

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质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)
生物质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)

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

(中国科学院生态环境研究中心环境生物技术研究室, 北京 100085)

摘要: 利用 PCR-DGGE 和克隆测序技术, 分别对未开发油田、气田和非油气田对照区域, 地表 30、60、100、150、200 cm 深度的土壤微生物分布进行研究, 目的在于了解未开发油气田区域土壤微生物的分布特征, 寻找潜在的油气资源指示菌。结果表明, 不同深度土壤样品间的菌群相似度很低(26~69.9)。在 150 cm 和 200 cm 处, DGGE 图谱具有更好的丰富度(≥ 19)、多样性(≥ 2.69)和均匀度(≥ 0.90)。油田区域富含 γ -Proteobacteria (75%), 此外还包括 α -Proteobacteria、Actinobacteria、Acidobacteria, 其相似菌株主要为石油相关菌和烃降解菌, 如食烷菌、噬甲基菌。气田含有 α 、 β 、 γ 、 δ -Proteobacteria 和 Bacteroidetes, γ -Proteobacteria 含量较小(24%), 所获 16S rDNA 条带相似菌株大多不具有烃降解能力, 部分具有甲烷相关性, 如甲基孢囊菌。在此类研究中, 150 cm、200 cm 更适于作为统一取样深度进行大范围取样调查; 甲基孢囊菌可用来作为潜在的气田指示菌, 食烷菌和噬甲基菌可作为潜在的油田指示菌, 但仍需进一步地大范围取样验证。

关键词: 未开发油气田; PCR-DGGE; 16S rDNA; 微生物多样性; 指示性微生物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)01-0305-09

Microbial Community Structure Analysis of Unexploited Oil and Gas Fields by PCR-DGGE

MAN Peng, QI Hong-yan, HU Qing, MA An-zhou, BAI Zhi-hui, ZHUANG Guo-qiang

(Department of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: Microbial communities of different depths (30, 60, 100, 150, 200 cm) from the unexploited oilfield, gas field and control area were studied by PCR-DGGE and sequencing methods. The objectives of this study were to understand the microbial distribution in the regions of unexploited oil and gas fields, and to investigate the potential microbial indicators of oil and gas resources. The results showed that the Dice coefficients between different depths were very low (26~69.9). The microbial communities in the soil of 150 cm and 200 cm depth had greater richness ($S \geq 19$), diversity ($H \geq 2.69$) and evenness ($E \geq 0.90$). The results of sequencing demonstrated that the bands from oilfield were mainly grouped into α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria with the predominance of γ -Proteobacteria (75%). Most of the bands were related to oil-associated and hydrocarbon degrading bacteria, such as *Methylophaga* and *Alcanivorax*. While the gas field had α , β , γ , δ -Proteobacteria and Bacteroidetes, and γ -Proteobacteria accounted for only 24%. More strains showed relativity to methanotrophs, such as *Methylocystaceae*. Thus, 150 cm and 200 cm were more suitable as the oil-gas exploration sampling depth. *Methylocystaceae* may act as potential indicators for gas resources, *Methylophaga* and *Alcanivorax* for oil.

Key words: unexploited oil and gas fields; PCR-DGGE; 16S rDNA; microbial diversity; microbial indicator

在地壳压力的驱动下, 油气藏中的易挥发烃类持续地向地表扩散和运移, 土壤中的专性微生物以该类烃作为唯一能源, 在油气藏地表形成微生物异常。通过检测微生物异常可以推断出该区域油气资源的分布^[1~3]。油气微生物勘探能为初期勘探提供廉价有效的帮助, 指示和预测有利勘探区块, 以降低勘探风险^[4, 5]。

20 世纪 50 年代晚期, 美国 Hitzman 博士开发了一种微生物勘测技术——MOST (microbial oil survey technique)。该技术采集地表 20 cm 深度的土样, 通过分析丁烷氧化菌异常来探测地表轻烃渗漏现

象^[6, 7]。MPOG (microbial prospection for oil and gas) 技术最早由德国科学家进行开发, 主要采集 150 cm 深度的土壤样品, 通过检测甲烷氧化菌数量、代谢活性异常来分析供试地区的油气分布^[6, 7]。而 Hatton 等^[8]提出, C1~C20 的链烃, 甚至部分单环、杂环芳香烃, 它们的氧化菌种都可以作为油气指示菌。此

收稿日期: 2011-03-09; 修订日期: 2011-04-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(20977106); 中国科学院知识创新工程项目(kzcx1-yw-06-03)

作者简介: 满鹏(1985~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物分子生态学, E-mail: pengman_st@rcees.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: qihy@rcees.ac.cn

外,研究显示,在油气田开采之后,其地表的烃渗漏将严重减弱,进而影响微生物分布^[7, 9~11]。

至今为止,该方面的研究仍然只是针对某些单一菌群,很少有研究涉及油气田地表的整体微生物多样性分布,特别是未开采油气田。而 PCR-DGGE 技术被广泛应用于从分子水平上分析微生物群落结构,监测微生物群落动态变化^[12~14]。因此,本研究的创新及目的在于利用 PCR-DGGE 技术,分析未开发油气田地表土壤微生物多样性及其分布,加深对未开发油气田地表微生物分布特征的了解,寻找潜在的油气资源指示性微生物或菌群,进一步促进微生物油气勘探技术的发展。

