

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第6期

Vol.37 No.6

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

双级虚拟撞击采样器应用于固定污染源 PM ₁₀ 和 PM _{2.5} 排放测量	蒋靖坤, 邓建国, 李振, 马子轲, 周伟, 张强, 段雷, 郝吉明 (2003)
黄山夏季气溶胶吸湿性及与化学组分闭合	陈卉, 杨素英, 李艳伟, 银燕, 张泽锋, 于兴娜, 康娜, 严殊祺, 夏航 (2008)
沈阳大气气溶胶中水溶性无机离子的观测研究	苗红妍, 温天雪, 王璐, 徐慧 (2017)
南京夏秋季节大气干沉降水溶性离子特征及来源分析	秦阳, 朱彬, 邹嘉南, 庞博 (2025)
太原市大气颗粒物粒径和水溶性离子分布特征	曹润芳, 闫雨龙, 郭利利, 郭文帝, 何秋生, 王新明 (2034)
2014 年北京市城区臭氧超标日浓度特征及与气象条件的关系	程念亮, 李云婷, 张大伟, 陈添, 王欣, 邹宁, 陈晨, 孟凡 (2041)
机动车尾气烟尘中烷烃和有机酸的组成	袁佳雯, 刘刚, 李久海, 徐慧 (2052)
DOC/CCRT 老化对柴油公交车气态物排放特性的影响	楼狄明, 贺南, 谭丕强, 胡志远 (2059)
紫外辐照改性生物炭对 VOCs 的动态吸附	李桥, 雍毅, 丁文川, 侯江, 高屿涛, 曾晓岚 (2065)
三峡库区内陆腹地典型水库型湖泊中 DOM 吸收光谱特征	江韬, 卢松, 王齐磊, 白薇扬, 张成, 王定勇, 梁俭 (2073)
三峡库区典型农业小流域水体中溶解性有机质的光谱特征	王齐磊, 江韬, 赵铮, 梁俭, 木志坚, 魏世强, 陈雪霜 (2082)
高分辨率降水氧氮同位素变化及洞穴水响应: 以河南鸡冠洞为例	孙喆, 杨琰, 张萍, 刘肖, 梁沙, 张娜, 聂旭东, 梁胜利, 李建仓, 凌新有, 张志钦 (2093)
不同雨强条件下河流水质对流域土地利用类型与格局空间响应	季香, 刘红玉, 李玉凤, 皋鹏飞, 孙一鸣, 李玉玲 (2101)
丹江口水库沉积物重金属背景值的确定及潜在生态风险评估	赵丽, 王雯雯, 姜霞, 王书航, 李佳璐, 陈俊伊 (2113)
滴水湖及其环湖水系沉积物、土壤中多氯联苯的空间分布特征及风险评价	王薛平, 黄星, 毕春娟, 贾晋璞, 郭雪, 陈振楼 (2121)
粤桂水源地有机氯农药的污染特征及生态风险	阳宇翔, 刘昕宇, 詹志薇, 解启来, 汤嘉骏, 欧阳培毓, 陈镇新, 徐晨 (2131)
鄱阳湖浮游植物叶绿素 a 及营养盐浓度对水位波动的响应	刘霞, 刘宝贵, 陈宇炜, 高俊峰 (2141)
周期性的温度扰动对藻类群落结构演替的影响	贡丹丹, 刘德富, 张佳磊, 杨正健, 朱晓明, 谭纤茹 (2149)
溴酸盐对普通小球藻的生长以及生理特性的影响	王执伟, 刘冬梅, 张文娟, 崔福义 (2158)
微囊藻水华对水体中氮转化及微生物的影响	李洁, 张思凡, 肖琳 (2164)
城市污染河道沉积物碳氮赋存对有机质分解的影响	唐千, 刘波, 王文林, 邢鹏, 袁婧雯, 嵇玮, 沈晓宇, 季家乐 (2171)
两亲性共聚物共混 PVDF 超滤膜的界面性质与抗蛋白质污染的研究	孟晓荣, 鲁冰雪, 付东会, 辛晓强, 唐卫婷 (2179)
巯基改性海泡石吸附水中的 Hg(II)	谢婧如, 陈本寿, 张进忠, 刘江 (2187)
改性芦苇生物炭对水中低浓度磷的吸附特征	唐登勇, 黄越, 胥瑞晨, 胡洁丽, 张聪 (2195)
UiO-66 对废水中二氯苯氧乙酸的吸附特性	任天昊, 杨智临, 郭琳, 陈海, 杨琦 (2202)
