

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

16届亚运会期间广州城区PM_{2.5}化学组分特征及其对霾天气的影响 陶俊,柴发合,高健,曹军骥,刘随心,张仁健(409)

北京地区秋季雾霾天PM_{2.5}污染与气溶胶光学特征分析 赵秀娟,蒲维维,孟伟,马志强,董璠,何迪(416)

上海市秋季大气VOCs对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究 王倩,陈长虹,王红丽,周敏,楼晟荣,乔利平,黄成,李莉,苏雷燕,牟莹莹,陈宜然,陈明华(424)

杭州市大气超细颗粒物浓度谱季节性特征 谢小芳,孙在,付志民,杨文俊,林建忠(434)

保定市大气气溶胶中正构烷烃的污染水平及来源识别 李杏茹,杜熙强,王英锋,王跃思(441)

春节期间西安城区碳气溶胶污染特征研究 周变红,张承中,王格慧(448)

华东区域高山背景点PM₁₀和PM_{2.5}背景值及污染特征 苏彬彬,刘心东,陶俊(455)

基于电子鼻土壤与地下水污染修复现场TVOC和恶臭的评估 田秀英,蔡强,刘锐,张永明(462)

积融雪控制下土壤大气间汞交换通量特征 张刚,王宁,艾建超,张蕾,杨净,刘子琪(468)

靖海湾重金属污染及铅稳定同位素溯源研究 徐林波,高勤峰,董双林,刘佳,傅秀娟(476)

正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究 欧杰,王延华,杨浩,胡建芳,陈霞,邹军,谢云(484)

干旱区城市昌吉降雪及积雪中PGEs含量分布及其影响因素 刘玉燕,刘浩峰,张兰(494)

降尘收集方法对降尘效率的影响 张正德,董治宝(499)

海河流域水生生态功能一级二级分区 孙然好,汲玉河,尚林源,张海萍,陈利顶(509)

长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究 时志强,张运林,王明珠,刘笑茵(517)

内陆水体叶绿素反演模型普适性及其影响因素研究 黄昌春,李云梅,徐良将,杨浩,吕恒,陈霞,王延华(525)

溶氧对富集培养的河口湿地表层沉积物氨氧化菌多样性及氨氧化速率的影响 邱昭政,罗专溪,赵艳玲,颜昌宙(532)

自然条件下盐城海滨湿地土壤水分/盐度空间分异及其与植被关系研究 张华兵,刘红玉,李玉凤,安静,薛星宇,侯明行(540)

淮河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制 周亮,徐建刚,孙东琪,倪天华(547)

高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征 崔玉洁,刘德富,宋林旭,陈玲,肖尚斌,向坤,张涛(555)

城市雨水径流水质演变过程监测与分析 董雯,李怀恩,李家科(561)

复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果 任峰,陆忆夏,刘琴,汤杨杨,王世和,高海鹰,乔杰,王为进(570)

给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究 郑琦,陈超,张晓健,陆品品,刘源源,陈雨乔(576)

1株溶藻菌的部分生物学特性及溶鱼腥藻作用 李三华,张奇亚(583)

水生植物热解生物油对中肋骨条藻抗氧化酶活性的影响 姚远,李锋民,李媛媛,单时,李杰,王震宇(589)

TiO₂光催化联合技术降解苯酚机制及动力学 张轶,黄若男,王晓敏,王齐,丛燕青(596)

皮革废水有机污染物生物降解特性研究 王勇,李伟光,杨力,宿程远(604)

链霉菌FX645对偶氮染料红AR30的降解机制研究 谢练武,方继生,郭亚平(611)

一种负载型生物载体的制备及性能研究 杨基先,曾红云,周义,邱珊,马放,王蕾,肖大伟(616)

基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)培养研究 嵇雯雯,夏会龙,方治国,刘惠君(622)

温和热处理对低有机质污泥厌氧消化性能的影响 陈汉龙,严媛媛,何群彪,戴晓虎,周琪(629)

天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放CH₄的影响 姚敦璠,陈天虎,王进,周飞跃,岳正波(635)

蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中PCDD/Fs含量水平及分布特征 青宪,韩静磊,温炎桑(642)

基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究 钟茂生,姜林,姚珏君,夏天翔,朱笑盈,韩丹,张丽娜(647)

区域地下水污染风险评价方法研究 杨彦,于云江,王宗庆,李定龙,孙宏伟(653)

地下水有机污染源识别技术体系研究与示范 王晓红,魏加华,成志能,刘培斌,纪轶群,张干(662)

祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究 朱凌宇,潘剑群,张威(668)

黑土有机碳、氮及其活性对长期施肥的响应 骆坤,胡荣桂,张文菊,周宝库,徐明岗,张敬业,夏平平(676)

根茬连续还田对镉污染农田土壤中镉赋存形态和生物有效性的影响 张晶,于玲玲,辛木贞,苏德纯(685)

长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究 罗璐,周萍,童成立,石辉,吴金水,黄铁平(692)

外源Cr(III)在我国22种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究 郑顺安,郑向群,李晓辰,刘书田,姚秀荣(698)

某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征 潘峰,王利利,赵浩,尤奇中,刘林(705)