1 材料与方法

1.1 采样

样品采自胜利油田附近的某一小型未开采油气田(117°45'E~118°21'E, 37°34'N~38°11'N),紧邻渤海以及黄河三角洲,属温带季风型大陆性气候。土壤类型为滨海盐化潮土,土壤养分含量低,pH 约为 8.4,地表农作物较少,主要为棉花、枣树等耐盐碱植物。在前期的油气勘探中,通过一系列物理、化学的方法已经确认该地区油气资源的存在,并进行了准确的区域划分。同时确认该区域并未出现石油污染或泄漏,区域内没有其他石油烃来源,且人为影响较小。取样时,依据地下油气资源的分布共设置 3 个区域:未开发油田、气田以及非油气田对照区域,三者彼此间距约为 2 km,并在纵向剖面上对于每个区域进行不同深度的取样,包括 30、60、100、150、200 cm。每个点进行 3 次重复,并将 3 次所得土样充分混匀。土样获得后置于冰上,立即转移至实验室 -20℃ 保存。

1.2 总 DNA 提取与 PCR 扩增

称取 0.5 g 土样,利用 FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, LLC, USA) 试剂盒提取总 DNA。随后利用 Nanodrop® ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies) 对获取的总 DNA 进行浓度和纯度检测。

扩增细菌基因组总 DNA 16S rDNA V3 区用于 DGGE 分析。PCR 所用引物为 PRBA338f (GCCGC CCGCCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGACGCGG GGCCTACGGGAGGCAGCAG) 和 PRUN518r (ATTACGCGGCTGCTGG)^[15]。50 μL 反应体系为: dNTPs 10 nmol, 上下游引物各 20 pmol, 1 × PCR Buffer (Mg²⁺ plus), Taq DNA polymerase (TaKaRa,

Japan) 1.25 U, 模板 DNA 40 ng。PCR 程序: 95℃ 预变性 2 min; 95℃ 变性 30 s, 65℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 20 s, 重复 20 个循环, 退火温度每循环降低 0.5℃; 随后退火温度固定在 55℃, 重复 15 个循环; 72℃ 再延伸 7 min, 4℃ 保存。每个样品设置 3 个重复, 扩增完成后混匀, 从而减少 PCR 偏好性。

1.3 DGGE 电泳

DGGE 电泳在 Dcode 系统 (Bio-Rad) 上进行。聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%, 变性剂浓度范围为 40%~60%。在 1 × TAE 缓冲液中, 以 90 V 电压, 60℃ 恒温电泳 10~12 h。电泳后 EB 染色, 借助 UV transillumination (Bio-Rad) 成像系统进行结果观察和拍照。电泳结果利用 Bio-Rad 公司 Quantity One 软件进行分析, 获取不同泳道间的菌群相似度。此外, 根据条带的强度和位置, 由式(1)和式(2)计算各个样品的微生物多样性 (Shannon-Wiener 指数, H)、均匀度 (Evenness, E)、丰富度 (Richness, S), 从多个角度对不同区域不同深度的微生物分布进行比对。

$$H = - \sum (n_i/N) \lg(n_i/N) \quad (1)$$

式中, n_i 为样品上各个条带吸收峰的面积; N 为样品上所有条带吸收峰的总面积。

$$E = H/\ln S \quad (2)$$

式中, H 为式(1)中求得的 Shannon-Wiener 指数; S 为丰富度, 即每一泳道的条带数目。

1.4 DGGE 切胶测序

将 DGGE 图谱上的主要条带切胶回收, 纯化提取其中的 DNA 模板。再次使用不含 GC 夹子的相同引物进行 PCR 扩增, 并切胶纯化。纯化后的扩增片段连接至 pGEM-T 载体, 转化至大肠杆菌感受态细胞并进行蓝白斑筛选。随后送往测序公司进行测序。测序所得序列通过 DNAMAN 软件进行处理, 处理后的序列在 National Center for Biotechnology (NCBI) 数据库中比对分析, 寻找亲缘关系最近的序列。应用 MEGA 4.0 软件构建系统发育树。