对硝基苯酚在高炉水淬渣上的吸附机制及表面形研究	王哲, 黄国和, 安春江, 陈莉荣, 张思思 (2211)
高岭石、针铁矿及其二元体对胡敏酸的吸附特性	牛鹏举, 魏世勇, 方敦, 但悠梦 (2220)
硫铁比对再生水深度脱氮除磷的影响	周彦卿, 郝瑞霞, 王珍, 朱晓霞, 万京京 (2229)
单质硫颗粒尺寸及反应器类型对硫自养反硝化反应器启动的影响	马航, 朱强, 朱亮, 李祥, 黄勇, 魏凡凯, 杨朋兵 (2235)
钛盐混凝剂调对活性污泥絮体理化性质的影响作用机制	王彩霞, 张伟军, 王东升, 王庆飞, 喻德忠 (2243)
城市污水管网中产甲烷菌的分布特性规律	孙光溪, 金鹏康, 宋吉娜, 王先宝, 杨柯瑶 (2252)
低 DO 下 AGS-SBR 处理低 COD/N 生活污水长期运行特征及种群分析	信欣, 管蕾, 姚艺朵, 羊依金, 郭俊元, 程庆峰 (2259)
微丝菌 (<i>Microthrix parvicella</i>) 原位荧光杂交 (FISH) 定量过程的条件优化	王润芳, 张红, 王琴, 王娟, 顾剑, 齐嵘, 杨敏 (2266)
基于高通量测序解析碳化温度对麻杆电极微生物群落影响	吴义诚, 贺光华, 郑越, 陈水亮, 王泽杰, 赵峰 (2271)
1 株高效去除氨氮的红假单胞菌的分离鉴定及特性	黄雪娇, 杨冲, 倪九派, 李振刚 (2276)
长期保护性耕作制度下紫色土剖面无机磷变化特征	韩晓飞, 高明, 谢德体, 王子芳 (2284)
有机物料对两种紫色土氮素矿化的影响	张名豪, 卢吉文, 赵秀兰 (2291)
生物质炭和秸秆配合施用对土壤有机碳转化的影响	张婷, 王旭东, 逢萌雯, 刘思新, 白如霞, 黎妮, 王钰莹 (2298)
多元统计与铅同位素示踪解析旱地垂直剖面土壤中重金属来源	孙境蔚, 胡恭任, 于瑞莲, 苏光明, 王晓明 (2304)
苏南某镇土壤重金属污染的景观格局特征	陈昕, 潘剑君, 王文勇, 李炳亚 (2313)
河南洛阳市不同功能区土壤重金属污染特征及评价	刘亚纳, 朱书法, 魏学锋, 苗娟, 周鸣, 关凤杰 (2322)
杭州蔬菜基地重金属污染及风险评价	龚梦丹, 朱维琴, 顾燕青, 李淑英, 加那提·吐尼克 (2329)
土壤溶解性有机质荧光特征及其与铜的络合能力	田雨, 王学东, 陈潇霖, 华珞 (2338)
添加稳定剂对尾矿土中砷形态及转换机制的影响	陈志良, 赵述华, 钟松雄, 桑燕鸿, 蒋晓璐, 戴玉, 王欣 (2345)
应用 SHIME 模型研究肠道微生物对土壤中镉、铬、镍生物可给性的影响	尹乃毅, 都慧丽, 张震南, 蔡晓琳, 李泽蛟, 孙国新, 崔岩山 (2353)
不同基因型杨树的光合特征与臭氧剂量的响应关系	辛月, 高峰, 冯兆忠 (2359)
芘胁迫对 5 种羊茅属植物根系分泌的几类低分子量有机物的影响	潘声旺, 袁馨, 刘灿, 李亚阗, 杨婷, 唐海云, 黄方玉 (2368)
维管束植物樟树和马尾松叶组织氮、硫含量指示贵阳地区大气氮、硫沉降的空间变化	徐宇, 肖化云, 郑能建, 张忠义, 瞿玲露, 赵晶晶 (2376)
苏北潮滩温室气体排放的时空变化及影响因素	许鑫王豪, 邹欣庆, 刘晶茹 (2383)
g-C ₃ N ₄ /Bi ₂ S ₃ 复合物的制备及可见光催化降解 MO	张志贝, 李小明, 陈飞, 杨麒, 钟宇, 徐秋翔, 杨伟强, 李志军, 陈寻峰, 谢伟强 (2393)
海南省淘汰落后产能政策的污染物协同减排效应评价	耿静, 任丙南, 吕永龙, 王铁宇 (2401)
《环境科学》征订启事 (2130) 《环境科学》征稿简则 (2251) 信息 (2178, 2344)	