大型炼锌厂周边土壤及蔬菜的汞污染评价及来源分析 刘芳,王书肖,吴清茹,林海(712)

天津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征 姚丹,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波,王艳萍,刘国卿(718)

沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚A的测定 吴唯,史江红,陈庆彩,张晖,刘晓薇(724)

动物饲料中砷、铜和锌调查及分析 姚丽贤,黄连喜,蒋宗勇,何兆桓,周昌敏,李国良(732)

氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究 王点点,宋宁慧,吴文铸,由宗政,何健,石利利(740)

2株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性 倪雪,刘娟,高彦征,朱雪竹,孙凯(746)

嗜盐拟香味菌Y6降解硝基苯的特性研究 厉阆,钱坤,肖伟,王进军,邓新平(753)

固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响 唐阔,马安周,于清,邓雪梅,吕迪,庄国强(760)

16S rDNA克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性 刘卫国,梁存珍,杨金生,王桂萍,刘苗杰(767)

氨氮浓度对CANON工艺功能微生物丰度和群落结构的影响 刘涛,李冬,曾辉平,畅晓燕,张杰(773)

筒青霉(*Penicillium simplicissimum*)对木质纤维素的降解及相关酶活性特征 沈莹,胡天觉,曾光明,黄丹莲,尹璐,刘杨,吴娟娟,刘晖(781)

石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究 杨萌青,李立明,李川,李广贺(789)

土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响 王桂珍,李兆君,张树清,马晓彤,梁永超(795)

生活垃圾填埋过程含水率变化研究 李睿,刘建国,薛玉伟,张媛媛,岳东北,聂永丰(804)

动物消化机制用于木质纤维素的厌氧消化 吴昊,张盼月,郭建斌,吴永杰(810)

《环境科学》征订启事(447) 《环境科学》征稿简则(493) 信息(508,588,610,731) 专辑征稿通知(788)

16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性

刘卫国^{1,2}, 梁存珍^{2*}, 杨金生^{2,3}, 王桂萍³, 刘苗苗⁴

(1. 武汉理工大学资源与环境工程学院, 武汉 430070; 2. 北京石油化工学院环境工程系, 北京 102617; 3. 沈阳理工大学材料科学与工程学院, 沈阳 110159; 4. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要: 采用分子生物学手段 16S rDNA 克隆文库方法研究连续运行 1 a 的生物脱硫反应器中细菌的多样性. 从 16S rDNA 克隆文库中随机挑选 40 个克隆子进行序列测定(约 1 400 bp), 对测序结果进行了 Blast 对比. 结果表明, 脱硫系统中存在比例较高的优势菌种, 有 33 个克隆子分属于 3 个不同的细菌类群, 1 个克隆子属于未知类群, 优势细菌类群为 Proteobacteria 类群(变形菌类群), 占 85.3%. 细菌类群优势顺序为: γ -Proteobacteria 类群(55.9%), β -Proteobacteria 类群(17.6%), Actinobacteridae 类群(8.8%), δ -Proteobacteria(5.9%), α -Proteobacteria(5.9%), Sphingobacteria(2.9%). 其中盐生硫杆菌属的 *Halothiobacillus* sp. ST15 和硫杆菌属的 *Thiobacillus* sp. UAM-I 是系统中的主要脱硫细菌.

关键词: 生物脱硫; 16S rDNA; 无色硫细菌; 高盐含硫废水; 细菌多样性

中图分类号: X172; X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)02-0767-06

Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method

LIU Wei-guo^{1,2}, LIANG Cun-zhen², YANG Jin-sheng^{2,3}, WANG Gui-ping³, LIU Miao-miao⁴

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430070, China; 2. Department of Environmental Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China; 3. School of Material Science and Engineering, Shenyang Ligong University, Shenyang 110159, China; 4. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: The bacterial diversity in the biological desulfurization reactor operated continuously for 1 year was studied by the 16S rDNA cloning and sequencing method. Forty clones were randomly selected and their partial 16S rDNA genes (ca. 1 400 bp) were sequenced and blasted. The results indicated that there were dominant bacteria in the biological desulfurization reactor, where 33 clones belonged to 3 different published phyla, while 1 clone belonged to unknown phylum. The dominant bacterial community in the system was Proteobacteria, which accounted for 85.3%. The bacterial community succession was as follows: the γ -Proteobacteria(55.9%), β -Proteobacteria(17.6%), Actinobacteridae(8.8%), δ -Proteobacteria(5.9%), α -Proteobacteria(5.9%), and Sphingobacteria(2.9%). *Halothiobacillus* sp. ST15 and *Thiobacillus* sp. UAM-I were the major desulfurization strains.