2 结果与讨论

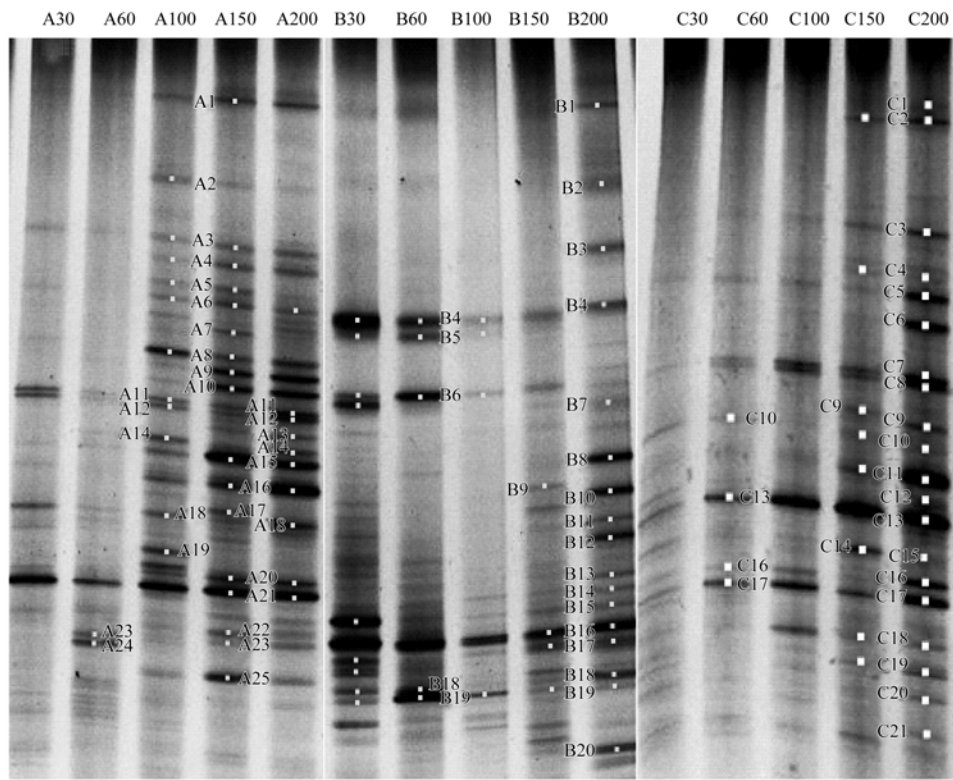
2.1 总 DNA 提取

使用 FastDNA SPIN Kit for Soil 提取总 DNA, 经琼脂糖电泳得到的片段长度约为 15 kb。此外, 利用 Nanodrop® ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies) 对获取的总 DNA 进行检测, 各样品总 DNA 浓度 (以土壤计) 维持在 2~7 μg·g⁻¹, 且纯度较高, 可直接用于 PCR 扩增。

2.2 DGGE 图谱分析

直观上,如图 1 所示,每个区域都有丰富的 DGGE 条带,表明各个区域存在着丰富的微生物种类.同时也存在着很多的特异性条带,如对照区域内,所有的取样深度均检测到 A11 和 A12,而 A19 仅存在于 100 cm 深度;气田区域,C13 条带存在于

所有深度,并且条带强度随着深度的加深而加强.同样,不同的区域间也存在着一些相似条带,例如 A11、A12 与 C7、C8,它们在相同的变性区间内有着相近的迁移距离,且条带类型相似,但仍需要进一步的测序验证.



A 代表非油气田对照区域,B 代表油田,C 代表气田; 30、60、100、150、200 代表不同的取样深度

图 1 不同区域和深度的 DGGE 图谱

Fig. 1 DGGE profiles of different regions

利用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱进行进一步的分析.通过菌群相似度指数对不同深度间的菌群相似度进行比对,结果如表 1 所示.在所有区域,不同深度间的菌群相似度很低,为 26 ~ 69.9. 表明取样深度对于微生物分布具有直接影响.此外,通过丰富度(*S*)、多样性(*H*)、均匀度(*E*)对所研究区域的 DGGE 图谱进行了进一步的比对,结果如表 2 所

示.从深度方面来看,该研究区域 30 ~ 100 cm 深度的丰富度、多样性和均匀度指数明显偏低,不利于划定统一的取样深度对大范围的调查区域进行取样.相对于 30 ~ 100 cm 深度,150 cm 与 200 cm 处条带更为清晰,DGGE 图谱具有更好的丰富度(≥ 19)、多样性(≥ 2.69)和均匀度(≥ 0.90),更有利于利用 PCR-DGGE 方法进行微生物多样性研究.

表 1 同一区域不同深度间的菌群相似度

Table 1 Coefficients comparing the similarities of different depths

	非油气田对照区域				油田				气田			
	30 cm	60 cm	100 cm	150 cm	30 cm	60 cm	100 cm	150 cm	30 cm	60 cm	100 cm	150 cm
60 cm	59.8				64.2				27.9			
100 cm	46.7	39.8			44.1	55.6			32.1	69.9		
150 cm	29.9	26.1	41.5		57.7	51.5	36.9		46.2	53.5	46.5	
200 cm	33.8	26.7	39.3	69.8	43.5	42.1	26.0	54.2	40.8	46.3	52.8	63.7

2.3 测序及系统发育分析

通过克隆测序,获得了大部分 DGGE 条带所代

表的基因序列,将测序所得 16S rDNA V3 区序列提交 GenBank 数据库,获取核苷酸序列登录号

表 2 DGGE 图谱多样性指数

Table 2 Diversity indices calculated from the DGGE banding profiles

	非油气田对照区域			油田			气田		
	<i>S</i>	<i>H</i>	<i>E</i>	<i>S</i>	<i>H</i>	<i>E</i>	<i>S</i>	<i>H</i>	<i>E</i>
30 cm	14	2.13	0.81	22	2.86	0.93	17	2.80	0.99
60 cm	15	2.29	0.85	19	2.62	0.89	14	2.15	0.81
100 cm	27	2.93	0.89	10	1.98	0.86	18	2.36	0.82
150 cm	23	3.00	0.96	20	2.77	0.93	19	2.69	0.91
200 cm	27	2.95	0.90	25	2.96	0.92	22	2.85	0.92

(HQ875615 ~ HQ875634, HQ875686 ~ HQ875716). 通过 BLAST 比对, 构建相应的系统进化树, 如图 2 所示. 在全部条带中, 从条带数目上, 将近 50% 的条带属于 γ -变形菌纲, 并且这些 γ -纲条带从条带强度上大多属于优势菌株, 主要集中在假单胞菌目、海洋螺菌目以及交替单胞菌目, 还有少量的硫发菌目、甲基球菌目和着色菌目. 除此之外, 还包括 α 、 β 、 δ -变形菌纲, 拟杆菌门、酸杆菌门、放线菌门. 如表 3 所示, 其相似菌株主要涉及石油相关环境、海洋环境、高盐环境、湿地环境、极地环境^[16]等. 例如, A24 属于 γ -纲着色菌目, 其相似菌株 *Rheinheimera* sp. PS23(2010)(95%) 存在于高盐工业废水, 与当地的盐碱地环境一致; A1 与 *Uncultured Marinobacter* sp. clone 1-24 相似度为 96%, 而 *Uncultured Marinobacter* sp. clone 1-24 发现于邻近的胜利油田油气储层; A7 相似菌株 *Pseudomonas* sp. BWDY-40(99%) 则发现于邻近的黄河河口. 韩平等^[17]利用 PCR-DGGE 技术分析了相邻的胜利油田滩涂区域菌群多样性, 结果表明, 该区域优势菌群中 γ -变形菌纲所占比重大, 其次为 α -变形菌纲, 拟杆菌门、放线菌门, 与本研究结果一致.

