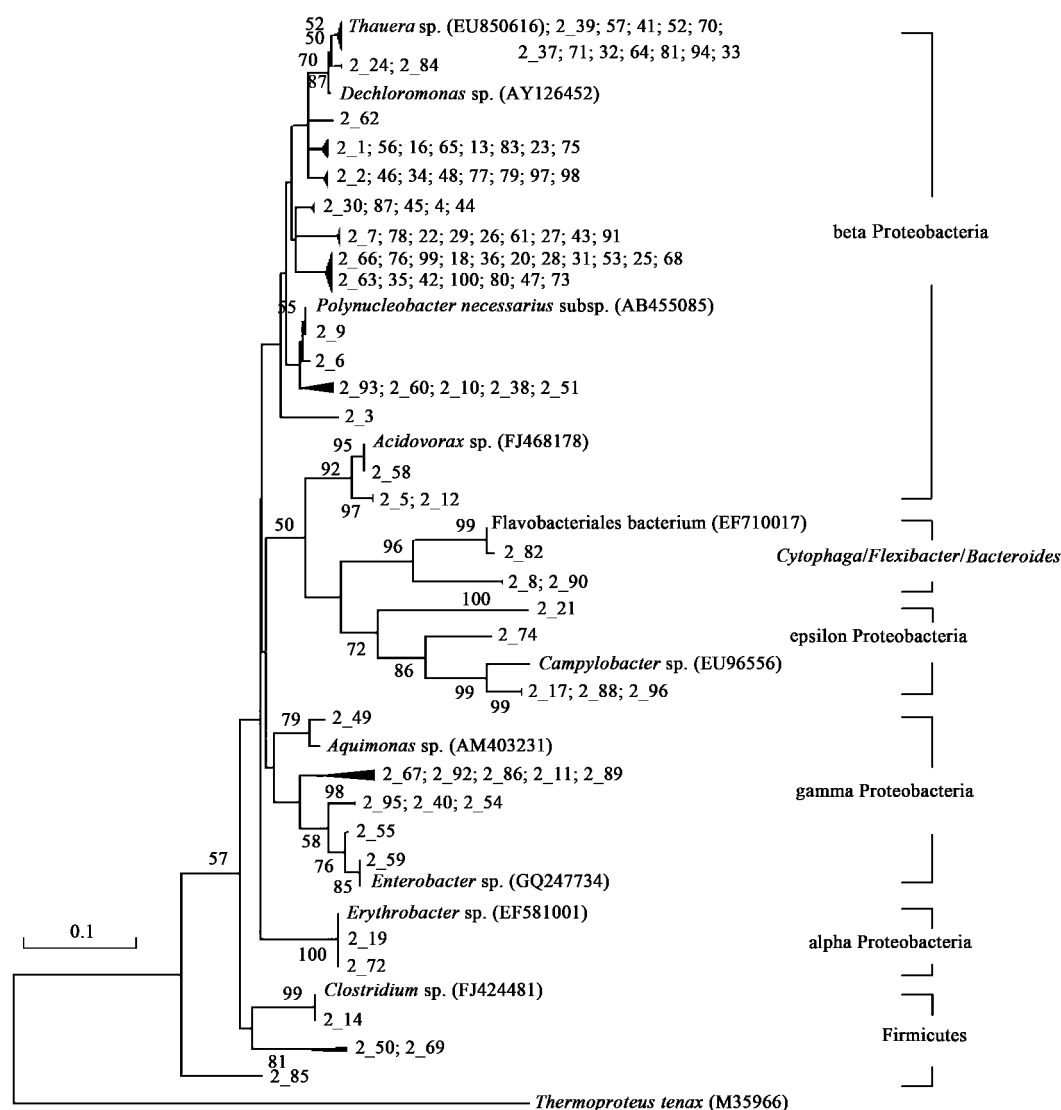


图3 NJ法构建的D2样品细菌16S rDNA系统发育树

Fig. 3 Neighbor joining tree of 16S rDNA of bacteria derived from sample D2

的13%,大部分为非培养类型,个别与 *Leifsonia* 同源性较高;与变形杆菌门相近的克隆中, β -变形杆菌纲约占克隆总数的12%,其中主要包括氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*)、*Ramlibacter* 和 *Schlegelella* 等属的细菌; α -变形杆菌纲所占比例较少,主要为 *Methylosinus*; γ -变形杆菌纲和 ε -变形杆菌纲更少,其中各有一个克隆分别与盐硫杆菌科(*Halothiobacillaceae*)的 *Thiovirga* 和 *Sulfurospirillum halorespirans* 同源性较高。

