

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第1期

Vol.33 No.1

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

30年来中国民航运输行业的大气污染物排放	何吉成(1)
北京上甸子站气相色谱法大气 CH ₄ 和 CO 在线观测方法研究	汪巍,周凌晔,方双喜,张芳,姚波,刘立新(8)
2010年1月北京城区大气消光系数重建及其贡献因子	朱李华,陶俊,陈忠明,赵岳,张仁健,曹军骥(13)
广东东江流域多氯萘的大气沉降研究	王琰,李军,刘向,成志能,张瑞杰,张干(20)
塔克拉玛干沙尘暴源区空气微生物群落的代谢特征	段魏魏,娄恺,曾军,胡蓉,史应武,何清,刘新春,孙建,晁群芳(26)
紫外光降解对生物过滤塔去除氯苯性能的影响机制研究	王灿,席劲瑛,胡洪营,姚远(32)
春季黄渤海溶解有机碳的平面分布特征	丁雁雁,张传松,石晓勇,商荣宁(37)
春季胶州湾海水汞的形态研究	许廖奇,刘汝海,王金玉,汤爱坤,王舒(42)
丽江盆地地表-地下水的水化学特征及其控制因素	蒲焘,何元庆,朱国锋,张蔚,曹伟宏,常丽,王春风(48)
塔里木河下游输水间歇地下水埋深及化学组分的变化	陈永金,李卫红,董杰,刘加珍(55)
某危险废物填埋场地下水污染预测及控制模拟	马志飞,安达,姜永海,席北斗,李定龙,张进保,杨昱(64)
北京市城市降雨径流水质评价研究	侯培强,任玉芬,王效科,欧阳志云,周小平(71)
重庆市路面降雨径流特征及污染源解析	张千千,王效科,郝丽岭,侯培强,欧阳志云(76)
沉水植物床-固定化微生物技术在水源地修复中的应用研究	陈祈春,李正魁,王易超,吴凯,范念文(83)
Pd/TiO ₂ 对水体中2,4-二氯酚的催化加氢脱氯研究	张寅,邵芸,陈欢,万海勤,万玉秋,郑寿荣(88)
pH 值对纳米零价铁吸附降解 2,4-二氯苯酚的影响	冯丽,葛小鹏,王东升,汤鸿霄(94)
给水管网中耐氯性细菌的灭活特性研究	陈雨乔,段晓笛,陆品品,王茜,张晓健,陈超(104)
安徽省畜禽粪便污染耕地、水体现状及其风险评价	宋大平,庄大方,陈巍(110)
染整废水深度处理纳滤工艺膜污染成因分析	曹晓兵,李涛,周律,杨海军,王晓(117)
间歇式气水联合反冲洗生物炭池的试验研究	谢志刚,邱雪敏,赵燕玲(124)
pH 及表面活性剂对诺氟沙星在海洋沉积物上吸附行为的影响	庞会玲,杨桂朋,高先池,曹晓燕(129)
硅在湖泊沉积物上的吸附特征及形态分布研究	吕昌伟,崔萌,高际玫,张细燕,万丽丽,何江,孟婷婷,白帆,杨旭(135)
农作物残体制备的生物炭对水中亚甲基蓝的吸附作用	徐仁扣,赵安珍,肖双成,袁金华(142)
高分子固体废物基活性炭对有机染料的吸附解吸行为研究	廉菲,刘畅,李国光,刘一夫,李勇,祝凌燕(147)
活性污泥对四环素的吸附性能研究	陈瑞萍,张丽,于洁,陶芸,张忠品,李克勋,刘东方(156)
加油站油类污染物自然衰减现场试验研究	贾慧,武晓峰,胡黎明,刘培斌(163)
生物炭对土壤中氯苯类物质生物有效性的影响及评价方法	宋洋,王芳,杨兴伦,卞永荣,谷成刚,谢祖彬,蒋新(169)
利用第二缺氧段硝酸盐氮浓度作为 MUCT 工艺运行控制参数	王晓玲,尹军,高尚(175)
数学模拟好氧颗粒污泥的形成及水力剪切强度对颗粒粒径的影响	董峰,张捍民,杨凤林(181)
不同污泥停留时间对城市污泥生物沥浸推流式运行系统的影响	刘奋武,周立祥,周俊,姜峰,王电站(191)
间歇曝气生物滤池生物除磷性能研究	曾龙云,杨春平,郭俊元,罗胜联(197)
鸡粪与互花米草沼渣混合发酵产甲烷的研究	陈广银,常志州,叶小梅,杜静,徐跃定,张建英(203)
北京市生活垃圾填埋场产甲烷不确定性定量评估	陈操操,刘春兰,李铮,王海华,张妍,王璐(208)
外加酶强化剩余污泥微生物燃料电池产电特性的研究	杨慧,刘志华,李小明,杨麒,方丽,黄华军,曾光明,李硕(216)
赤潮藻电致化学发光分子探针检测系统的构建	朱霞,甄毓,米铁柱,池振明,徐晓春(222)
邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻的抑制机制研究	别聪聪,李锋民,王一斐,王昊云,赵雅茜,赵薇,王震宇(228)
纳米 TiO ₂ 对短裸甲藻的毒性效应	李锋民,赵薇,李媛媛,田志佳,王震宇(233)
苏州河底泥 3 种内分泌干扰物的空间分布及环境风险	李洋,胡雪峰,王效举,茂木守,大塚宜寿,细野繁雄,杜艳,姜琪,李珊,冯建伟(239)
电子废物拆解区农业土壤中 PCNs 的污染水平、分布特征与来源解析	王学彤,贾金盼,李元成,孙阳昭,吴明红,盛国英,傅家谟(247)
洛阳市不同功能区道路灰尘重金属污染及潜在生态风险	刘德鸿,王发园,周文利,杨玉建(253)
湘江流域土壤重金属污染及其生态环境风险评价	刘春早,黄益宗,雷鸣,郝晓伟,李希,铁柏清,谢建治(260)
广西铅锡矿冶炼区土壤剖面及孔隙水中重金属污染分布规律	项萌,张国平,李玲,魏晓飞,蔡永兵(266)
缺氧条件下土壤砷的形态转化与环境行为研究	吴锡,许丽英,张雪霞,宋雨,王新,贾永锋(273)
可渗透反应复合电极法对铬(VI)污染土壤的电动修复	付融冰,刘芳,马晋,张长波,何国富(280)
胡敏酸对汞还原能力的测定和表征	江韬,魏世强,李雪梅,卢松,李梦婕,罗畅(286)
Zn(II) 对生物质碳源处理酸性矿山排水中厌氧微生物活性影响	黎少杰,陈天虎,周跃飞,岳正波,金杰,刘畅(293)
油气田土壤样品中可培养丁烷氧化菌多样性研究	张莹,李宝珍,杨金水,汪双清,袁红莉(299)
利用 PCR-DGGE 分析未开发油气田地表微生物群落结构	满鹏,齐鸿雁,呼庆,马安周,白志辉,庄国强(305)
黄土高原六道沟流域 8 种植物根际细菌与 AMF 群落多样性研究	封晔,唐明,陈辉,丛伟(314)
鸡粪与猪粪所含土霉素在土壤中降解的动态变化及原因分析	张健,关连珠,颜丽(323)
杂质对废塑料裂解产物及污染物排放的影响	赵磊,王中慧,陈德珍,马晓波,栾健(329)
《环境科学》征稿简则(7) 《环境科学》征订启事(19) 信息(47,70,202,304)	