Key words: biological desulfurization; 16S rDNA; colorless sulfur bacteria; high salinity wastewater containing sulfide; bacterial diversity

沼气生物脱硫是近年发展的一种新型的脱硫方法, 具有处理成本低、无二次污染、操作简单等优点^[1,2]. 无色硫细菌是生物脱硫中常用的化能自养型脱硫微生物, 其将硫化物转化为单质硫或硫酸根^[3,4]. 生物脱硫的吸收液需要循环使用以降低处理成本, 随着盐度的增加, 会导致细菌体内水分大量流失引起其内部生物化学反应环境变化, 甚至引起细菌死亡, 吸收液的盐度是生物脱硫系统需要严格控制的指标. 有关高盐度下生物脱硫系统细菌多样性的研究, 国内外尚鲜见报道. 16S rDNA 克隆文库法对细菌进行种属鉴定和分类得到研究人员的认可. 16S rDNA 克隆文库法是通过将 16S rDNA 全长

序列进行扩增和分析, 以达到研究和检测样品与环境中细菌多样性、种群结构和区系变化的目的^[5-8]. 此方法无需分离培养, 增强了人们检测和鉴定环境中“非培养”微生物的能力, 已被广泛地应用到空气^[9]、水体^[10]、土壤^[11]、海洋沉积物^[12]、湖泊沉积物^[13]、生物处理系统^[14]等细菌多样性研究, 极大地丰富了环境微生物资源库, 并用于指导细菌

收稿日期: 2012-04-25; 修订日期: 2012-06-30

基金项目: 北京市科技新星计划项目(2008B25); 北京市属高等学校人才强教深化计划-创新团队-环境治理与调控技术优秀教学团队项目(PHR201107213)

作者简介: 刘卫国(1972~), 男, 博士研究生, 副教授, 主要研究方向为新能源开发与利用, E-mail: liuweigu@bipt.edu.cn
* 通讯联系人, E-mail: liangcunzhen@163.com

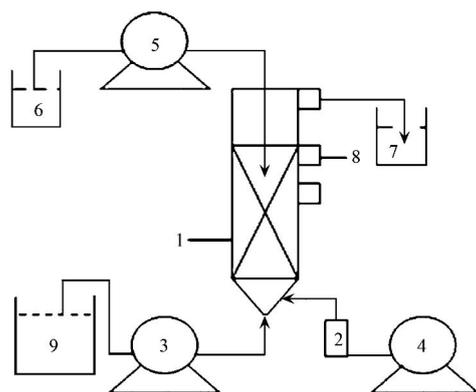
的分离培养^[15, 16]. 本实验模拟高盐的含硫废水, 控制合适的工艺条件使硫化物转化成单质硫. 采用 16S rDNA 克隆文库法对高盐生物脱硫反应器中的主要菌种进行鉴定, 以便进一步开展构建高效耐盐脱硫工程菌的研究.

1 材料与方 法

1.1 实验设备及材料

1.1.1 实验装置

实验装置如图 1 所示, 内径 80 mm, 有效水深 800 mm, 有效容积为 2 L. 采用接触氧化工艺, 选用半软性填料. 模拟废水由计量泵从反应器底部加入. 硫化物氧化成单硫的同时生成 OH^- , 通过蠕动泵加盐酸溶液控制反应器中的 pH 在 8.0 ~ 8.4 之间. 曝气吹脱出的 H_2S 通过碱液吸收. 污泥取自北京某市政污水处理厂二沉池的污泥, 投加硫化钠和营养盐驯化 1 个月, 然后加入反应器中进行挂膜. 生物脱硫反应器已经连续运行 1 a.



1. 生物反应器; 2. 空气流量计; 3. 计量泵; 4. 空压机; 5. 蠕动泵;
6. 盐酸溶液; 7. 氢氧化钠溶液; 8. 出水口; 9. 模拟废水

图 1 实验流程示意

Fig. 1 Flow chart of the experiment

1.1.2 模拟废水

100 L 模拟废水组成: 100 g $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、2.5 kg Na_2SO_4 、1 g 营养盐(KH_2PO_4 、 MgSO_4 和尿素组成) 溶解于 100 L 自来水中.

1.1.3 实验仪器

德国 WTW 公司手提式多参数测试仪 (Multi 340i); 德国 Sigma 公司离心机 (3-18K); 美国安培公司快速核酸提取仪 (fastprep-24); 北京科创百方公司紫外凝胶成像系统 (KCBIO-2800); 美国 Nanodrop 公司核酸蛋白测定仪 (ND-1000); 美国伯乐公司 PCR 扩增仪 (CFD-3120); 北京君意公司通用电泳仪 (JY600C).

1.2 实验

1.2.1 基因组 DNA 提取

取生物反应器填料上干污泥 50 mg, 采用 FastDNA 试剂盒提取污泥样品中的微生物基因组 DNA. 取 6 μL 基因组 DNA 溶液用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 采用核酸蛋白测定仪来测定样品基因组 DNA 的浓度, 判断基因组 DNA 提取效果.

1.2.2 基因组 DNA 的 PCR 扩增

(1) PCR 扩增引物

以 DNA 为模板, 采用细菌 16S rDNA 基因的通用引物 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') 和 1392R (5'-GAC GGG CGG TGT GTA C-3') 进行 PCR 扩增^[17].

(2) PCR 反应体系

0.5 μL (153.9 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 模板, 正反引物各 10 pmol, 5 μL 的 $10\times$ PCR buffer (20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2), 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP (每种 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 2 U *Taq* DNA 聚合酶, 无菌水补充至 50 μL .