微丝菌 (*Microthrix parvicella*) 原位荧光杂交 (FISH) 定量过程的条件优化

王润芳^{1,2}, 张红¹, 王琴³, 王娟¹, 顾剑², 齐嵘^{1*}, 杨敏¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 北京北排水环境发展有限公司水质检测中心, 北京 100022; 3. 河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002)

摘要: 微丝菌 (*Microthrix parvicella*) 是世界范围内诱发活性污泥膨胀现象的主要丝状菌之一, 它在活性污泥中准确的原位定量解析对污泥膨胀现象及控制策略研究具有非常重要的意义. 由于微丝菌自身的特殊生理生化性质 (如表面高疏水性及较厚细胞壁) 易导致常规荧光原位杂交 (FISH) 过程中定量结果偏低. 本研究针对 FISH 过程中存在的探针渗透率低、荧光信号偏弱等现象, 从活性污泥样品前处理、杂交过程条件等方面对 *Microthrix parvicella* 的 FISH 定量过程进行了优化. 结果表明, 在前处理使用溶菌酶 (浓度为 $36\,000\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$), 探针浓度为 $4.5\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 杂交时间延长至 4 h 的条件下, *Microthrix parvicella* 的 FISH 定量结果可从 1.12% 提高至 96.70%, 并与定量 PCR (q-PCR) 结果和 Eikelboom & Jenkins 法 (镜检观察) 定量结果更为趋近一致.

关键词: 污泥膨胀; 微丝菌; FISH 技术; 优化; 定量

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)06-2266-05 DOI: 10.13227/j.hj.kx.2016.06.033

Optimization for *Microthrix parvicella* Quantitative Processing of Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH)

WANG Run-fang^{1,2}, ZHANG Hong¹, WANG Qin³, WANG Juan¹, GU Jian², QI Rong^{1*}, YANG Min¹

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Water Quality Testing Center, Beijing Drainage Water Environment Development Co., Ltd., Beijing 100022, China; 3. College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: Precise quantification of *Microthrix parvicella*, which is identified as a dominated filamentous bacterium of bulking sludge in the worldwide, is essential for bulking investigation and related control strategies. However, quantitative processing based on fluorescence *in situ* hybridization (FISH) is prone to interference due to the specific characteristics of *Microthrix parvicella* (hydrophobic surface with thick cell wall). Our study focused on pretreatment and process optimization to show that the proportion of *Microthrix parvicella* was increased from 1.12% to 96.70% benefited by lysozyme ($36\,000\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$), high probe concentration ($4.5\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) and longer hybridization time (4 h) employed, mapping with the results of q-PCR method and Eikelboom & Jenkins Observation.

Key words: sludge bulking; *Microthrix parvicella*; fluorescence *in situ* hybridization (FISH); optimization; quantitative

在城市污水生物处理工艺的运行过程中, 污泥膨胀造成的二沉池泥水分离困难现象, 不仅会引起出水悬浮物浓度升高、污染物处理效率下降, 严重时甚至导致整体生物工艺的崩溃^[1~3]. 有研究报道指出, 90% 以上的污泥膨胀是由丝状菌 (filamentous bacteria) 的过量繁殖引起的^[4], 而微丝菌 (*Microthrix parvicella*) 则是在世界范围内诱发城市污水处理厂污泥膨胀现象的主要丝状菌^[5~10]. 为了更好地解决污泥膨胀对工艺正常运行的困扰, 活性污泥中的优势丝状菌, 特别是 *M. parvicella* 的准确定量分析在膨胀机制研究及控制中尤为重要.

针对 *M. parvicella* 的快速定性, 目前多采用 Eikelboom & Jenkins 法进行显微镜镜检, 从形态学角度进行快速鉴定^[11], 但定量分析结果较为粗

略^[12]. 定量 PCR (q-PCR) 尽管可以准确获得 *M. parvicella* 的数量变化^[13], 但结果无法分辨其在菌胶团中的生长位置对污泥沉降性的影响. 荧光原位杂交 (FISH) 技术同时结合上述两种方法的优点, 既可比镜检法更为准确地定量 *M. parvicella* 的数目变化, 同时又能以直接证据的形式表现出 *M. parvicella* 形态的变化趋势, 成为膨胀机制研究中重要的解析方法之一. 但 *M. parvicella* 为革兰氏阳性菌, 且细胞壁较厚, 传统方法下的目标探针穿透效果较差, 造成与胞内靶向 DNA 的结合效率下降, 影响最终的荧光信

收稿日期: 2015-12-07; 修订日期: 2016-01-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51378489, 31170468)