3 讨论

本研究主要利用16S rDNA文库技术,对2007年7月北京稻香湖景酒店生活污水转变为景观再生水处理过程中细菌群落的动态变化进行了分析。尽

管利用该技术不能反映水体中所有的细菌类群,也不能将所有的细菌确定到种属,但该方法能够反映水体中主要的优势细菌类群,因此基本上能够反映污水处理各环节对细菌群落结构的影响。

研究表明,随着对稻香湖景生活污水的逐级处理,细菌的群落结构及多样性均发生了明显变化。D1样品是酒店生活污水直接沉淀而未经其他处理,在已有的报道中已证实城市污水,尤其是生活污水中含有大量的致病微生物,包括致病菌和肠道病毒等^[20,21]。而在本研究中酒店的生活污水中与 ε -变形杆菌相近的克隆最多,此类群的细菌含有很多致病病原菌,如 *Campylobacter* 多为人类及其他动物的致病菌^[22]。这与未经处理的生活污水水质非常恶劣、含有大量有机物,甚至有毒物质等有关。经中水站处

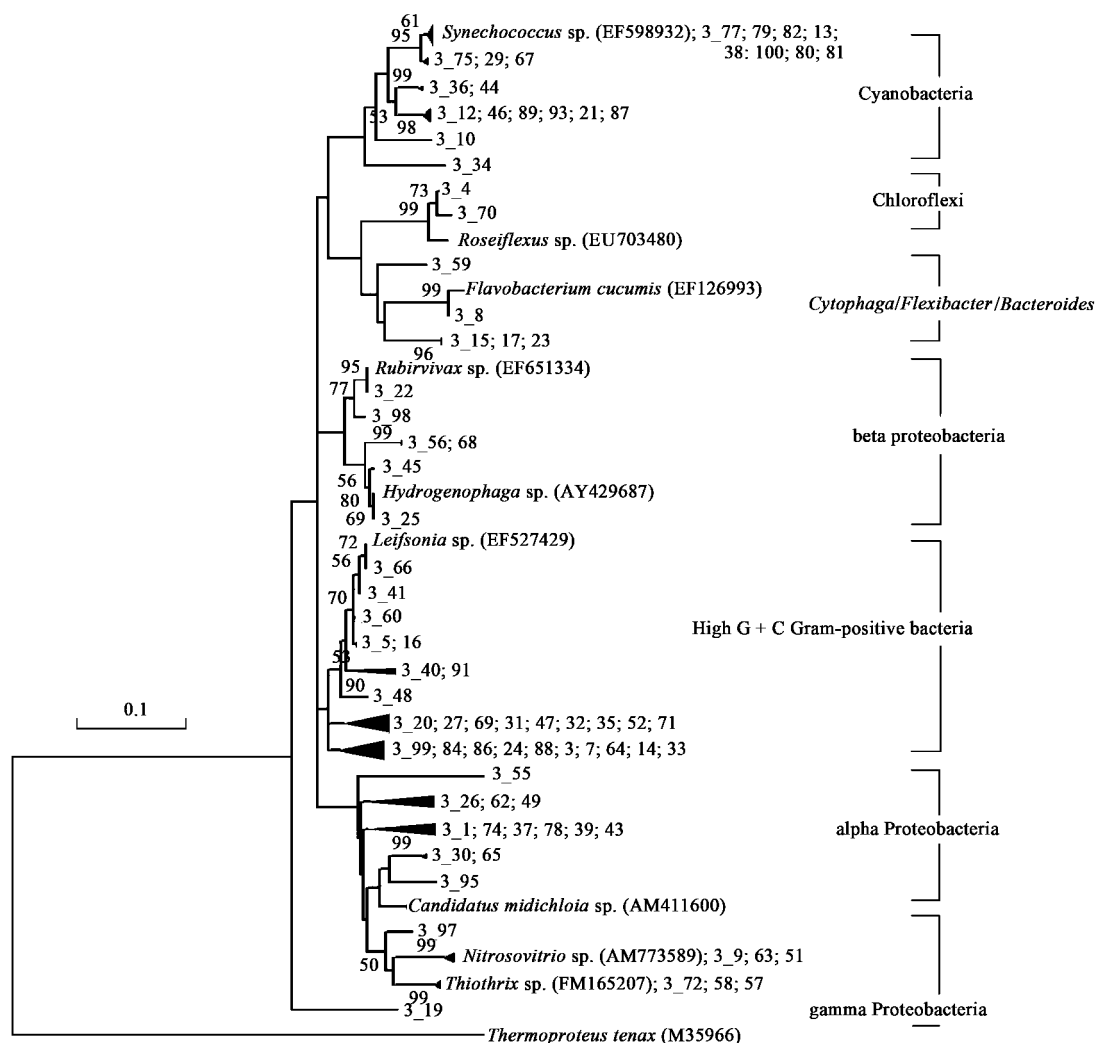


图4 NJ法构建的经湿地河道处理后水体D3样品细菌16S rDNA系统发育树

Fig.4 Neighbor joining tree of 16S rDNA of bacteria derived from sample D3