(3) PCR 反应条件

95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 循环 30 次; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min. PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测.

1.2.3 16S rDNA 克隆、转化和文库构建

将得到的 PCR 扩增产物用 Fermentas DNA 提取试剂盒进行纯化, 纯化后 DNA 片段与 pMD18-T 载体在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 16 h 连接. 连接产物导入大肠杆菌 JM109, 涂布在 LB (Amp/IPTG/X-Gal) 平板上, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h 后进行蓝白筛选. 用无菌牙签随机挑取白色菌落, 重新纯化培养. 以 M13F47 (5'-CGCCAGGGTTTTCCAGTCACGAC-3') 和 M13R48 (5'-AGCGGATAACAATTTTCACACAGGA-3') 为引物, 以 1 μL 培养的菌液为模板进行 PCR 扩增, PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 筛选阳性克隆子, 构建 16S rDNA 克隆文库^[8]. 高含盐脱硫反应器中细菌种类较少, 随机挑取 40 个阳性克隆子送生工生物工程(上海)有限公司进行测序.

1.2.4 16S rDNA 克隆文库多样性分析

测序结果使用 Mothur 软件剔除嵌合序列, 划分操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), Shannon-Wiener index 计算公式为^[18]:

$$H = - \sum P_i \ln P_i$$

式中, P_i 代表每个物种样本数量占总样本数量的比例.

均匀度^[19] $E = H/H_{\max}$, $H_{\max} = \log_2 S$
式中, S 是丰富度, 表示样本中物种的数量, 等于 OTU 的数量.

$$\text{覆盖度 } C = [1 - (n/N)] \times 100$$

式中, N 为文库中克隆总数量; n 为单克隆 OTU 的数量.

1.2.5 构建系统进化树

将每个 OTU 代表序列在 NCBI 进行 Blast 同源性检索后, 下载同源性序列作为参考序列, 使用

Mega 4.0 软件包, 以邻接法 (Neighbor Joining Analysis) 构建系统进化树.

2 结果与讨论

2.1 反应器运行条件及结果

生物反应器中盐度 2.5%, DO = 2 ~ 3 mg·L⁻¹, HRT = 1 h, pH = 8.0 ~ 8.4, 温度 25°C. 取样时生物反应器运行结果如表 1 所示, 进水中硫化物的去除率 90.27%, 硫化物主要氧化产物是单质硫, 实现生

表 1 生物反应器运行结果

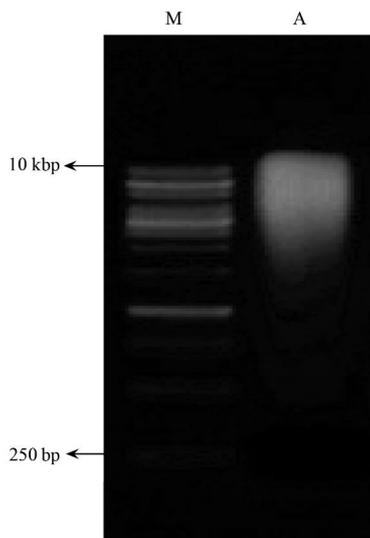
Table 1 Results of biological reactor operation

进水 S ²⁻ /mg·L ⁻¹	出水 S ²⁻ /mg·L ⁻¹	负荷 /kg·(m ³ ·d) ⁻¹	出水 S ²⁻ /%	损失硫化物 /%	出水 SO ₄ ²⁻ /%	出水单质硫 /%
119.72	11.64	2.59	9.7	1.7	5.6	83.1

物脱硫反应器预期目标.

2.2 基因组 DNA 和 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳检测结果

污泥样品用 FastDNA 试剂盒所提取基因组 DNA 浓度为 153.9 ng·μL⁻¹. 基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳图谱如图 2 所示, 基因组 DNA 的条带长度在 10 kbp 左右. 样品的 16S rDNA 基因 PCR 扩增产物凝胶电泳图谱如图 3 所示, PCR 扩增产物片段约 1 400 bp, 是应得到的 16S rDNA 片段大小, 说明得到 PCR 产物适合下一步 16S rDNA 克隆文库建立.