作者简介: 王润芳 (1989~), 女, 硕士, 主要研究方向为污水生物处理污泥膨胀解析及控制, E-mail: Wangrunf@126.com

* 通讯联系人, E-mail: qirong@cees.ac.cn

号通量,引起定量结果的无规律波动^[14,15]。

本研究根据 *M. parvicella* 的生理生化特点,在常规荧光原位杂交技术的基础上,通过样品前处理优化、杂交过程参数优化等多种方式,系统提高 FISH 杂交效率,较为准确地获得其在活性污泥中的比例数据,以期为膨胀机制及控制研究奠定扎实的科学技术基础。

1 材料与方法

1.1 样品的采集及固定

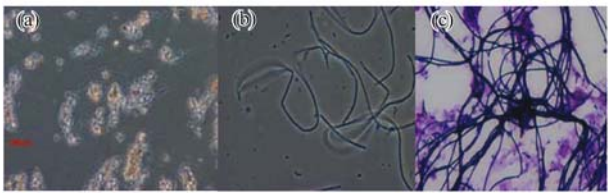
样品采于某城市污水处理厂污泥膨胀期曝气池的活性污泥,经 Eikelboom & Jenkins 法镜检表明:丝状菌丰度为 5,优势丝状菌为 *M. parvicella* (如图 1)。

离心管取样 2 mL,于 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,去上清,加入 1 mL 的冷冻乙醇,摇匀 -20℃ 保存。

1.2 FISH 定量过程

FISH 操作步骤见文献[16]。选用探针信息如表 1 所示。

样品于荧光显微镜下观察(OLYMPUSBX51),



(a)相差 100 × 下,丰度为 5 级; (b) *M. parvicella* (相差 1 000 ×); (c) *M. parvicella* (革兰氏染色 1 000 ×)

图 1 活性污泥中优势丝状菌

Fig. 1 Dominant filamentous bacteria in activated sludge

阳性 *M. parvicella* 为红色 (TRITC),活细菌为绿色 (FITC),全细菌为蓝色 (DAPI),每视野拍摄 3 组,共 10 个视野,采用 Image J 计数求平均。

由于 *M. parvicella* 本身的生理特性,造成探针渗透性差,荧光信号不强。根据报道^[18,19],针对前处理方法(1 mol·L⁻¹ HCl、变溶菌素、溶菌酶)、探针浓度(1.5、3.0、4.5 ng·μL⁻¹)和杂交时间^[20~22](2、3、4 h)进行了系统优化研究。

1.3 Real time-PCR 定量过程

普通 PCR 和 q-PCR 具体步骤参考文献[23~25]。引物信息如表 2 所示。

表 1 探针的选择

Table 1 Probes used in this study

探针	目的菌	探针序列	多聚甲醛/%	5'-探针	文献
MPAmix (MPA60 + MPA223 + MPA645)	<i>M. parvicella</i> + <i>Candidatus. M. calida</i>	GGATGGCCGCGTTTCGACT + GCCGCGAGACCCTCCTAG + CCGGACTCTAGTCAGAGC	20	TRITC	[19]
EUB338mix (Bact338)	Most bacteria	GCTGCCTCCCGT AGG AGT	35	FITC	[17]

表 2 引物的选择

Table 2 Primers used in this study

目的菌	引物名称	探针序列(5'-3')	文献
<i>M. parvicella</i> + <i>Candidatus. M. calida</i>	M1	GGTGTGGGGAGAACTCAACTC	[26]
	M2	GACCCCGAAGGACACCG	
细菌	341F	CCTACGGGAGGCAGCAG	[27]
	534R	TTACCGCGGCTGCTGGCAC	

2 结果与分析

2.1 不同探针浓度下的定量结果对比

随着探针浓度的提高,探针与目标菌结合程度逐步提高,目标菌的荧光信号明显增强,如图 2 所示,当探针浓度为 4.5 ng·μL⁻¹时,*M. parvicella* 占活菌的比例 (MPAmix/EUB) 从 1.12% 提高到 12.36%。