理的水体(D2样品), β -变形杆菌占据绝对优势,此时水体中有机物仍很丰富,可能与该类群的细菌倾向于利用厌氧生境中有机物降解后扩散的物质^[23,24]有关。经人工湿地系统处理(D3样品)后,水体暴露于自然环境下,放线菌门的细菌和蓝细菌成为主要的优势类群,水体细菌多样性指数增加,与以往报道基本一致^[15];而稻香湖景酒店外对照样品D6(水体有轻度蓝藻水华)中Cyanobacteria的比例较高,并检测到部分铜绿微囊藻,估计这是引起该水体轻度蓝藻水华的主要原因。

由此可见,随着稻香湖景酒店生活污水的逐级处理,细菌的群落结构发生较大变化,利用中水处理和湿地自然净化措施相叠加,最终使水体中细菌的多样性得到提高,并抑制了蓝藻水华^[25]。另对水体生化指标的分析表明,水体处理前后3项主要污

染物的去除率可达TN 51.33%、TP 50.00%、COD 70.96%。因此该再生水体可以用做景观水,甚至在抑制水华方面优于对照水体。本研究为将更多的生活污水转变为景观用水,节约水资源、提高水资源的再生利用率,同时改善周围景观环境提供借鉴作用。

另据报道,我国北方淡水水体中暴发蓝藻水华主要与铜绿微囊藻的大量繁殖有关。本研究对D6样品的分析发现:尽管该样品中有轻度的蓝藻水华出现,蓝细菌也是该水体最主要的优势细菌,但其中最主要的属并不只是微囊藻属,而是主要由3个属组成。其中蓝菌属比例最高达47.1%,优势种为Cyanobium sp. JJ27STR(AM710383),聚球藻属所占比例达17.6%,大部分与一种非培养的类型(EF598932)相近;而微囊藻属比例仅为8.8%。因此,水环境是个非常复杂的生态系统,不同类群的细