在非油气田对照区域, 共回收得到 25 条 DGGE 条带, 编号 A1 ~ A25, 包括 α 、 β 、 γ 、 δ -变形菌纲以及拟杆菌门、酸杆菌门. 从条带数目上, γ -纲共 16 条, 占总条带数的 64%. 从条带强度上, γ -纲涵盖了该区域大部分的优势菌株. A1 主要分布在 100 ~ 200 cm 深度, 其相似菌株 *Uncultured Marinobacter* sp. clone 1-24 发现于邻近的胜利油田油气储层. A10、A16 相似菌株发现于烃或粗油污染环境, 主要分布在 100 cm 以下深度, 并在 150 cm 和 200 cm 处表现为优势条带. A4、A22 和 A23 相似菌株分别为 *Bacterium* Riz2 (99%)、*Marinobacter* sp. MH125a (97%)、*Uncultured Sphingomonadales* bacterium clone 228 (100%), 主要分布在 100 cm 以下深度, 均表现出了明显的烃或石油降解能力. A17 和 A21 相似菌株属于食烷菌属. 食烷菌是海洋环境中广泛

存在的烷烃降解菌, 它们能够以直链和支链的烷烃为唯一的碳源和能源, 在海洋的石油污染修复过程中起到非常重要的作用^[18]. 其中 A21 在所有深度均有分布, 但在 30、100、200 cm 处含量最大并表现为优势菌株, 而 A17 仅存于 150 cm. A18 属于甲基球菌目, 存在于对照区域所有深度, 其相似菌株 *Methylocaldum szegediense* strain KTM-1 (92%) 为甲烷氧化菌. A5 属于 β -纲, 主要分布在 100 cm 和 150 cm, 相似菌株 *Uncultured Methylophilaceae* bacterium clone Gap-2-42 (96%) 属于嗜甲基菌. 该类菌可以甲醇为唯一碳源和能源, 此外, 有限的其他碳源, 如甲基胺、甲酸盐、葡萄糖和果糖也可作为唯一碳源和能源^[19]. 其余条带的相似菌株大多发现于海洋、高盐环境, 与该地区的地理位置及周围环境相吻合. 总之, 对照区域主要存在着一定的石油相关菌和烃降解菌, 并且主要分布在 150 cm 和 200 cm, 特别是食烷菌属 A17、A21. 此外还有很少的甲烷、甲基相关菌, 如 A18、A20, 同样主要分布于 150 cm、200 cm.

在油田, 共回收 20 条 DGGE 条带, 编号 B1 ~ B20, 包括 α 、 γ -变形菌纲以及放线菌门、酸杆菌门, 其中 γ -纲 15 条, 占总条带数的 75%. 从条带强度上, γ -纲同样涵盖了该区域大部分的优势菌株. B1 相似菌株发现于邻近的胜利油田油气储层, B9 发现于烃污染土壤, 主要分布在 150 cm 和 200 cm. 更多的条带相似菌株具有直接的烃降解能力, 如 B5、B11、B14、B15、B16、B17、B19, 其中 B11、B14、B15 属于食烷菌属. 在深度上, B14 和 B15 存在于所有深度, 而 B11 仅存于 150 cm 和 200 cm, B16 在所有深度均有分布并表现为优势菌株, B17、B18 主要分布于 150 cm 和 200 cm 的深层, B5、B19 则主要分布于 60 cm. 200 cm 处具有很多的特有条带, B2、B3、B8、B10、B12、B13、B20, 大部分条带相似菌株都发现于海洋环境. 其中 B20 相似菌株 *Methylophaga* sp. AM2Q (97%) 在 200 cm 处为优势条带, 属于噬甲基菌. 噬甲基菌中度嗜盐, 除果糖外, 以 C1 化合物为