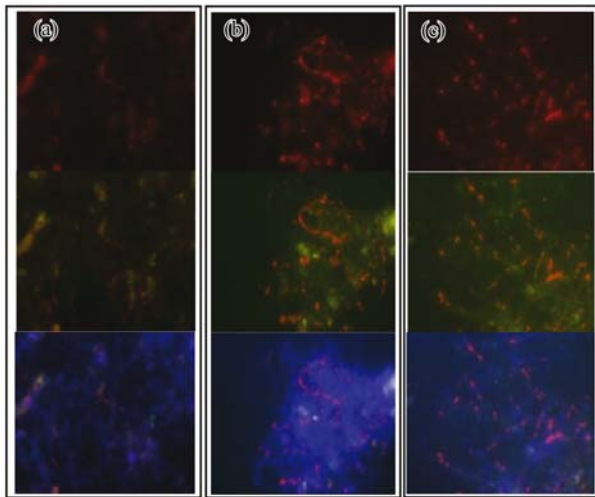
2.2 不同杂交时间下的定量结果

在优化探针浓度为 4.5 ng·μL⁻¹后,考察不同

杂交时间(2、3、4 h)对定量结果的影响,结果如图 3 所示。杂交时间对荧光强度和 *M. parvicella* 形态有着明显的影响,随着杂交时间的延长,探针的渗透性增加,其与目标菌结合得越完全,目标菌荧光数量和荧光强度都显著增加,且表现出来的形态越完整。*M. parvicella* 占活菌的比例从 13.30% 提高到 33.30% (图 3)。

2.3 不同前处理条件下的定量结果研究

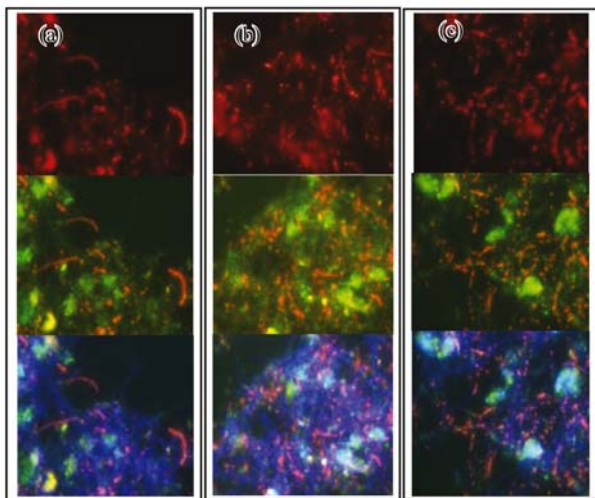
样品经脱水固定后,可以采取不同的方法进行前处理以提高探针的透过效率。酸处理可以使细胞



(a) 探针浓度为 $1.5 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (b) 探针浓度为 $3.0 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (c) 探针浓度为 $4.5 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片

图 2 不同探针浓度下 *M. parvicella* 的 FISH 图片

Fig. 2 FISH analysis of *M. parvicella* under different probe concentrations



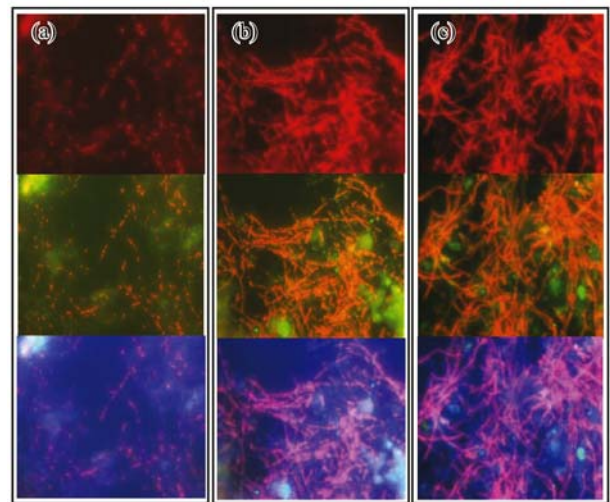
(a) 杂交时间 2 h 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (b) 杂交时间 3 h 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (c) 杂交时间 4 h 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片

图 3 不同杂交时间下 *M. parvicella* 的 FISH 图片

Fig. 3 FISH analysis of *M. parvicella* at different hybridization time

壁蛋白质水解,降低对探针的干扰,增加探针穿透性;变溶菌素则主要作用于连接 *N*-乙酰胞壁酸和 *N*-乙酰葡萄糖胺的 β -1,4 糖苷键,使细胞壁得以裂解增加荧光强度^[28];溶菌酶主要通过破坏细胞壁

中的 *N*-乙酰胞壁酸和 *N*-乙酰氨基葡萄糖之间的 β -1,4 糖苷键,使细胞壁不溶性黏多糖分解成可溶性糖肽,从而提高荧光信号^[29,30]. 在采取不同的前处理方法后,如图 4 所示,酸处理并未引起明显变化,而变溶菌素、溶菌酶的使用则显著增强了荧光信号,且 *M. parvicella* 形态有较完整的表达. 溶菌酶前处理方法下 *M. parvicella* 形态更接相差下的观察状态,无断点且光滑. 因此,在不同前处理下条件下, *M. parvicella* 的比例高低依次为溶菌酶 > 变溶菌酶 > $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl.