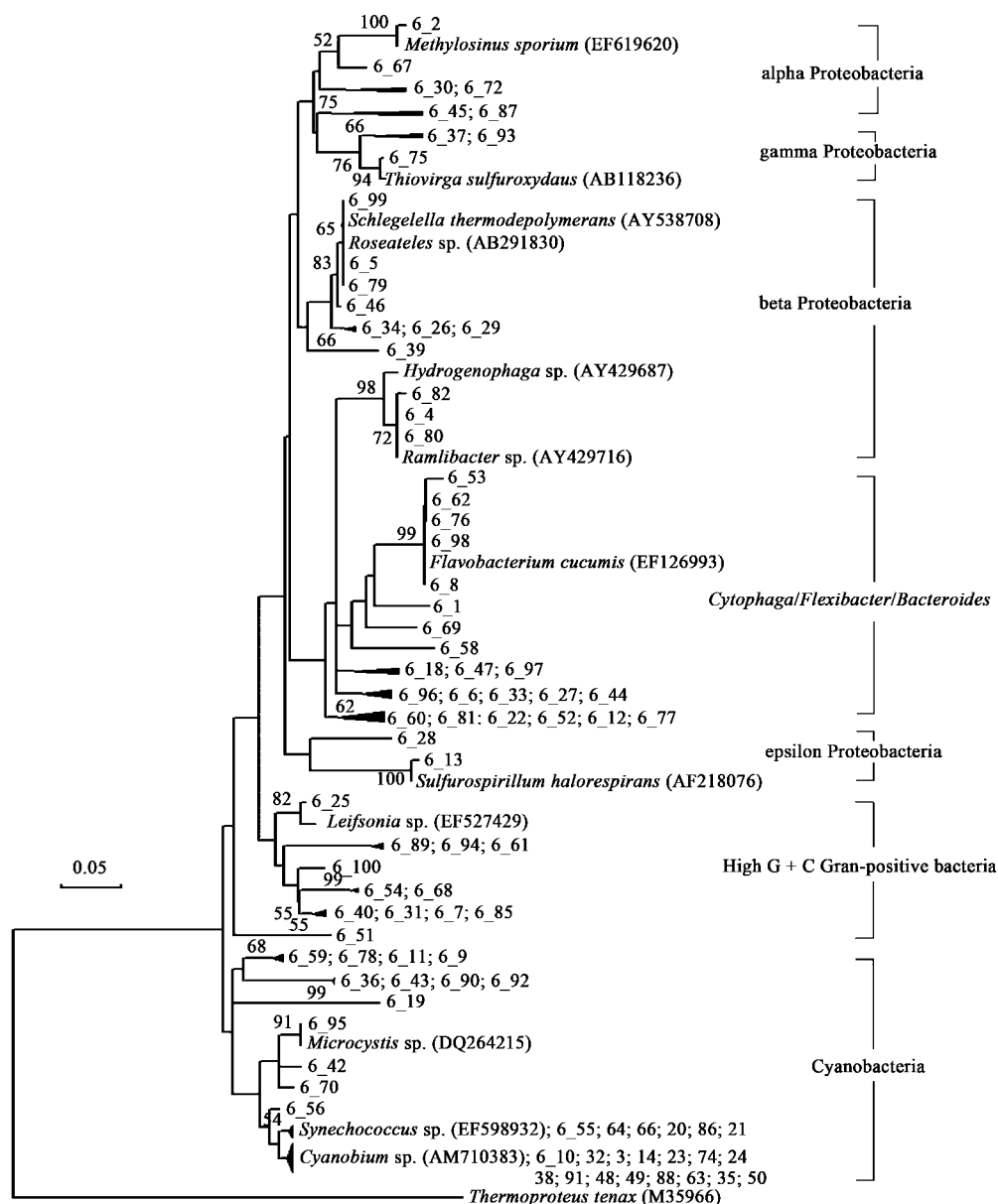


图 5 NJ 法构建的对照水体 (D6 样品) 细菌 16S rDNA 的系统发育树

Fig. 5 Neighbor joining tree of 16S rDNA of bacteria derived from control water (sample D6)

菌间或蓝细菌门内的不同种属间可能也有非常复杂的相互制约和依赖关系. 因此如何加强水环境中不同细菌类群比例的调控, 将生态系统中的微囊藻属细菌控制在一定范围, 抑制蓝藻水华的发生仍是今后努力的方向.

4 结论

(1) 北京稻香湖景酒店的生活污水经过中水站和人工湿地处理改变了水体细菌的优势群落结构和细菌的多样性. 酒店排放的生活污水 (D1 样品) 中细菌类型较多, 细菌多样性指数为 3.12, 其中 ϵ -变

形杆菌纲比例最高, 达 32%; 经中水站处理后 (D2 样品), 水体中细菌多样性指数下降到 2.41, 而 β -变形杆菌纲占据绝对优势, 比例高达 73%; 进一步经小型人工湿地处理后 (D3 样品) 细菌的多样性又升高到 3.38, 放线菌门的细菌比例达 33%, 成为最优势的类群; 水体没有蓝藻水华发生. 因此两项措施叠加能达到生产景观再生水的目的.