油气田土壤样品中可培养丁烷氧化菌多样性研究

张莹¹, 李宝珍¹, 杨金水¹, 汪双清², 袁红莉^{1*}

(1. 中国农业大学生物学院, 北京 100193; 2. 国家地质实验测试中心, 北京 100037)

摘要: 分别采用丁烷或丁醇选择培养法, 对采自四川省达州市普光气田和湖北省江汉油田的土壤样品中的丁烷氧化菌进行了分离、纯化、16S rRNA 基因序列测定及系统发育研究, 探讨不同油田不同环境中烃氧化菌数量、系统发育地位以及种群多样性的差异。结果表明, 初步分离获得共 25 株丁烷氧化菌, 分属于厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)。2 个油田样品分离出的丁烷氧化菌群落结构简单, 均包括芽孢杆菌(*Bacillus*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、红球菌(*Rhodococcus*)和节杆菌(*Arthrobacter*)4 个属的细菌, 苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)和分支杆菌属(*Mycobacterium*)的细菌分离自普光气田。普光气田分离出的丁烷氧化菌数量和多样性略高于江汉油田。

关键词: 丁烷氧化菌; 微生物油气勘探; 16S rRNA 基因; 丁烷; 系统发育分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)01-0299-06

Diversity of Culturable Butane-oxidizing Bacteria in Oil and Gas Field Soil

ZHANG Ying¹, LI Bao-zhen¹, YANG Jin-shui¹, WANG Shuang-qing², YUAN Hong-li¹

(1. College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037, China)

Abstract: Butane-oxidizing bacteria in soil sample sites from Puguang gas field in Sichuan province and Jiangnan oil field in Hubei province were isolated and 16S rRNA gene sequence and phylogenetic analysis were applied. The differences of number and phylogenetic position and population diversity of hydrocarbon-oxidizing bacteria in different environment were investigated. The results show that 25 strains of butane-oxidizing bacteria were isolated. Based on sequencing of 16S rRNA gene, the species of bacteria in two samples are classified into 3 phyla including Firmicutes, Actinobacteria and Proteobacteria. The community structure of butane-oxidizing bacteria isolated from two oil samples is simple, both of them contain 4 genus including *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* and *Arthrobacter*. Strains in the genus *Ochrobactrum* and *Mycobacterium* were only isolated from Puguang gas field. The number and population diversity of butane-oxidizing bacteria in Puguang gas field was more than those in Jiangnan oil field.

Key words: butane-oxidizing bacteria; microbial prospect oil and gas; 16S rRNA gene; butane; phylogenetic analysis

人类对石油天然气的需求量日益增大, 自然界可用的油气储备已经告急, 因此需采用各种手段加大油气藏的探测。微生物油气勘探技术以其直接、有效、快速和经济等优势日益受到全球油气勘探工作者的重视。其理论基础是油气藏中的 $C_1 \sim C_4$ 轻烃气体在油气藏压力的驱动下, 以微泡上浮或连续气相流形式沿微裂隙垂直地向上运移, 进入表层沉积物中, 成为土壤中专性烃氧化菌的碳源, 而使烃氧化菌得到富集从而异常发育, 因此通过检测微生物的种群组成特点可以推测油气藏的存在状况^[1~3]。

微生物作为近地表油气化探技术的一种指标, 在近地表油气化探创立初期就已引起了重视。早在 20 世纪 30 年代, 前苏联研究者就提出利用近地表土壤中烃氧化菌进行油气勘探的设想^[4,5]。1956 年, 德国科学家 M. Wagner 博士也独立开发了油气微生物勘探技术(microbial prospection for oil and gas, MPOG), 该技术认为甲烷为油气田上方最主要的轻烃成分, 采用分析甲烷氧化菌的方法达到勘探油气

的目的, 发现高丰度的甲烷氧化菌可以推测油气藏的存在。同期, 美国菲利浦石油公司研究出微生物石油测量技术(microbial oil survey technique, MOST), 该技术的核心理论依据是 $C_1 \sim C_4$ 轻烃气体中, 丁烷受人为影响较少主要来源于油气藏, 认为采用丁烷氧化菌作为研究对象对油气勘探更具有专属性。MOST 技术通过以丁醇为碳源分离获得丁烷氧化菌, 并分析其菌株数量和活性, 从而达到勘探土壤下方油气的目的。随后在全球 50 多个国家和地区完成了 3 000 多个项目, 取得了巨大的成果, 并沿用至今^[6]。而在众多 MOST 勘探成功实例中, 绝大多数为商业项目, 由于保护商业机密而很少见于公开发表。