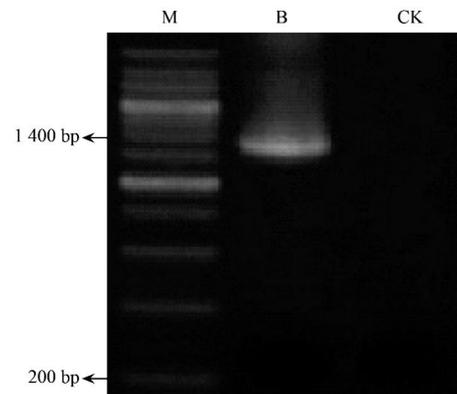
A: 总 DNA 提取结果, M: maker

图 2 基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of genomic

2.3 16S rDNA 克隆文库系统发育分析

40 个阳性克隆子中有 4 个克隆子测序失败, 2 个克隆子为嵌合序列. 34 个完成测序的克隆子序列



B: 16S rDNA 扩增产物, M: maker, CK: 阴性对照

图 3 样品 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products

利用 Mothur 软件进行分析, 序列相似性 ≥ 97% 的克隆子定义为一个 OTU, 生物脱硫系统中细菌的 16S rDNA 克隆文库结果如表 2 所示, 34 个克隆子归属为 9 个 OTU. 其中 5 个 OTU 只有 1 个克隆子, 其它的 4 个 OTU 分别含有 19、5、3、2 个克隆子. 克隆子与 GenBank 数据库中已知细菌的 16S rDNA 序列相似性最高为 100%, 最低为 93%. 测定的 34 个克隆子中有 33 个克隆子分别属于 Proteobacteria 类群 (变形菌类群)、Actinobacteridae 类群 (放线菌类群)、Sphingobacteria 类群 (鞘脂杆菌类群) 3 种类群. Proteobacteria (变形菌门) 在文库中所占的比例为 85.3%, 为样品中的优势种群, 其它两个类群占文库的比例分别为 8.8% 和 2.9%. 一个克隆子 (OTU9) 与已知类群相似性较低, 与未获培养细菌 Uncultured bacterium (HQ640633) 相似性为 93%, 在序列同源性研究中, 一般认为细菌 16S rDNA 序列同源性低于 97% 即属于不同的种^[20].

γ -变形菌纲占克隆文库的 55.91%,是文库中的第一大类群, γ -变形菌纲是变形杆菌门内最大的一个纲,这些细菌在生理上有极大的多样性^[21]. OTU1 与盐生硫杆菌属的 *Halothiobacillus* sp. ST15 的相似性为 100%,盐生硫杆菌属具有耐盐性,主要存在于酸性矿水、盐环境、含硫化物废水净化系统中,为专性化能无机自养型微生物,可以从还原硫化物的氧化过程中获得生长所需的能量^[22, 23].

β -变形菌纲占克隆文库的 17.6%,是文库中的第二大类群,其中 OTU2 与硫杆菌属的 *Thiobacillus* sp. UAM-I 相似性为 98%,硫杆菌属是土壤和自然水体中最常见的一种无色硫细菌,一般是无芽孢的短杆菌,革兰氏阴性,端生鞭毛,可以将硫化物氧化

成单质硫或硫酸盐,或将硫代硫酸盐氧化为硫酸盐,从而获得生长所需的能量^[24].

根据 Maestre 等^[25]运用克隆文库方法研究低盐度沼气脱硫系统微生物多样性的结果可知,在其 DO、pH 等工艺参数与文中实验条件基本一致时,脱硫系统所含细菌大致分为 *Thiomonas* 属(35%),*Halothiobacillus* 属(13%),*Thiobacillus* 属(11%),*Thiothrix* 属(8%),*Sulfurimonas* 属(3%). 其中 *Sulfurimonas* 属,*Thiothrix* 属和 *Thiomonas* 属是仅存在于低盐度下的细菌. 高含盐生物脱硫系统中 *Halothiobacillus* 属(55.9%)和 *Thiobacillus* 属(14.7%) 在细菌中所占比例高于低盐度条件下两种菌属所占比例.

表 2 生物脱硫系统中细菌的 16S rDNA 克隆文库结果

Table 2 Bacterial 16S rDNA cloning results of the biological desulfurization reactor

OTU(克隆子个数)	NCBI 登录号	最大相似度细菌(NCBI 登录号)	相似性/%	所属类群
OTU1(19)	JQ727653	<i>Halothiobacillus</i> sp. ST15(FJ982925)	100	γ -Proteobacteria
OTU2(5)	JQ727659	<i>Thiobacillus</i> sp. UAM-I (AY487255)	98	β -Proteobacteria
OTU5(1)	JQ727663	<i>Ralstonia</i> sp. OV225(AY216797)	99	
OTU4(2)	JQ727654	Myxococcales bacterium Gsoil 473 (AB245340)	93	δ -Proteobacteria
OTU3(3)	JQ727661	Propionibacterium acnes strain 1570(JF277163)	99	Actinobacteridae
OTU6(1)	JQ727664	<i>Mesorhizobium</i> sp. D16(JF913978)	99	α -Proteobacteria
OTU7(1)	JQ727665	<i>Asticcacaulis</i> excentricus(AB016610)	99	
OTU8(1)	JQ727655	Uncultured Saprospiraceae bacterium(EU177737)	96	Sphingobacteria
OTU9(1)	JQ727656	Uncultured bacterium clone(HQ640633)	93	Uncultured bacterium

16S rDNA 克隆文库细菌多样性指数如表 3 所示,Shannon-Wiener 指数为 1.802,表明实验室模拟生物脱硫系统中存在比例较高的优势菌种. 本研究

中 $N = 34, n = 5$,覆盖度为 0.852,表明克隆文库中所包含的微生物的种类占样品中全部微生物的种类比例已相当高,库容已经足够.