(a) 前处理方法为 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (b) 前处理方法为变溶菌素时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 的图片; (c) 前处理方法为溶菌酶时, 自上至下依次为 MPAmix、MPAmix/EUB、MPAmix/EUB 叠加 DAPI 图片

图 4 不同前处理下 *M. parvicella* 的 FISH 图片

Fig. 4 FISH analysis of *M. parvicella* with different pretreatment methods

2.4 FISH 定量结果与 q-PCR 定量结果的比较

在确认优化的各项条件后, *M. parvicella* 在活性污泥中定量结果的比例显著提高. 为了更为准确地检验优化条件的作用,将不同优化状态下的 FISH 定量结果与 q-PCR 定量结果进行了比较,结果如表 3 和表 4 所示.

不难看出, q-PCR 定量结果稳定在 80% 左右, 而变溶菌素和溶菌酶的优化结果可以分别达到 91% 和 96%. 由于方法原理不同, FISH 定量与 q-PCR 定量结果的绝对值之间并不存在数学比较意义. 但从污泥膨胀研究的角度出发, 特别是考虑到对象的客观比例, 相差观察定量、FISH 定量及 q-PCR 定量三者之间的比例数值应大致符合一定范

围,从更多的角度为 *M. parvicella* 客观比例数值提供较为匹配的横向比较,为今后的研究提供更为准确的科学数据基础.

表 3 FISH 定量数据

Table 3 Quantification of *M. parvicella* by FISH

条件	<i>M. parvicella</i> /EUB/%
①探针浓度/ng·μL ⁻¹	1. 5 1. 12 ± 0. 36
	3. 0 8. 22 ± 1. 10
	4. 5 12. 36 ± 1. 79
②杂交时间/h	2 13. 30 ± 1. 96
	3 20. 24 ± 2. 10
	4 33. 30 ± 2. 14
③前处理	1 mol·L ⁻¹ HCl 31. 64 ± 2. 39
	变溶菌素 91. 43 ± 3. 21
	溶菌酶 96. 70 ± 3. 08

1)①无前处理,杂交时间 2 h; ②无前处理,探针浓度 4. 5 ng·μL⁻¹; ③探针浓度 4. 5 ng·μL⁻¹,杂交 4 h

表 4 q-PCR 定量数据

Table 4 Quantification of *M. parvicella* by q-PCR

细菌 × 10 ⁸ /copies·μL ⁻¹	<i>M. parvicella</i> × 10 ⁸ /copies·μL ⁻¹	<i>M. parvicella</i> /细菌 /%
1. 77 ± 0. 02	1. 42 ± 0. 03	79. 88 ± 0. 52

3 结论

(1)本研究针对因 *M. parvicella* 本身生理特性导致荧光信号差,FISH 定量结果偏低的实验现象,通过探针浓度、杂交时间及前处理方法等优化,显著提高了定量结果的准确性. 探针浓度为 4. 5 ng·μL⁻¹,杂交时间为 4 h,采用溶菌酶作为前处理得到的最终荧光信号更为完整与稳定地显示了 *M. parvicella* 在活性污泥中的原位形态.

(2)优化后的 FISH 方法通过 10 组(*M. parvicella*/EUB)平均计算结果 *M. parvicella* 占活菌比例稳定在 96%,q-PCR 结果稳定在 80%. 尽管这两种方法由于原理不一,无法进行直接数值比较,但考虑到客观一致性,优化后杂交方法对种群的定量优势描述更与其他定量方法趋近一致,可以为今后研究提供更为准确的科学数据基础.

参考文献:

[1] Zheng S K, Sun J Y, Han H. Effect of dissolved oxygen changes on activated sludge fungal bulking during lab-scale treatment of acidic industrial wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2011, **45**(20): 8928-8934.

[2] Mielczarek A T, Kragelund C, Eriksen P S, et al. Population dynamics of filamentous bacteria in Danish wastewater treatment plants with nutrient removal [J]. Water Research, 2012, **46**(12): 3781-3795.

[3] Gravelleau L, Cotteux E, Duchène P. Bulking and foaming in France: the 1999- 2001 survey [J]. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2005, **33**(3): 223-231.

[4] 王萍,余志晟,齐嵘,等. 丝状细菌污泥膨胀的 FISH 探针研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2012, **18**(4): 705-712.

[5] Noutsopoulos C, Mamais D, Andreadakis A. A hypothesis on *Microthrix parvicella* proliferation in biological nutrient removal activated sludge systems with selector tanks [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, **80**(2): 380-389.