基于 16S rRNA 基因的微生物生态学方法已被用来研究森林、稻田、草原土壤和海湖沉积物中的微

收稿日期: 2011-01-24; 修订日期: 2011-04-25

基金项目: 国土资源部公益性行业科研专项经费项目(200911043)

作者简介: 张莹(1986~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: zhangying3409@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: hlyuan@cau.edu.cn

生物群落.对油气田微生物群落的研究主要集中在油田产出油水样、油田地层水样中的微生物群落^[7-9],以及油气田上方土壤样品中甲烷氧化菌或总细菌群落结构^[10,11].而对于油气田上方土壤中的丁烷氧化菌的群落研究报道却很少.

本研究以丁烷或丁醇为唯一碳源的选择培养法对采自普光气田和江汉油田的土壤样品中的丁烷氧化菌进行了分离、纯化、16S rRNA 基因序列测定及系统发育研究,探讨这 2 种油田不同环境中丁烷氧化菌数量、系统发育地位以及种群多样性组成特点,以期为微生物勘探技术的发展奠定基础.

1 材料与方法

1.1 油气田样品及实验材料

样品分别取自四川省达州市普光气田和湖北省江汉油田,此 2 处为中国陆地境内典型的两大石油田和天然气田.由国家地质分析中心按烃分布特点选取距离油气井口 200 m 的 4 个采样点,保证了土壤样品的烃含量和采样的随机性,样品采集深度约为 30 cm.采集的土壤样品立即放入无菌的密封袋中,4℃ 保存.

正丁烷(纯度为 >99.99%)购买自北京绿菱气体有限公司.其他所有液体固体试剂均为分析纯.

1.2 培养基及实验方法

1.2.1 培养基

采用无碳源 *Xanthobacter* Py2 培养基^[12-14]成分如下:K₂HPO₄ 1.55 g; NaH₂PO₄ 0.85 g; NH₄Cl 2.0 g; MgCl₂·6H₂O 0.075 g; (NH₄)₂SO₄ 0.1 g; ZnSO₄·7H₂O 0.004 4 g; 微量元素 0.2 mL; H₂O 1 L; 微量元素: ddH₂O 1 L, CaCl₂ 5.54 g, MnCl₂ 5.06 g, FeSO₄ 4.99 g, (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 1.10 g, CuSO₄ 1.57 g, CoCl₂ 1.61 g; 丁烷或丁醇为唯一碳源, pH 为 7.0.

1.2.2 丁烷氧化菌的富集及分离纯化方法

(1) 以丁烷为碳源富集丁烷氧化菌

在无菌条件下将土壤样品碾碎,称取 1 g 放入盛有 50 mL 灭菌无碳源 *Xanthobacter* Py2 培养基的 150 mL 锥形瓶中,充入 50 mL 正丁烷气体替换瓶中原有等体积的空气作为培养的唯一碳源^[15],丁基橡胶塞封口,150 r·min⁻¹, 30℃ 培养 6 d.

(2) 以丁烷为碳源分离纯化丁烷氧化菌

将富集后的细菌悬液和未富集的土壤样品稀释后分别涂布于无碳源 *Xanthobacter* Py2 固体培养基中,而后置于灭菌密封的干燥器中.向干燥器中充入正丁烷使干燥器中正丁烷的含量为 50%,空气的含

量为 50%^[13], 30℃ 进行培养.挑选长出的菌落,在同样培养条件多次划线获得纯培养.

(3) 以丁醇为碳源富集丁烷氧化菌

在无菌条件下将土壤样品碾碎,称取 1 g 放入盛有 50 mL 灭菌无碳源 *Xanthobacter* Py2 培养基的 150 mL 锥形瓶中,添加丁醇为唯一碳源,分别在丁醇浓度为 0.5%、1%、2%、5% 和 10% 这 5 个浓度下 30℃ 富集培养 6 d.

(4) 以丁醇为碳源分离纯化

将富集后的土壤悬液和未富集的土壤样品稀释后分别涂布于以不同浓度丁醇为唯一碳源的 *Xanthobacter* Py2 固体培养基平板, 30℃ 进行培养.挑选长出的菌落,在同样培养条件多次划线获得纯培养.

1.3 16S rRNA 基因序列分析

使用正向引物为 5'-GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG-3' 反向引物为 5'-CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA-3' 对分离纯化得到的丁烷氧化菌的 16S rRNA 基因序列进行 PCR 扩增, PCR 扩增体系及程序参见文献[16]. 反应条件: 95℃ (1 min 30 s)—[95℃ (30 s)—56℃ (30 s)—72℃ (1 min)] (25 个循环)—72℃ (10 min)—4℃ 保持.

1.4 测序并构建系统发育树

将扩增得到的 PCR 产物委托华大基因公司(北京)测序.所得 16S rRNA 基因序列使用 BLAST 程序与 GenBank 数据库中的序列进行比对分析(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>),根据每条序列的比对结果,选择并下载相似性最高的核酸序列作为参比序列.使用 ClustalX (1.81) 软件包对测得 16S rRNA 基因序列与参比序列进行排序(align); 利用 Phylip-3.63 软件包,通过距离依靠法(distance method,即进化树的拓扑形状由两两序列之间的进化距离决定)中的邻位相连法(neighbor-joining)构建系统发育树,使用 SETBOOT 和 CONSENSE 程序对构建的系统发育树进行区分;经过 100 个复制,采用 bootstrapping 方法对系统发育树进行评估,迷醉中使用 TreeView 程序显示.

1.5 物种丰度指数分析及评估

Margaleg 指数: $D = (S - 1) / \ln N$

式中, N 为个体总数; S 为生态系统中物种数目.