表 3 16S rDNA 克隆文库细菌多样性指数

Table 3 Diversity indexes of the 16S rDNA gene library

丰富度(S)	Shannon-Wiener 指数(H)	均匀度(E)	覆盖度(C)
9	1.802	0.821	0.852

采用邻近法构建克隆文库细菌的系统发育树,树图主要节点的 bootstrap 值 > 50%,用 bootstrap 检验系统树,自展数为 1 000,得到的系统发育树如图 4 所示,测得未知类群克隆子 OTU9 聚类在 *Propionibacterium acnes* strain 1570 和 *Mesorhizobium* sp. D16 之间,离 *Propionibacterium acnes* strain 1570 较近.

高盐度下反应器中具有脱硫功能的菌种是 *Halothiobacillus* sp. ST15 和 *Thiobacillus* sp. UAM-I,在将来的研究中还需结合纯分离培养方法和其他分子生物学手段研究其脱硫特性,以便进一步开展构建高效耐盐脱硫工程菌的研究.

3 结论

(1) 模拟高盐沼气脱硫系统微生物主要包括 Proteobacteria 类群(变形菌类群), Actinobacteridae 类群(放线菌类群), Sphingobacteria 类群(鞘脂杆菌类群)等 3 种类群,优势类群为变形菌类群,占 85.3%.

(2) 细菌类群优势顺序为: γ -Proteobacteria 类群(55.9%), β -Proteobacteria 类群(17.6%), Actinobacteridae 类群(8.8%), δ -Proteobacteria(5.9%), α -Proteobacteria(5.9%), Sphingobacteria(2.9%),还存在 2.9%的未知类群.

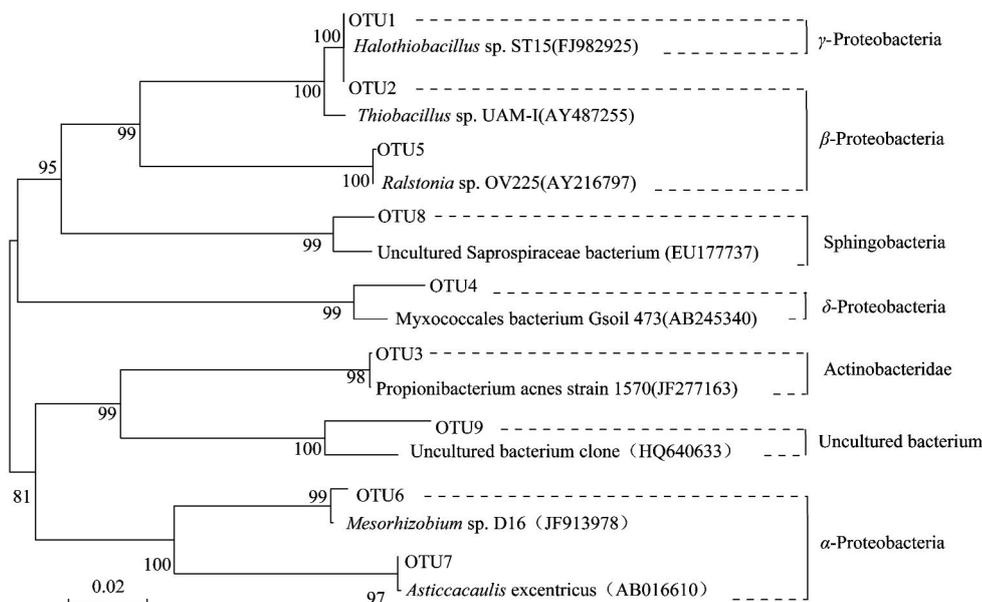


图4 生物脱硫系统中微生物系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of the bacteria in the biological desulfurization reactor

(3) 盐生硫杆菌属的 *Halothiobacillus* sp. ST15, 硫杆菌属的 *Thiobacillus* sp. UAM-I 是系统中的主要脱硫细菌。

参考文献:

- [1] Sipma J, Janssen A J, Pol L W, *et al.* Development of a novel process for the biological conversion of H₂S and methanethiol to elemental sulfur [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, **82**(1): 1-11.
- [2] Kobayashi T, Li Y Y, Kubota K, *et al.* Characterization of sulfide-oxidizing microbial mats developed inside a full-scale anaerobic digester employing biological desulfurization [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, **93**(2): 847-857.
- [3] Lohwacharin J, Annachhate A P. Biological sulfide oxidation in an airlift bioreactor [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**(7): 2114-2120.
- [4] Díaz I, Lopes A C, Pérez S L, *et al.* Performance evaluation of oxygen, air and nitrate for the microaerobic removal of hydrogen sulphide in biogas from sludge digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**(20): 7724-7730.
- [5] 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.
- [6] Sorokin D Y, Van den Bosch P L F, Abbas B, *et al.* Microbiological analysis of the population of extremely haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria dominating in lab-scale sulfide-removing bioreactors [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, **80**(6): 965-975.
- [7] Brambilla E, Hippe H, Hagemstein A, *et al.* 16S rDNA diversity of cultured and uncultured prokaryotes of a mat sample from Lake Fryxell, McMurdo Dry Valleys, Antarctica [J]. *Extremophiles*, 2001, **5**(1): 23-33.
- [8] Liao B, Ji G D, Cheng L Q. Profiling of microbial communities in a bioreactor for treating hydrocarbon-sulfide-containing wastewater [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, **20**(8): 897-899.
- [9] Maron P A, Lejon D P H, Carvalho E, *et al.* Assessing genetic structure and diversity of airborne bacterial communities by DNA fingerprinting and 16S rDNA clone library [J]. *Atmospheric Environment*, 2005, **39**(20): 3687-3695.
- [10] Revetta R P, Pemberton A, Lamendella R, *et al.* Identification of bacterial populations in drinking water using 16S rRNA-based sequence analyses [J]. *Water Research*, 2010, **44**(5): 1353-1360.
- [11] Ahmad N, Johri S, Abidin M Z, *et al.* Molecular characterization of bacterial population in the forest soil of Kashmir, India [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, **25**(1): 107-113.
- [12] Zhang W J, Zeng R Y. Psychrotrophic amylolytic bacteria from deep sea sediment of Prydz Bay, Antarctic: diversity and characterization of amylases [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, **23**(11): 1551-1557.
- [13] Haller L, Tonolla M, Zopfi J, *et al.* Composition of bacterial and archaeal communities in freshwater sediments with different contamination levels (Lake Geneva, Switzerland) [J]. *Water Research*, 2011, **45**(3): 1213-1228.
- [14] 黄兵, 世玲, 章江洪, 等. SO₂ 诱导驯化城市污水处理厂氧化沟微生物的多样性分析 [J]. *环境科学*, 2011, **32**(7): 2132-2137.
- [15] Abbad-Andaloussi S, Lagnel C, Warzywoda M, *et al.* Multi-