[6] Hamit-Eminovski J, Eskilsson K, Arnebrant T. Change in surface properties of *Microthrix parvicella* upon addition of polyaluminium chloride as characterized by atomic force microscopy[J]. Biofouling, 2010, **26**(3): 323-331.

[7] Noutsopoulos C, Mamais D, Andreadakis A. Long chain fatty acids removal in selector tanks: evidence for insufficient *Microthrix parvicella* control [J]. Desalination and Water Treatment, 2010, **23**(1-3): 20-25.

[8] Xie B, Dai X C, Xu Y T. Cause and pre-alarm control of bulking and foaming by *Microthrix parvicella*-a case study in triple oxidation ditch at a wastewater treatment plant[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, **143**(1-2): 184-191.

[9] Rossetti S, Tomei M C, Nielsen P H, et al. “ *Microthrix parvicella* ”, a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems; a review of current knowledge[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2005, **29**(1): 49-64.

[10] Andreassen K, Nielsen P H. Growth of *Microthrix parvicella* in nutrient removal activated sludge plants: studies of in situ physiology[J]. Water Research, 2000, **34**(5): 1559-1569.

[11] Eikelboom D H. Filamentous organisms observed in activated sludge[J]. Water Research, 1975, **9**(4): 365-388.

[12] Jenkins D, Richard M D, Daigger G L. Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation separation problems (3rd ed) [M]. London, UK: IWA Publishing, 2003. 17.

[13] Vansacker L, Denis C, Roels J, et al. Development and evaluation of a TaqMan duplex real-time PCR quantification method for reliable enumeration of *Candidatus Microthrix* [J]. Journal of Microbiological Methods, 2014, **97**: 6-14.

[14] Oerther D B, de los Reyes III F L, de los Reyes M F, et al. Quantifying filamentous microorganisms in activated sludge before, during, and after an incident of foaming by oligonucleotide probe hybridizations and antibody staining[J]. Water Research, 2001, **35**(14): 3325-3336.

[15] Bradford D, Christensson C, Jakab N, et al. Molecular biological methods to detect “ *Microthrix parvicella* ” and to determine its abundance in activated sludge[J]. Water Science and Technology, 1998, **37**(4-5): 37-45.

[16] Nielsen P H, Daims H, Lemmer H, et al. FISH handbook for biological wastewater treatment: identification and quantification of microorganisms in activated sludge and biofilms by FISH[M]. London, UK: IWA Publishing, 2009. 74-84.

[17] Daims H, Brühl A, Amann R, et al. The domain-specific probe

- EUB338 is insufficient for the detection of all *bacteria*; development and evaluation of a more comprehensive probe set [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1999, **22**(3): 434-444.
- [18] Marneri M, Mamais D, Koutsouki E. *Microthrix parvicella* and *Gordonia amarae* in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion systems [J]. *Environmental Technology*, 2009, **30**(5): 437-444.
- [19] Erhart R, Bradford D, Seviour R J, *et al.* Development and use of fluorescent *in situ* hybridization probes for the detection and identification of “*Microthrix parvicella*” in Activated Sludge [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1997, **20**(2): 310-318.
- [20] 张星, 林炜铁, 朱雅楠. FISH 技术定量解析亚硝酸盐氧化菌的条件优化[J]. *环境科学学报*, 2009, **29**(4): 716-722.
- [21] 张勇, 宋吟玲, 史俊, 等. FISH 法检测生物膜中硝化细菌流程的建立及优化[J]. *环境科技*, 2009, **22**(4): 34-37.
- [22] 张勇, 宋吟玲. 荧光原位杂交法检测反应器中聚磷菌实验条件优化及应用[J]. *环境科学管理*, 2008, **33**(2): 126-129.
- [23] Lienen T, Kleyböcker A, Verstraete W, *et al.* Foam formation in a downstream digester of a cascade running full-scale biogas plant; influence of fat, oil and grease addition and abundance of the filamentous bacterium *Microthrix parvicella* [J]. *Bioresource Technology*, 2014, **153**: 1-7.
- [24] Zhang V X, Zhou H D, Theodoulou M, *et al.* Quantification of *Microthrix parvicella* and *Gordonia* species using quantitative real-time PCR (qPCR) in submerged membrane bioreactors for municipal wastewater treatment [A]. In: *Proceedings of the Water Environment Federation* [C]. [S. l.]: WEFTEC, 2010. 5614-5629.
- [25] Kumari S K S, Marrengane Z, Bux F. Application of quantitative RT-PCR to determine the distribution of *Microthrix parvicella* in full-scale activated sludge treatment systems [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, **83**(6): 1135-1141.
- [26] Kaetzke A, Jentsch D, Eschrich K. Quantification of *Microthrix parvicella* in activated sludge bacterial communities by real-time PCR [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2005, **40**(3): 207-211.
- [27] Koike S, Krapac I G, Oliver H D, *et al.* Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-year period [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(15): 4813-4823.
- [28] 刘同军, 徐文琳, 张玉臻. 变溶菌素 (Mutanolysin) 研究历史和发展前景 [J]. *微生物学报*, 2000, **40**(2): 224-227.
- [29] 陈艳, 江明锋, 叶煜辉, 等. 溶菌酶的研究进展 [J]. *生物学杂志*, 2009, **26**(2): 64-66.
- [30] 叶丹, 连宾. 溶菌酶及其应用 [J]. *贵州科学*, 2003, **21**(3): 67-70.