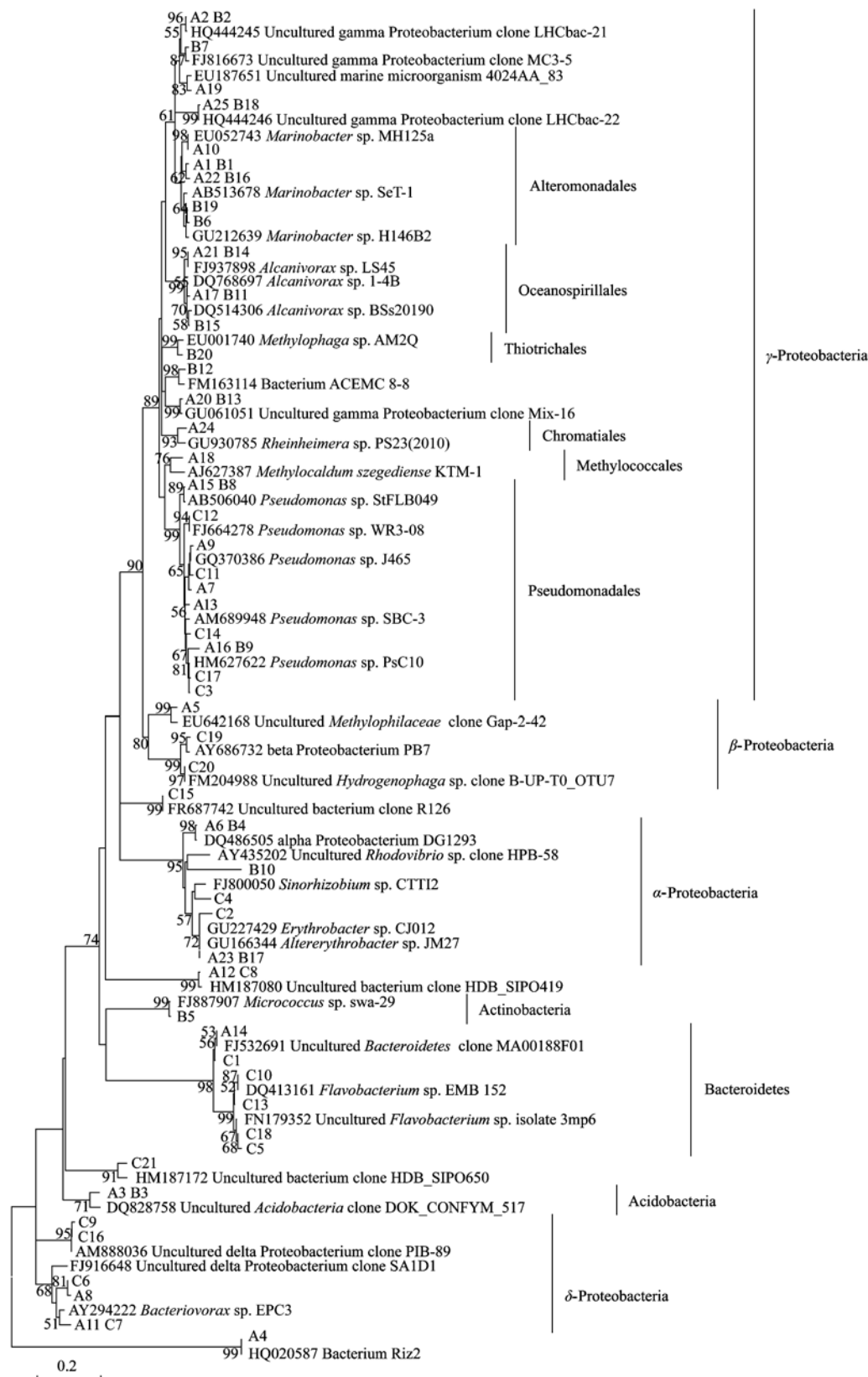


图 2 16S rDNA-V3 序列系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rDNA-V3 sequences