(2) 酒店外围上庄水库的水体 (对样品 D6) 暴发了轻度的蓝藻水华. 水体中 Cyanobacteria 的比例最高, 占克隆总数的 38%, 其主要涉及的种属为蓝菌属、聚球藻属和微囊藻属, 比例分别为 47.1%、

17.6% 和 8.8%。

参考文献:

- [1] Hunter N. Water reuse: Making use of wastewater [J]. Filtration Separation, 2007, **44**(7): 24-27.
- [2] Ogoshil M. Water reuse in Japan [J]. Water Sci Technol, 2001, **43**(10): 17-23.
- [3] 聂梅生. 美国污水回用技术调研分析[J]. 中国给水排水, 2001, **27**(9): 1-3.
- [4] 李本高, 汪燮卿. 污水回用技术进展与发展趋势[J]. 工业用水与废水, 2006, **37**(4): 1-6.
- [5] 程国斌, 白青. 我国再生水利用现状与发展趋势[J]. 水处理信息报导, 2006, **2**(1): 3-6.
- [6] 刘靖, 杜桂森, 武佃农, 等. 北京城市河湖营养状态与蓝藻水华研究[J]. 安全与环境学报, 2006, **6**(2): 5-8.
- [7] Zhao S M, Hu N, Chen Z J, *et al.* Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus* [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2009, **83**(3): 337-340.
- [8] Yang H, Abbaspour K C. Analysis of wastewater reuse potential in Beijing[J]. Desalination, 2007, **212**(1-3): 238-250.
- [9] Wang L, Li J, Kang W L. Bioremediation of eutrophicated water by *Acinetobacter calcoaceticus*[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2007, **78**(6): 527-530.
- [10] 杨小茹, 苏建强, 郑小伟, 等. 基于分子技术的 1 株产毒藻际细菌多样性分析[J]. 环境科学, 2009, **30**(1): 271-279.
- [11] Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2004, **47**(2): 161-177.
- [12] Hugenholtz P, Goebel B M, Pace N R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity[J]. J Bacteriology, 1998, **180**(24): 4765-4774.
- [13] Rappe M S, Giovannoni S J. The uncultured microbial majority [J]. Ann Rev Microbiol, 2003, **57**: 369-394.
- [14] 王晓丹, 翟振华, 赵爽, 等. 北京翠湖表流和潜流湿地对细菌多样性的影响[J]. 环境科学, 2009, **30**(1): 280-288.
- [15] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, *et al.* Molecular cloning: A laboratory Manual [M]. (2nd ed). Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [16] Gotelli N J, Entsminger G L. EcoSim: Null models software for ecology. Version 7. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. Jericho, VT 05465 [EB/OL]. <http://garyentsminger.com/ecosim.htm>.
- [17] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice[J]. Nucleic Acids Research, 1994, **22**(22): 4673-4680.
- [18] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. Brief Bioinformatics, 2004, **5**(2): 5150-5163.
- [19] Figueiredo D R, Pereira M J, Moura A, *et al.* Bacterial community composition over a dry winter in meso-and eutrophic Portuguese water bodies [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2007, **59**(3): 638-650.
- [20] Patti A M, Pana A. The fate of pathogens in waste-waters [J]. Ann Ig, 1989, **1**(6): 1329-1336.
- [21] 戴天性. 环境生态学 [M]. 北京: 中国建材工业出版社, 2002.
- [22] 沈萍, 彭珍荣, 等. 微生物学 [M]. (第五版). 北京: 高等教育出版社, 2003. 518-519.
- [23] Nijburg J W, Laanbroek H J. The influence of *Glyceria maxima* and nitrate input on the composition and nitrate metabolism of the dissimilatory nitrate-reducing bacterial community [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1997, **22**(1): 57-63.
- [24] Kisand V, Cuadros R, Wikner J. Phylogeny of culturable estuarine bacteria catabolizing riverine organic matter in the Northern Baltic Sea [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, **68**(1): 379-388.
- [25] 李荣旗, 杜桂森, 李慧敏, 等. 北京稻香湖园林水系的浮游植物与水质变化[J]. 世界科技研究与发展, 2008, **30**(3): 307-309.