2 结果与讨论

以正丁烷为唯一碳源,从普光气田和江汉油田 2 地样品中总共分离得到 17 株细菌(表 1),其 16S

表 1 以丁烷为唯一碳源分离获得的丁烷氧化菌及其 16S rRNA 基因序列的 BLAST 比对结果

Table 1 Butane-oxidizing bacteria isolated using butane as the sole carbon source			
菌株编号	最相关种属名 (GenBank 登录号)	相似性/%	菌株来源
3-1	<i>Pseudomonas</i> sp. VA-14 (DQ984205.1)	99	1、2 ¹⁾
3-2	<i>Arthrobacter</i> sp. 1_O_28 (EF540461.1)	99	1、2
3-3	<i>Arthrobacter</i> sp. TD3 (EF468655.1)	99	2
3-4	<i>Bacillus simplex</i> strain DJFZ57 (GU969132.1)	99	2
3-5	<i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> (AJ617741.1)	98	1
3-6	<i>Rhodococcus aetherivorans</i> (AB546298.1)	99	1、2
3-7	<i>Bacillus</i> sp. MHS038 (DQ993299.1)	99	1、2
3-8	<i>Ochrobactrum</i> sp. p1 (HM004554.1)	99	1
3-9	<i>Bacillus</i> sp. JY01 (EU798946.1)	99	1
3-10	<i>Pseudomonas</i> sp. WH1 (FJ262366.1)	99	1
3-11	<i>Pseudomonas</i> sp. RB5 (GU232769.2)	98	2
3-12	<i>Bacillus megaterium</i> strain ZFJ-14 (EU931553.1)	99	1
3-13	<i>Rhodococcus</i> sp. TS1 (EU073067.1)	99	2
3-14	<i>Pseudomonas</i> sp. IMER-A2-6 (FJ436426.1)	99	2
3-15	<i>Pseudomonas</i> sp. 3C-6 (AY689033.1)	99	1
3-16	<i>Rhodococcus globerulus</i> strain AZ1-15 (GU332596.1)	99	1
3-17	<i>Rhodococcus</i> sp. Z25 (FJ752527.1)	99	1

1) 1 表示菌株分离自普光气田土壤样品, 2 表示菌株分离自江汉油田土壤样品, 下同

rRNA 基因序列与 Genbank 上登录的与最相关种属的细菌的相似性都大于 98%。

表 1 中有 8 株仅分离自普光气田, 其中有 2 株红球菌属 (*Rhodococcus*)、2 株芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、1 株苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*)、2 株假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、1 株分支杆菌属 (*Mycobacterium*)。5 株仅分离自江汉油田, 其中 1 株节杆菌属 (*Arthrobacter*)、1 株 *Bacillus*、2 株 *Pseudomonas*、1 株 *Rhodococcus*。4 株在 2 个采样点都分离得到, 分别为 *Pseudomonas*、*Arthrobacter*、

Bacillus、*Rhodococcus* 各 1 株。

在丁烷单加氧酶的作用下, 丁烷氧化菌将丁烷逐次氧化成丁醇、丁醛, 并最终形成丁酸的形式进入碳循环^[14]。丁醇对细胞具有毒性作用, 然而丁烷氧化菌具有丁醇耐受能力, 并且通过氧化丁醇作为碳源进行生长是丁烷氧化菌的必备能力^[17]。利用丁烷氧化菌的这种特性, 同时以丁醇为唯一碳源进行丁烷氧化菌的分离及系统发育分析 (如表 2), 其 16S rRNA 基因序列与 GenBank 上最相关种属的相似性 > 99%。

表 2 以丁醇为碳源分离获得丁烷氧化菌 16S rRNA 基因序列的 BLAST 比对结果

Table 2 Butane-oxidizing bacteria isolated using butanol as the sole carbon source				
菌株编号	最相关种属名 (GenBank 登录号)	菌株来源	相似性/%	丁醇浓度/%
5-2	<i>Bacillus</i> sp. NyZ43 (HQ231222.1)	2	99	0.5
5-3	<i>Bacillus</i> sp. SYW15 (FR846533.1)	2	98	5
5-4	<i>Bacillus</i> sp. 210_20 (GQ199722.1)	2	98	1
5-5	<i>Bacillus</i> sp. cp-h45 (EU584544.1)	1	98	10、5、0.5
5-6	<i>Bacillus</i> sp. B1408 (GQ169805.1)	1	99	5
5-6	<i>Bacillus</i> sp. B1408 (GQ169805.1)	2	99	0.5
5-7	<i>Bacillus</i> sp. B13 (GU321095.1)	1、2	99	0.5
5-8	<i>Bacillus megaterium</i> strain TS-1 (EU979528.1)	1	99	0.5
5-9	<i>Bacillus</i> sp. Pc2T (GU391510.1)	1	99	0.5
3-5	<i>Mycobacterium</i> sp. TH-2003 (AY266138.1)	1	98	10、5、2、1、0.5
3-6	<i>Rhodococcus aetherivorans</i> (AB546298.1)	1、2	99	10、1、0.5
3-10	<i>Pseudomonas</i> sp. WH1 (FJ262366.1)	1	99	0.5
3-12	<i>Bacillus megaterium</i> strain ZFJ-14 (EU931553.1)	1、2	99	2
3-13	<i>Rhodococcus</i> sp. TS1 (EU073067.1)	2	99	5、0.5

表 2 中有 5 株细菌仅分离自普光气田, 其中 3 株 *Bacillus*、1 株 *Pseudomonas*、1 株 *Mycobacterium*。4

株仅分离自江汉油田, 其中 3 株 *Bacillus*、1 株 *Rhodococcus*。4 株在 2 个采样点都分离得到, 分别为

Bacillus 3 株、*Rhodococcus* 1 株。

细菌多样性的物种丰度进行评估分析如下, 针对普光气田分离所得细菌的 Margaleg 指数 $(17 - 1)/\ln 53 = 4.03$, 江汉油田分离所得细菌的 Margaleg