- criteria comparison of resting cell activities of bacterial strains selected for biodesulfurization of petroleum compounds [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2003, **32** (3-4): 446-454.
- [16] Kavroulakis N, Ntougias S. Bacterial and (-proteobacterial diversity in *Olea europaea* var. *mastoidis* and *O. europaea* var. *koroneiki*-generated olive mill wastewaters; influence of cultivation and harvesting practice on bacterial community structure[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, **27**(1): 57-66.
- [17] Brofft J E, McArthur J V, Shimkets L J. Recovery of novel bacterial diversity from a forested wetland impacted by reject coal [J]. *Environmental Microbiology*, 2002, **4**(11): 764-769.
- [18] Elshahed M S, Senko J M, Najjar F Z, *et al.* Bacterial diversity and sulfur cycling in a mesophilic sulfide-rich spring [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(9): 5609-5621.
- [19] 赵志祥, 罗坤, 陈国华, 等. 结合宏基因组末端随机测序和 16S rDNA 技术分析温室黄瓜根围土壤细菌多样性[J]. *生态学报*, 2011, **30**(14): 3849-3857.
- [20] Giovannoni S J, Mullins T D, Field K G. Microbial diversity in oceanic systems: rRNA approaches to the study of unculturable microbes[M]. *Molecular Ecology of Aquatic Microbes*, Berlin: Springer-Verlag, 1995. 217-247.
- [21] 常玉梅, 杨琦, 郝春博, 等. 城市污水厂活性污泥强化自养反硝化菌研究[J]. *环境科学*, 2011, **32**(4): 1211-1216.
- [22] Sievert S M, Heidorn T, Kuever J. *Halothiobacillus kellyi* sp. nov., a mesophilic, obligately chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from a shallow-water hydrothermal vent in the Aegean Sea, and emended description of the genus *Halothiobacillus* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, **50**(3): 1229-1237.
- [23] Wood A P, Woodall C A, Kelly D P. *Halothiobacillus neapolitanus* strain OSWA isolated from "The Old Sulphur Well" at Harrogate (Yorkshire, England) [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2005, **28**(8): 746-748.
- [24] Okabe S, Odagiri M, Ito T, *et al.* Succession of sulfur-oxidizing bacteria in the microbial community on corroding concrete in sewer systems [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(3): 971-980.
- [25] Maestre J P, Rovira R, Álvarez-Hornos F J, *et al.* Bacterial community analysis of a gas-phase biotrickling filter for biogas mimics desulfurization through the rRNA approach [J]. *Chemosphere*, 2010, **80**(8): 872-880.