表 3 DGGE 条带相似菌株

Table 3 Related neighbors of DGGE bands

条带	相似菌株(相似度/%)	序列号	相似菌株特性或来源
A1	Uncultured <i>Marinobacter</i> sp. clone 1-24 (96%)	DQ533496	胜利油田油气储层
A2	Uncultured γ -Proteobacterium clone LHCbac-21 (99%)	HQ444245	北极盐泉沉积物
A3	Uncultured <i>Acidobacteria</i> bacterium DOK_CONFYM_517 (94%)	DQ828758	
A4	Bacterium Riz2 (99%)	HQ020587	石油降解菌
A5	Uncultured <i>Methylophilaceae</i> bacterium clone Gap-2-42 (96%)	EU642168	近岸水域,嗜甲基菌科
A6	<i>Kordiimonas gwangyangensis</i> strain GW14-5 (98%)	AY682384	海底沉积物
A7	<i>Pseudomonas</i> sp. BWDY-40 (99%)	DQ200853	黄河河口
A8	<i>Peredibacter starrii</i> strain A3.12 (91%)	NR_024943	
A9	<i>Pseudomonas</i> sp. BSs20139 (99%)	EU365519	北冰洋沉积物
A10	Uncultured γ -Proteobacterium clone B18 (99%)	GU259675	重质燃料油降解
A11	Uncultured bacterium clone; CK06-06_Mud_MAS4B-31 (92%)	AB369189	近海泥浆
A12	Uncultured bacterium clone HDB_SIPO419 (99%)	HM187080	
A13	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. clone 293 (99%)	GU556505	
A14	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone MA00188F01 (100%)	FJ532691	
A15	<i>Pseudomonas</i> sp. SS-2009-PA4 (99%)	FN646596	
A16	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. clone CMIH6 (97%)	AM936222	烃污染土壤
A17	Uncultured <i>Alcanivorax</i> sp. clone B136 (98%)	EU328046	粗油污染土壤
A18	<i>Methylocaldum szegediense</i> strain KTM-1 (92%)	AJ627387	甲烷氧化菌
A19	Marine sediment bacterium ISA-3197 (99%)	AY936978	海底沉积物
A20	Uncultured γ -Proteobacterium clone Mix-16 (99%)	GU061051	黄海
A21	Uncultured <i>Alcanivorax</i> sp. clone B120 (100%)	EU328032	粗油污染土壤
A22	<i>Marinobacter</i> sp. MH125a (97%)	EU052743	烃降解菌
A23	Uncultured <i>Sphingomonadales</i> bacterium clone 228 (100%)	FJ645604	烃降解,南极土壤
A24	<i>Rheinheimera</i> sp. PS23 (2010) (95%)	GU930785	湿地,高盐工业废水
A25	Uncultured γ -Proteobacterium clone LHCbac-22 (99%)	HQ444246	北极盐泉沉积物
B1	Uncultured <i>Marinobacter</i> sp. clone 1-24 (96%)	DQ533496	胜利油田油气储层
B2	Uncultured γ -Proteobacterium clone LHCbac-21 (99%)	HQ444245	北极盐泉沉积物
B3	Uncultured <i>Acidobacteria</i> bacterium DOK_CONFYM_517 (94%)	DQ828758	
B4	<i>Kordiimonas gwangyangensis</i> strain GW14-5 (98%)	AY682384	海底沉积物
B5	<i>Actinomycetales</i> bacterium 439 (100%)	FJ645676	烃降解,南极
B6	<i>Marinobacter</i> sp. S16-2-1 (98%)	FJ386512	极地环境
B7	Uncultured γ -Proteobacterium clone MC3-5 (99%)	FJ816673	海岸沼泽盐池
B8	<i>Pseudomonas</i> sp. SS-2009-PA4 (99%)	FN646596	
B9	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. clone CMIH6 (97%)	AM936222	烃污染土壤
B10	Uncultured marine bacterium clone B-Alg95	HM437547	胶州湾
B11	Uncultured <i>Alcanivorax</i> sp. clone B136 (98%)	EU328046	粗油污染土壤
B12	Bacterium ACEMC 8-8 (97%)	FM163114	海岸浮游菌
B13	Uncultured γ -Proteobacterium clone Mix-16 (99%)	GU061051	黄海
B14	Uncultured <i>Alcanivorax</i> sp. clone B120 (100%)	EU328032	粗油污染土壤
B15	Uncultured <i>Alcanivorax</i> sp. clone B136 (100%)	EU328046	粗油污染土壤
B16	<i>Marinobacter</i> sp. MH125a (97%)	EU052743	烃降解菌
B17	Uncultured <i>Sphingomonadales</i> bacterium clone 228 (100%)	FJ645604	烃降解,南极土壤
B18	Uncultured γ -Proteobacterium clone LHCbac-22 (99%)	HQ444246	北极盐泉沉积物
B19	<i>Marinobacter</i> sp. MR-6 (98%)	AF264687	烃降解菌
B20	<i>Methylophaga</i> sp. AM2Q (97%)	EU001740	噬甲基菌
C1	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium MA00188F01 (99%)	FJ532691	
C2	<i>Sphingomonas</i> sp. PS49 (2010) (99%)	GU930787	高盐工业废水
C3	<i>Pseudomonas</i> sp. PsC10 (100%)	HM627622	
C4	Uncultured <i>Methylocystaceae</i> bacterium GASP-MB2W1_B03 (96%)	EF665292	甲烷氧化菌
C5	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium MA194T1-3r5_C04 (97%)	GQ469458	
C6	<i>Peredibacter starrii</i> A3.12 (92%)	NR_024943	
C7	Uncultured bacterium clone; CK06-06_Mud_MAS4B-31 (92%)	AB369189	近海泥浆
C8	Uncultured bacterium clone HDB_SIPO419 (99%)	HM187080	
C9	Uncultured bacterium clone Won5 (0714) (99%)	DQ839501	三氯乙烯需氧共代谢

续表 3

条带	相似菌株 (相似度/%)	序列号	相似菌株特性或来源
C10	<i>Flavobacterium</i> sp. B46 (100%)	EU194891	稻田中与甲基营养菌共生
C11	<i>Pseudomonas mendocina</i> strain PC1 (98%)	DQ178219	苯酚和对甲酚的降解
C12	<i>Pseudomonas</i> sp. AP22 (100%)	EU374882	海岸线,石油泄漏
C13	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone; APe4_4 (99%)	AB074609	
C14	<i>Pseudomonas</i> sp. DIC3JA (99%)	FJ668833	多环芳烃降解
C15	Uncultured bacterium clone R126 (100%)	FR687742	高盐污染的工业废渣
C16	<i>Bacteriovorax</i> sp. PNEc1 (100%)	AY294221	
C17	<i>Pseudomonas graminis</i> strain RMPP6 (99%)	GU396281	
C18	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone MA194T1-3r5_C04 (98%)	GQ469458	
C19	Uncultured <i>Rhodoferrax</i> sp. clone Ctrl1-7B (98%)	EU522643	烃降解产甲烷微生物菌团,油砂尾矿沉淀池
C20	Uncultured bacterium clone MO302D9 (100%)	GU996593	粗油相关环境
C21	Uncultured bacterium clone HDB_SIPO650 (95%)	HM187172	

唯一生长底物,例如甲醇和甲基胺,但不能在甲烷中生长^[20]. 而且石油长链烷烃和芳香烃降解过程中会产生大量的甲基类物质,可供该类细菌利用. 总之,油田区域比对照区域含有更多的烃降解菌,并普遍存在于所有深度. 从深度上来讲,200 cm 处具有更多的优势条带,也获得了更多的特有条带,特别是相对于 100 cm.