指数 $(15 - 1)/\ln 22 = 4.53$ 。

对分离到的 25 株丁烷氧化菌用 MEGA 3.1 软件进行系统发育树构建如图 1 所示。

分离获得的 25 株丁烷氧化菌分属于 3 个门, 其

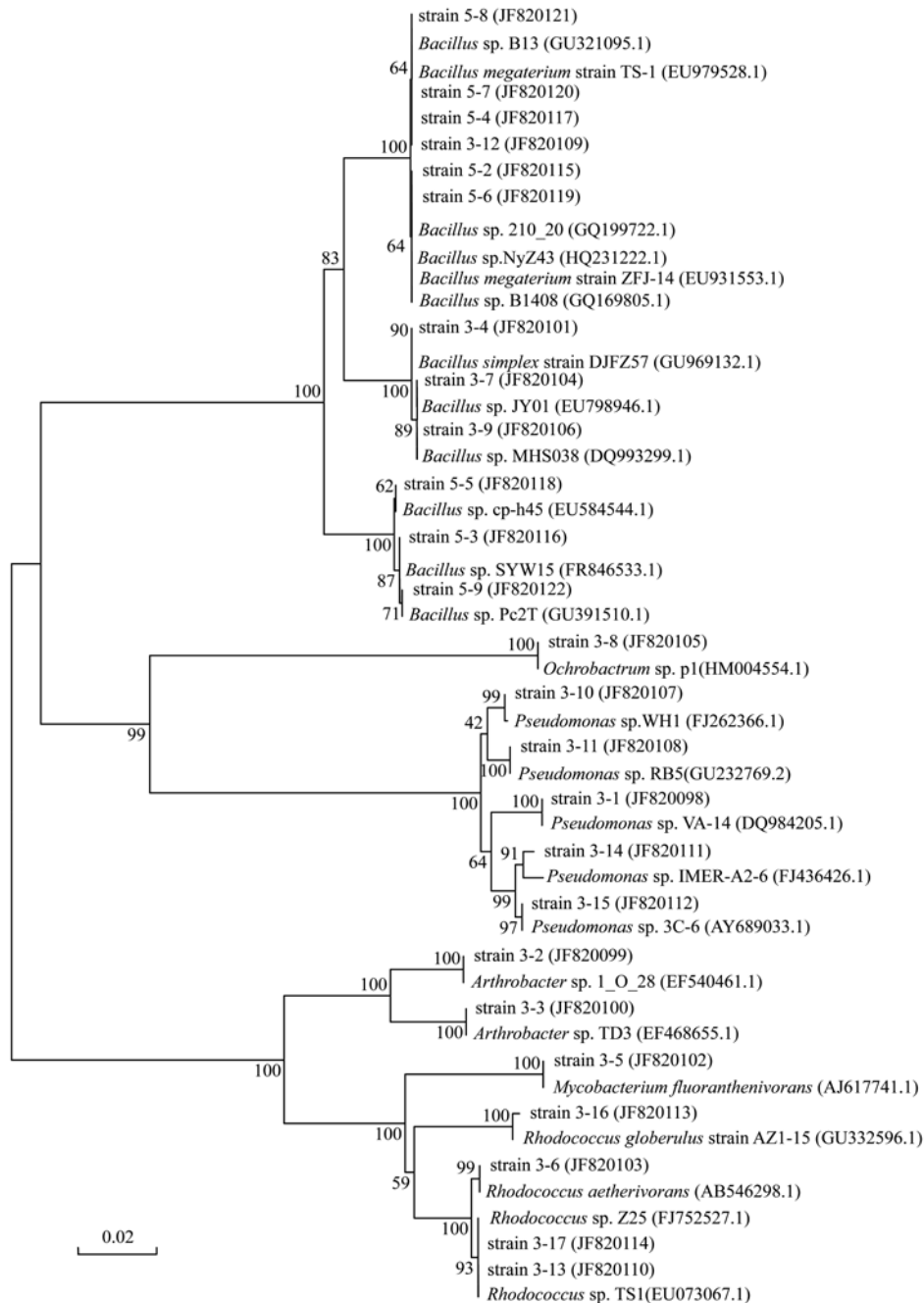


图 1 丁烷氧化菌 16S rRNA 基因系统发育树

Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree of sequences of the 16S rRNA gene of butane-oxidizing bacteria

中厚壁菌门 (Firmicutes) 12 株, 均与 *Bacillus* 细菌同源性最高, 分离自普光气田的有 3-7、3-9、3-12、5-5、5-6、5-7、5-8、5-9, 分离自江汉油田的有 3-4、3-7、5-2、5-3、5-4、5-6、5-7; 放线菌门

(Actinobacteria) 7 株, 菌株 3-2、3-3 与 *Arthrobacter* 同源性较高, 3-5 与 *Mycobacterium* 同源性较高, 3-6、3-13、3-16、3-17 与 *Rhodococcus* 同源性较高; 变形菌门 (Proteobacteria) 6 株, 菌株 3-1、3-10、3-11、3-

15、3-14 与 γ -变形杆菌纲 (Gamaproteobacteria) 的 *Pseudomonas* 同源性较高, 3-8 与 α -变形杆菌纲 (Alphaproteobacteria) 的 *Ochrobactrum* 同源性较高。

比较表 1 和表 2, 以丁烷为唯一碳源分离得到的丁烷氧化菌分布在 *Pseudomonas*、*Rhodococcus*、*Arthrobacter*、*Bacillus*、*Mycobacterium*、*Ochrobactrum*。以丁醇为唯一碳源分离得到的丁烷氧化菌分布在 *Pseudomonas*、*Rhodococcus*、*Bacillus*、*Mycobacterium*。2 种方法得到结果基本一致, 只是以丁烷为碳源分离到的丁烷氧化菌多样性相对较高, 并且包含了以丁醇为碳源分离到的丁烷氧化菌属多样性, 但 2 种分离方法同时使用可以得到更多的丁烷氧化菌。