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in PM _{2.5} and Its Impact on Hazy Weather During 16 th Asian Games in Guangzhou	TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, <i>et al.</i> (409)
PM _{2.5} Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area	ZHAO Xiu-juan, PU Wei-wei, MENG Wei, <i>et al.</i> (416)
Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China	WANG Qian, CHEN Chang-hong, WANG Hong-li, <i>et al.</i> (424)
Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou	XIE Xiao-fang, SUN Zai, FU Zhi-min, <i>et al.</i> (434)
Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters <i>n</i> -Alkanes in Baoding City	LI Xing-ru, DU Xi-qiang, WANG Ying-feng, <i>et al.</i> (441)
Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival	ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui (448)
Characteristics of PM ₁₀ and PM _{2.5} Concentrations in Mountain Background Region of East China	SU Bin-bin, LIU Xin-dong, TAO Jun (455)
Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose	TIAN Xiu-ying, CAI Qiang, LIU Rui, <i>et al.</i> (462)
Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control	ZHANG Gang, WANG Ning, AI Jian-chao, <i>et al.</i> (468)
Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique	XU Lin-bo, GAO Qin-feng, DONG Shuang-lin, <i>et al.</i> (476)
Eco-environmental Evolution Inferred from <i>n</i> -Alkanes and $\delta^{13}\text{C}$ Records in the Sediments of Shijiu Lake	OU Jie, WANG Yan-hua, YANG Hao, <i>et al.</i> (484)
Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City	LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan (494)
Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency	ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao (499)
Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China	SUN Ran-hao, JI Yu-he, SHANG Lin-yuan, <i>et al.</i> (509)
Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	SHI Zhi-qiang, ZHANG Yun-lin, WANG Ming-zhu, <i>et al.</i> (517)
Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll- <i>a</i> Retrieval Model in Inland Water Body	HUANG Chang-chun, LI Yun-mei, XU Liang-jiang, <i>et al.</i> (525)
Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Surface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate	QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, <i>et al.</i> (532)
Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal Wetland	ZHANG Hua-bing, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i> (540)
Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin	ZHOU Liang, XU Jian-gang, SUN Dong-qi, <i>et al.</i> (547)
Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River	CUI Yu-jie, LIU De-fu, SONG Lin-xu, <i>et al.</i> (555)
Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area	DONG Wen, LI Huai-en, LI Jia-ke (561)
Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage	REN Feng, LU Yi-xia, LIU Qin, <i>et al.</i> (570)
Inactivation of <i>Mycobacteria mucogenicum</i> in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis	ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, <i>et al.</i> (576)
Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium	LI San-hua, ZHANG Qi-ya (583)
Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on <i>Skeletonema costatum</i> Antioxidant Enzyme Activities	YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (589)
Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO ₂ Photocatalytic Combined Technologies	ZHANG Yi, HUANG Ruo-nan, WANG Xiao-min, <i>et al.</i> (596)
Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater	WANG Yong, LI Wei-guang, YANG Li, <i>et al.</i> (604)
Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by <i>Streptomyces</i> sp. FX645	XIE Lian-wu, FANG Ji-qian, GUO Ya-ping (611)
Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline	YANG Ji-xian, ZENG Hong-yun, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (616)
Study on the <i>Chlorella pyrenoidosa</i> Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization	JI Wen-wen, XIA Hui-long, FANG Zhi-guo, <i>et al.</i> (622)
Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content	CHEN Han-long, YAN Yuan-yuan, HE Qun-biao, <i>et al.</i> (629)
Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic Matter	YAO Dun-fan, CHEN Tian-hu, WANG Jin, <i>et al.</i> (635)
Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products	QING Xian, HAN Jing-lei, WEN Yan-shen (642)
Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model	ZHONG Mao-sheng, JIANG Lin, YAO Jue-jun, <i>et al.</i> (647)
Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution	YANG Yan, YU Yun-jiang, WANG Zong-qing, <i>et al.</i> (653)
Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application	WANG Xiao-hong, WEI Jia-hua, CHENG Zhi-neng, <i>et al.</i> (662)
Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain	ZHU Ling-yu, PAN Jian-jun, ZHANG Wei (668)
Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization	LUO Kun, HU Rong-gui, ZHANG Wen-ju, <i>et al.</i> (676)
Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return	ZHANG Jing, YU Ling-ling, XIN Shu-zhen, <i>et al.</i> (685)
Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations	LUO Lu, ZHOU Ping, TONG Cheng-li, <i>et al.</i> (692)
Aging Process of Cr(III) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis	ZHENG Shun-an, ZHENG Xiang-qun, LI Xiao-chen, <i>et al.</i> (698)
Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise	PAN Feng, WANG Li-li, ZHAO Hao, <i>et al.</i> (705)
Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant	LIU Fang, WANG Shu-xiao, WU Qing-ru, <i>et al.</i> (712)
Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin	YAO Dan, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i> (718)
Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments	WU Wei, SHI Jiang-hong, CHEN Qing-cai, <i>et al.</i> (724)
Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds	YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, <i>et al.</i> (732)
Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field	WANG Dian-dian, SONG Ning-hui, WU Wen-zhu, <i>et al.</i> (740)
Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity	NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, <i>et al.</i> (746)
Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic <i>Myroides odoratimimus</i> Strain Y6	LI Tian, QIAN Kun, XIAO Wei, <i>et al.</i> (753)
Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection	TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, <i>et al.</i> (760)
Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method	LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng, <i>et al.</i> (767)
Assessment of the Effect of Influent NH ₄ ⁺ -N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process	LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, <i>et al.</i> (773)
Biodegradation of Lignocellulose by <i>Penicillium simplicissimum</i> and Characters of Lignocellulolytic Enzymes	SHEN Ying, HU Tian-jue, ZENG Guang-ming, <i>et al.</i> (781)
Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil	YANG Meng-qing, LI Li-ming, LI Chuan, <i>et al.</i> (789)
Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters	WANG Gui-zhen, LI Zhao-jun, ZHANG Shu-qing, <i>et al.</i> (795)
Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill	LI Rui, LIU Jian-guo, XUE Yue-wei, <i>et al.</i> (804)
Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms	WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-bin, <i>et al.</i> (810)

《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)

2013年2月15日 34卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. 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: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发刊