在气田,共回收 21 条 DGGE 条带,编号 C1 ~ C21,包括 α 、 β 、 γ 、 δ -变形菌纲以及拟杆菌门. 对于 γ -纲,虽然其中的 C13、C17 等条带从强度上属于优势菌株,但由于 γ -纲条带数目(5 条,24%)远低于对照和油田区域,因此 γ -纲在气田区域不再占有优势地位. 这与油田和对照区域存在明显的差别. 仅有 C12、C19 和 C20 相似菌株发现于石油相关环境,并且主要存在于土壤深层. C14 主要分布在 150 cm,其相似菌株 *Pseudomonas* sp. DIC3JA (99%) 显示出了多环芳烃降解能力. C11 相似菌株 *Pseudomonas mendocina* strain PC1 (98%) 具有苯酚和对甲酚的降解能力,且在 200 cm 处表现为优势条带. C10 相似菌株 *Flavobacterium* sp. B46 (100%) 与甲基营养菌共生,它的存在意味着该区域甲基营养菌的存在. 150 cm 和 200 cm 的深层具有很多的特殊菌株,如 C19 相似菌株发现于残油沉淀池烃降解产甲烷微生物菌团,可能参与石油烃降解并(或)具有产甲烷能力,甚至甲烷氧化能力; C9 相似菌株可进行三氯乙烯需氧代谢,而在好氧状况下,微生物无法直接以三氯乙烯作为生长基质进行生物降解,目前已知可被微生物当作主要生长基质有效共代谢三氯乙烯的有甲烷、酚及甲苯^[21~23],表明 C9 相似菌株可能具有甲烷、酚甚至甲苯的降解能力. C4 相似菌株 Uncultured *Methylocystaceae* bacterium GASP-MB2W1_B03 (96%) 为甲烷氧化菌,属于甲基孢囊菌科. 在

前人研究中,甲基孢囊菌在气库上方地表 0.5、1、1.5 m 土壤中都有出现,被认为可以用来作为微生物气田勘探的重要指标^[24~26]. 其余条带相似菌株大多发现于海洋或高盐环境. 相对于对照区域和油田,气田区域石油相关菌和烃降解菌的含量很少,部分条带相似菌株具有甲烷代谢能力. 同时,这些相似菌株具有特殊降解能力的条带主要分布在 150 cm 和 200 cm 深度.

综合对比以上 3 个区域,首先可以看到,同一类型区域不同深度间的菌群相似度很低. 表明深度对于该区域的微生物多样性分布有着重要影响. 此外,从 DGGE 条带丰富度、多样性以及均匀度角度,150 cm 和 200 cm 处获得了更好的结果,特别是在 200 cm 处. 其原因可能在于 150 cm 和 200 cm 处各种环境因素更为稳定,如温度、湿度、氧气等,受外界影响较小. 在测序结果中,具有各种烃降解能力的特征性条带同样大多分布于 150 cm 和 200 cm 深度. 而现今应用最为广泛的微生物油气勘探技术——MPOG,其主要采样深度便是 150 cm^[6].

其次,各个区域间存在着一定的共享条带或菌株,特别是油田与对照区域. 例如 B1 与 A1 测序结果一致,相似菌株 Uncultured *Marinobacter* sp. clone 1-24 (96%),发现于邻近的胜利油田油气储层; B14 与 A21 测序结果一致,相似菌株 Uncultured *Alcanivorax* sp. clone B120 (100%) 为食烷菌属. 但这些具有相同测序结果的条带在不同区域随深度的分布趋势相差很大,例如 A3、A15、A20 在对照区域为多个深度所共有,而具有相同测序结果的 B3、B8、B13 在油田仅存于 200 cm; B14 与 A21 测序结果一致, A21 在对照区域所有深度均为优势条带,而 B14 在油田 DGGE 图谱中相对含量很小. 这些共享条带的相似菌株主要涉及石油相关菌和烃降解菌. 在空

间距离上,对照区域紧邻油田区域,两者相距约 2 km,因此不排除由于地质、地表水流等其他因素造成的油田上溢烃类物质的迁移.但从 DGGE 条带数目及丰度上,油田石油相关菌和烃降解菌的含量远高于对照区域,并普遍存在于所有深度.所以可以通过数量上的差别将 2 个区域进行区别,特别是在微生物石油勘探过程中需要进行大范围重复取样的情况下.

此外,各个区域也存在着各自的特有菌株.油田区域富含 γ -变形菌,在这一区域获得的条带主要为石油相关菌和烃降解菌.气田 γ -纲所占比例很小,且获得的条带中大部分不具有烃降解能力,部分条带相似菌株与甲烷氧化菌存在一定的联系.而对照区域兼具两者特性,即同时含有烃降解菌和甲烷氧化菌,但在含量上远低于油田和气田.其中, MPOG 技术所采用的气田指示性微生物正是甲烷氧化菌.而对于油田,可以把石油相关以及烃降解类微生物作为潜在指示性微生物,通过对该类细菌进行定量研究,来确定它们与地底油气资源的相关性,例如食烷菌、噬甲基菌等.当然,不管是食烷菌还是噬甲基菌,都需要进一步的反复验证,特别是大范围的实地取样检测.

3 结论

(1) 不同深度土壤样品间的菌群相似度很低 (26 ~ 69.9),表明取样深度对于未开发油气田地表面微生物群落结构研究具有直接影响.

(2) 在 150 cm 和 200 cm 处, DGGE 图谱具有更好的丰富度 (≥ 19)、多样性 (≥ 2.69) 和均匀度 (≥ 0.90). 在测序结果中,具有各种烃降解能力的特征性条带同样大多分布于 150 cm 和 200 cm 深度.因此,在借助 PCR-DGGE 方法针对未开发油气田地表面微生物群落分布进行研究时, 150 cm、200 cm 更适于作为统一取样深度进行大范围取样调查.

(3) 油田区域富含 γ -Proteobacteria (75%), 其 DGGE 条带相似菌株主要为石油相关菌和烃降解菌,如食烷菌、噬甲基菌.气田 γ -Proteobacteria 含量较小 (24%), 所获 16S rDNA 条带相似菌株大多不具有烃降解能力,部分具有甲烷相关性,如甲基孢囊菌.

(4) 甲基孢囊菌可以用来作为潜在的微生物气田勘探指示菌; 食烷菌和噬甲基菌可以作为潜在的油田指示菌,但仍需要进一步地大范围取样验证.