结果表明江汉油田和普光气田上方土壤的丁烷氧化菌群落组成均具有一定的特异性, 并且与一般土壤微生物多样性相比, 油田土壤中丁烷氧化菌的多样性明显偏低^[18], 主要集中在 *Pseudomonas*、*Rhodococcus*、*Arthrobacter*、*Bacillus*、*Mycobacterium*、*Ochrobactrum*。已有报道中油气田上方土壤分离到的丁烷氧化细菌主要集中在 *Mycobacterium*、诺卡氏菌属 (*Nocardiodes*)、*Pseudomonas*、*Rhodococcus*、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)^[19~23], 少有 *Arthrobacter*、*Bacillus* 和 *Ochrobactrum* 这 3 个属中的细菌具有降解丁烷能力的报道, 这可能与研究者所用的材料有关。此外在 2 个采样地点均分离到 *Pseudomonas*、*Rhodococcus*、*Arthrobacter*、*Bacillus* 这 4 个属的菌株, 表明此 4 个属的丁烷利用菌对普光气田和江汉油田两处的地理环境均有较好的适应性。

3 结论

(1) 共分离到丁烷氧化菌 25 株, 分属于厚壁菌门、放线菌门和变形菌门中。2 个油田样品分离出的丁烷氧化菌均包括芽孢杆菌属、假单胞属、红球菌属、和节杆菌属 4 个属的细菌, 苍白杆菌属和分支杆菌属的细菌分离自普光气田。普光气田分离出的丁烷氧化细菌数量和多样性略高于江汉油田。

(2) 节杆菌属、芽孢杆菌属和苍白杆菌属的细菌具有丁烷降解能力。

(3) 丁醇为唯一碳源分离的丁醇氧化菌基本具有丁烷降解能力。

(4) 富集后细菌悬液中丁烷氧化菌的种类和数量明显多于未富集的土壤样品。

参考文献:

[1] Klusman R W, Saeed M A. Comparison of light hydrocarbon microseepage mechanisms [A]. In: Schumacher D, Abrams M

A, (eds.). Hydrocarbon migration and its near-surface expression [M]. AAPG Memoir, 1996. 157-168.

[2] Saunders D F, Buraon K R, Thompson C K. Model for hydrocarbon microseepage and related near-surface alterations [J]. AAPG Bulletin, 1999, **83**(1): 170-185.

[3] Thrasher J, Fleet A J, Hay S J, et al. Understanding geology as the key to using seepage in exploration [J]. AAPG Memoir, 1996, **66**(1): 223-241.

[4] Mogilewskii G A. Microbiological investigations in connecting with gas surveying [J]. Razvedka Nedr, 1938, **8**(1): 59-68.

[5] Mogilewskii G A. The bacterial method of prospecting for oil and natural gases [J]. Razvedka Nedr, 1940, **12**(1): 32-43.

[6] Hitzman D O. Prospecting for petroleum deposits [P]. US Patent: No2880142, 1959.

[7] Lysnes K, Bødtker G, Torsvik T, et al. Microbial response to reinjection of produced water in an oil reservoir [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, **83**(6): 1143-1157.

[8] Kaster K M, Bonaunet K, Berland H, et al. Characterisation of culture-independent and -dependent microbial communities in a high-temperature offshore chalk petroleum reservoir [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2009, **96**(4): 423-439.

[9] 余跃惠, 张学礼, 张凡, 等. 大港孔店油田水驱油藏微生物群落的分子分析[J]. 微生物学报, 2005, **45**(3): 329-334.

[10] 王修恒. 石油微生物学在中国科学院微生物研究所的发展[J]. 微生物学通报, 2008, **35**(12): 1851-1861.

[11] 张凡, 余跃惠, 孔淑琼, 等. 天然气库上方土壤微生物群落研究[J]. 化学与生物工程, 2010, **27**(6): 54-58.

[12] Van Ginkel C G, Welten H G, Hartmants S, et al. Metabolism of trans-2-butene and butane in *Nocardia* TB1 [J]. Journal of General Microbiology, 1987, **133**(7): 1713-1720.

[13] Hamamura N, Arp D J. Isolation and characterization of alkane-utilizing *Nocardioides* sp. strain CF8 [J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, **186**(1): 21-26.

[14] Ginkel C G, Bont J A M. Isolation and characterization of alkane-utilizing *Xanthobacter* spp. [J]. Archives Microbiology, 1986, **145**(4): 403-407.

[15] Hamamura N, Storfa R T, Semprini L, et al. Diversity in butane monooxygenases among butane-grown bacteria [J]. Apply Environment Microbiology, 1999, **65**(10): 4586-4593.

[16] Di Cello F, Bevivino A, Chiarini L, et al. Biodiversity of a *Burkholderia cepacia* population isolated from the maize rhizosphere at different plant growth stages [J]. Apply Environment Microbiology, 1997, **63**(11): 4485-4493.

[17] Rosenberg E. The hydrocarbon-oxidizing bacteria [A]. In: Balows A, Truper H G, Dworkin M, et al. The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications [M]. New York: Springer-Verlag, 2006. 446-459.

[18] 陈楠, 屈建航, 李海峰, 等. 藻华暴发期太湖不同区域沉积物细菌多样性 [J]. 微生物学通报, 2009, **36**(4): 544-550.

[19] Arp D J. Butane metabolism by butane-grow '*Pseudomonas butanovora*' [J]. Microbiology, 1999, **145**(5): 1173-1180.

- [20] Ashraf W, Mihdir A, Murrell J C. Bacterial oxidation of propane [J]. FEMS Microbiology Letter, 1994, **122**(1-2): 1-6.
- [21] McLee A G, Kormendy A C, Wayman M. Isolation and characterization of n-butane-utilizing microorganisms [J]. Canadian Journal Microbiology, 1972, **18**(8): 1191-1195.
- [22] Sluis M K, Sayavedra-soto L A, Arp D J. Molecular analysis of the soluble butane monooxygenase from '*Pseudomonas butanovora*' [J]. Microbiology, 2002, **148**(11): 3617-3629.
- [23] Padda R S, Pandey K K, Kaul S, *et al.* A novel gene encoding a 54kDa polypeptide is essential for butane utilization by *Pseudomonas* sp. IMT37 [J]. Microbiology, 2001, **147**(9): 2479-2491.

《环境科学》多项引证指标名列前茅

2011年12月2日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了2010年度中国科技论文统计结果.统计结果显示2010年度《环境科学》多项引证指标位居环境科学技术、安全科学技术类科技期刊前列.

综合评价总分86.5,排名第一(排名前三名的期刊分别是《环境科学》86.5,《中国环境科学》77.9,《环境科学学报》77.3).

总被引频次5197,排名第一(排名前三名的期刊分别是《环境科学》5197,《环境科学学报》3914,《农业环境科学学报》3700).

影响因子1.125,排名第三(排名前三名的期刊分别是《环境科学研究》1.531,《中国环境科学》1.457,《环境科学》1.125).

综合评价总分是根据中国科技期刊综合评价指标体系,计算多项科学计量指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等),采用层次分析法确定重要指标的权重,分学科对每种期刊进行综合评定,计算出每个期刊的综合评价总分.这项指标屏蔽了各个学科之间总体指标背景值的差异,使科技期刊可以进行跨学科比较.根据发布的统计结果,2010年度《环境科学》综合评价总分86.5,在被统计的1998种核心期刊中名列第27位,在被统计的36种环境科学技术、安全科学技术类期刊中名列第一.