参考文献:

[1] 赵邦六,何展翔,文百红.非地震直接油气检测技术及其勘

探实践 [J]. 中国石油勘探, 2005, 10(6): 29-37.

- [2] Clò A, Costi R, Fruscio D, *et al.* Encyclopaedia of hydrocarbons [M]. Rome: Istituto della Enciclopedia italiana, 2005. 271-298.
- [3] 吴传芝. 微生物油气勘探技术及其应用 [J]. 天然气地球科学, 2005, 16(1): 82-87.
- [4] Rasheed M A, Prasanna M V, Kumar T S, *et al.* Geo-microbial prospecting method for hydrocarbon exploration in Vengannapalli Village, Cuddapah Basin, India [J]. Current Science, 2008, 95(3): 361-366.
- [5] 梅博文, 袁志华. 地质微生物技术在油气勘探开发中的应用 [J]. 天然气地球科学, 2004, 15(2): 156-161.
- [6] Wagner M, Wagner M Jr, Piske J, *et al.* Case histories of microbial prospecting for oil and gas, onshore and offshore in northwest Europe [A]. In: American Association of Petroleum Geologists Studies in Geology. Surface exploration case histories: Applications of geochemistry, magnetics, and remote sensing [C]. Okla: American Association of Petroleum Geologists, 2002. 453-479.
- [7] Schumacher D. Handbook of petroleum geology: exploring for oil and gas traps [M]. Tulsa, Okla: American Association of Petroleum Geologists, 1999. 1-27.
- [8] Hatton R, Sleat R, Sleat R, *et al.* Detecting the presence of a hydrocarbon deposit in a geographical location by detecting the presence, at the location, or a target polynucleotide encoding a protein capable of metabolizing a hydrocarbon [P]. Great Britain: GB2451287-A, 2009-01-28.
- [9] Klusman R W, Saeed M A. Comparison of light hydrocarbon microseepage mechanisms [A]. In: American Association of Petroleum Geologists Hedberg Research Conference. Hydrocarbon migration and its near-surface expression [C]. Okla: American Association of Petroleum Geologists, 1994. 157-445.
- [10] Ishido T, Goko K, Adachi M, *et al.* System integration of various geophysical measurements for reservoir monitoring [A]. In: World Geothermal Congress. Proceedings world geothermal congress [C]. Turkey: World Geothermal Congress, 2005. 1-10.
- [11] Hitzman D. Detailed hydrocarbon microseepage surveys map reservoir heterogeneities and identify by-passed compartments [A]. In: American Association of Petroleum Geologists Hedberg Research Conference. Applications of reservoir fluid geochemistry [C]. Colorado: American Association of Petroleum Geologists, 2010. 1-2.
- [12] 邢薇, 左剑恶, 林甲, 等. 20℃ EGSB 反应器中颗粒污泥的微生物种群结构分析 [J]. 环境科学, 2008, 29(9): 2558-2563.
- [13] 王君, 马挺, 刘静, 等. 利用 PCR-DGGE 技术指导高温油藏中功能微生物的分离 [J]. 环境科学, 2008, 29(2): 462-468.
- [14] 赵继红, 何淑英, 李继香, 等. PCR-DGGE 分析啤酒废水生物处理工艺的微生物区系 [J]. 环境科学, 2008, 29(10): 2950-2955.

- [15] 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 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(3): 695-700.
- [16] 刘芳明, 郑洲, 缪锦来, 等. 极地海洋石油烃污染物的生物降解研究进展 [J]. *极地研究*, 2007, **19**(3): 221-230.
- [17] 韩平, 郑立, 崔志松, 等. 胜利油田滩涂区石油降解菌的筛选, 鉴定及其多样性分析 [J]. *应用生态学报*, 2009, **20**(5): 1202-1208.
- [18] 吴业辉, 邵宗泽. 海洋烷烃降解菌 *Alcanivorax* sp. A-11-3 的分离鉴定及其降解酶基因研究 [J]. *台湾海峡*, 2008, **27**(4): 427-434.
- [19] Jenkins O, Byrom D, Jones D. *Methylophilus*: a new genus of methanol-utilizing bacteria [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1987, **37**(4): 446-448.
- [20] Schäfer H. Isolation of *Methylophaga* spp. from marine dimethylsulfide-degrading enrichment cultures and identification of polypeptides induced during growth on dimethylsulfide [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(8): 2580-2591.
- [21] Shim H, Ma W, Lin A J, *et al.* Bio-removal of mixture of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes/total petroleum hydrocarbons/trichloroethylene from contaminated water [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, **21**(6): 758-763.
- [22] 隋红, 李鑫钢, 段云霞, 等. 三氯乙烯共代谢生物降解研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2004, **23**(1): 170-173.
- [23] 周盛. 甲烷利用细菌 HG06 的筛选鉴定及其对三种有毒物质降解的研究 [J]. *生物技术通报*, 2008, **23**(1): 166-169.
- [24] Zhang F, She Y H, Zheng Y, *et al.* Molecular biologic techniques applied to the microbial prospecting of oil and gas in the Ban 876 gas and oil field in China [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, **86**(4): 1183-1194.
- [25] 张凡, 余跃惠, 舒福昌, 等. 气库上方土壤中甲烷氧化菌群落研究——以大港油田板 873 储气库为例 [J]. *石油天然气学报*, 2010, **32**(3): 364-368.
- [26] 孔淑琼, 黄晓武, 李斌, 等. 天然气库土壤中细菌及甲烷氧化菌的数量分布特性研究 [J]. *长江大学学报 (自科版) 理工卷*, 2009, **6**(3): 56-69.

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