CONTENTS

Air Pollutant Emissions of Aircraft in China in Recent 30 Years	HE Ji-cheng (1)
Study on the <i>in-situ</i> Measurement of Atmospheric CH ₄ and CO by GC-FID Method at the Shangdianzi GAW Regional Station	WANG Wei, ZHOU Ling-xi, FANG Shuang-xi, <i>et al.</i> (8)
Reconstructed Ambient Light Extinction Coefficient and Its Contribution Factors in Beijing in January, 2010	ZHU Li-hua, TAO Jun, CHEN Zhong-ming, <i>et al.</i> (13)
Atmospheric Deposition of Polychlorinated Naphthalenes in Dongjiang River Basin of Guangdong Province	WANG Yan, LI Jun, LIU Xiang, <i>et al.</i> (20)
Metabolic Characteristics of Air Microbial Communities from Sandstorm Source Areas of the Taklamakan Desert ...	DUAN Wei-wei, LOU Kai, ZENG Jun, <i>et al.</i> (26)
Mechanisms of UV Photodegradation on Performance of a Subsequent Biofilter Treating Gaseous Chlorobenzene ...	WANG Can, XI Jin-ying, HU Hong-ying, <i>et al.</i> (32)
Distribution of Dissolved Organic Carbon in the Bohai Sea and Yellow Sea in Spring	DING Yan-yan, ZHANG Chuan-song, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (37)
Research on the Mercury Species in Jiaozhou Bay in Spring	XU Liao-qi, LIU Ru-hai, WANG Jin-yu, <i>et al.</i> (42)
Geochemistry of Surface and Ground Water in the Lijiang Basin, Northwest Yunnan	PU Tao, HE Yuan-qing, ZHU Guo-feng, <i>et al.</i> (48)
Variations in Depth and Chemistry of Groundwater in Interval of Water Delivery at the Lower Tarim River	CHEN Yong-jin, LI Wei-hong, DONG Jie, <i>et al.</i> (55)
Simulation on Contamination Forecast and Control of Groundwater in a Certain Hazardous Waste Landfill	MA Zhi-fei, AN Da, JIANG Yong-hai, <i>et al.</i> (64)
Research on Evaluation of Water Quality of Beijing Urban Stormwater Runoff	HOU Pei-qiang, REN Yu-fen, WANG Xiao-ke, <i>et al.</i> (71)
Characterization and Source Apportionment of Pollutants in Urban Roadway Runoff in Chongqing	ZHANG Qian-qian, WANG Xiao-ke, HAO Li-ling, <i>et al.</i> (76)
Applied Study of the Submerged Macrophytes Bed-Immobilized Bacteria in Drinking Water Restoration	CHEN Qi-chun, LI Zheng-kui, WANG Yi-chao, <i>et al.</i> (83)
Catalytic Hydrodechlorination of 2,4-Dichlorophenol over Pd/TiO ₂	ZHANG Yin, SHAO Yun, CHEN Huan, <i>et al.</i> (88)
Effects of pH Value on the Adsorption and Degradation of 2,4-DCP by Nanoscale Zero-Valent Iron	FENG Li, GE Xiao-peng, WANG Dong-sheng, <i>et al.</i> (94)
Inactivation of the Chlorine-resistant Bacteria Isolated from the Drinking Water Distribution System	CHEN Yu-qiao, DUAN Xiao-di, LU Pin-pin, <i>et al.</i> (104)
Risk Assessment of the Farmland and Water Contamination with the Livestock Manure in Anhui Province	SONG Da-ping, ZHUANG Da-fang, CHEN Wei (110)
Analysis of Membrane Fouling Genesis in Nanofiltration Process for Advanced Treatment of Dyeing and Finishing Wastewater	CAO Xiao-bing, LI Tao, ZHOU Lü, <i>et al.</i> (117)
Experimental Research on Combined Water and Air Backwashing Reactor Technology for Biological Activated Carbon	XIE Zhi-gang, QIU Xue-min, ZHAO Yan-ling (124)
Impacts of pH and Surfactants on Adsorption Behaviors of Norfloxacin on Marine Sediments	PANG Hui-ling, YANG Gui-peng, GAO Xian-chi, <i>et al.</i> (129)
Adsorption Characteristic and Form Distribution of Silicate in Lakes Sediments	LÜ Chang-wei, CUI Meng, GAO Ji-mei, <i>et al.</i> (135)
Adsorption of Methylene Blue from Water by the Biochars Generated from Crop Residues	XU Ren-kou, ZHAO An-zhen, XIAO Shuang-cheng, <i>et al.</i> (142)
Adsorption and Desorption of Dyes by Waste-Polymer-Derived Activated Carbons	LIAN Fei, LIU Chang, LI Guo-guang, <i>et al.</i> (147)
Study on the Sorption Behavior of Tetracycline onto Activated Sludge	CHEN Rui-ping, ZHANG Li, YU Jie, <i>et al.</i> (156)
<i>In situ</i> Experimental Research on Natural Attenuation of Oil Pollutants in a Gas Station	JIA Hui, WU Xiao-feng, HU Li-ming, <i>et al.</i> (163)
Influence and Assessment of Biochar on the Bioavailability of Chlorobenzenes in Soil	SONG Yang, WANG Fang, YANG Xing-lun, <i>et al.</i> (169)
Control for MUCT Process Operation Using Nitrate Concentration in the Secondary Anoxic Zone	WANG Xiao-ling, JIN Yun, GAO Shang (175)
Modeling Formation of Aerobic Granule and Influence of Hydrodynamic Shear Forces on Granule Diameter	DONG Feng, ZHANG Han-min, YANG Feng-lin (181)
Effect of Different Sludge Retention Time (SRT) on Municipal Sewage Sludge Bioleaching Continuous Plug Flow Reaction System	LIU Fen-wu, ZHOU Li-xiang, ZHOU Jun, <i>et al.</i> (191)
Biological Phosphorus Removal in Intermittent Aerated Biological Filter	ZENG Long-yun, YANG Chun-ping, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (197)
Methane Production by Anaerobic Co-digestion of Chicken Manure and <i>Spartina alterniflora</i> Residue After Producing Methane	CHEN Guang-yin, CHANG Zhi-zhou, YE Xiao-mei, <i>et al.</i> (203)
Uncertainty Analysis for Evaluating Methane Emissions from Municipal Solid Waste Landfill in Beijing	CHEN Cao-cao, LIU Chun-lan, LI Zheng, <i>et al.</i> (208)
Electricity Generation of Surplus Sludge Microbial Fuel Cells Enhanced by Additional Enzyme	YANG Hui, LIU Zhi-hua, LI Xiao-ming, <i>et al.</i> (216)
Construction of Electrochemiluminescence System for Harmful Algae Detection	ZHU Xia, ZHEN Yu, MI Tie-zhu, <i>et al.</i> (222)
Mechanism of the Inhibitory Action of Allelochemical Dibutyl Phthalate on Algae <i>Gymnodinium breve</i>	BIE Cong-cong, LI Feng-min, WANG Yi-fei, <i>et al.</i> (228)
Toxic Effects of Nano-TiO ₂ on <i>Gymnodinium breve</i>	LI Feng-min, ZHAO Wei, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (233)
Spatial Distribution of Three Endocrine Disrupting Chemicals in Sediments of the Suzhou Creek and Their Environmental Risks	LI Yang, HU Xue-feng, OH Kokyo, <i>et al.</i> (239)
Level, Distribution, and Source Identification of Polychlorinated Naphthalenes in Surface Agricultural Soils from an Electronic Waste Recycling Area	WANG Xue-tong, JIA Jin-pan, LI Yuan-cheng, <i>et al.</i> (247)
Heavy Metal Pollution in Street Dusts from Different Functional Zones of Luoyang City and Its Potential Ecological Risk	LIU De-hong, WANG Fa-yuan, ZHOU Wen-li, <i>et al.</i> (253)
Soil Contamination and Assessment of Heavy Metals of Xiangjiang River Basin	LIU Chun-zao, HUANG Yi-zong, LEI Ming, <i>et al.</i> (260)
Characteristics of Heavy Metals in Soil Profile and Pore Water Around Hechi Antimony-Lead Smelter, Guangxi, China	XIANG Meng, ZHANG Guo-ping, LI Ling, <i>et al.</i> (266)
Speciation Transformation and Behavior of Arsenic in Soils Under Anoxic Conditions	WU Xi, XU Li-ying, ZHANG Xue-xia, <i>et al.</i> (273)
Remediation of Chromium(VI) Contaminated Soils Using Permeable Reactive Composite Electrodes Technology	FU Rong-bing, LIU Fang, MA Jin, <i>et al.</i> (280)
Determination and Characterization on the Capacity of Humic Acid for the Reduction of Divalent Mercury	JIANG Tao, WEI Shi-qiang, LI Xue-mei, <i>et al.</i> (286)
Effect of Zn (II) on Microbial Activity in Anaerobic Acid Mine Drainage Treatment System with Biomass as Carbon Source	LI Shao-jie, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (293)
Diversity of Culturable Butane-oxidizing Bacteria in Oil and Gas Field Soil	ZHANG Ying, LI Bao-zhen, YANG Jin-shui, <i>et al.</i> (299)
Microbial Community Structure Analysis of Unexploited Oil and Gas Fields by PCR-DGGE	MAN Peng, QI Hong-yan, HU Qing, <i>et al.</i> (305)
Community Diversity of Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Rhizosphere of Eight Plants in Liudaogou Watershed on the Loess Plateau China	FENG Ye, TANG Ming, CHEN Hui, <i>et al.</i> (314)
Dynamics of Degradation of Oxytetracycline of Pig and Chicken Manures in Soil and Mechanism Investigation	ZHANG Jian, GUAN Lian-zhu, YAN Li (323)
Influence of Impurities on Waste Plastics Pyrolysis: Products and Emissions	ZHAO Lei, WANG Zhong-hui, CHEN De-zhen, <i>et al.</i> (329)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2012年1月15日 33卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 1 Jan. 15, 2012

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street , Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian) , P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行