CONTENTS

Application of a Two-stage Virtual Impactor in Measuring of PM ₁₀ and PM _{2.5} Emissions from Stationary Sources	JIANG Jing-kun, DENG Jian-guo, LI Zhen, <i>et al.</i> (2003)
Hygroscopic Properties and Closure of Aerosol Chemical Composition in Mt. Huang in Summer	CHEN Hui, YANG Su-ying, LI Yan-wei, <i>et al.</i> (2008)
Characteristics of Water-soluble Inorganic Ions in Atmospheric Aerosols in Shenyang	MIAO Hong-yan, WEN Tian-xue, WANG Lu, <i>et al.</i> (2017)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Ions in Dry Deposition in the Summer and Autumn of Nanjing	QIN Yang, ZHU Bin, ZOU Jia-nan, <i>et al.</i> (2025)
Distribution Characteristics of Water-soluble Ions in Size-segregated Particulate Matters in Taiyuan	CAO Run-fang, YAN Yu-long, GUO Li-li, <i>et al.</i> (2034)
Characteristics of Ozone over Standard and Its Relationships with Meteorological Conditions in Beijing City in 2014	CHENG Nian-liang, LI Yun-ting, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (2041)
Chemical Composition of Alkanes and Organic Acids in Vehicle Exhaust	YUAN Jia-wen, LIU Gang, LI Jiu-hai, <i>et al.</i> (2052)
Effect of DOC/CCRT Aging on Gaseous Emission Characteristics of an In-used Diesel Engine Bus	LOU Di-ming, HE Nan, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (2059)
Studies of Dynamic Adsorption Behavior of VOCs on Biochar Modified by Ultraviolet Irradiation	LI Qiao, YONG Yi, DING Wen-chuan, <i>et al.</i> (2065)
Absorption Spectral Characteristic Dynamics of Dissolved Organic Matter (DOM) from a Typical Reservoir Lake in Inland of Three Gorges Reservoir Areas: Implications for Hg Species in Waters	JIANG Tao, LU Song, WANG Qi-lei, <i>et al.</i> (2073)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) in Waters of Typical Agricultural Watershed of Three Gorges Reservoir Areas	WANG Qi-lei, JIANG Tao, ZHAO Zheng, <i>et al.</i> (2082)
High-resolution Variations of Oxygen and Hydrogen Isotopes of Precipitation and Feedback from Cave Water: An Example of Jiguan Cave, Henan	SUN Zhe, YANG Yan, ZHANG Ping, <i>et al.</i> (2093)
Spatial Response of River Water Quality to Watershed Land Use Type and Pattern Under Different Rainfall Intensities	JI Xiang, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i> (2101)
Determination of Background Value and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments of the Danjiangkou Reservoir	ZHAO Li, WANG Wen-wen, JIANG Xia, <i>et al.</i> (2113)
Spatial Distribution Characteristics and Risk Assessment of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Sediments and Soils from the Dishui Lake and Its River System	WANG Xue-ping, HUANG Xing, BI Chun-juan, <i>et al.</i> (2121)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Organochlorine Pesticides in Water Source Areas of Guangdong and Guangxi	YANG Yu-xiang, LIU Xin-yu, ZHAN Zhi-wei, <i>et al.</i> (2131)
Responses of Nutrients and Chlorophyll a to Water Level Fluctuations in Poyang Lake	LIU Xia, LIU Bao-gui, CHEN Yu-wei, <i>et al.</i> (2141)
Influence of Periodic Temperature Disturbance on the Succession of Algal Community Structure	GONG Dan-dan, LIU De-fu, ZHANG Jia-lei, <i>et al.</i> (2149)
Effects of Bromate on the Growth and Physiological Characteristics of <i>Chlorella vulgaris</i>	WANG Zhi-wei, LIU Dong-mei, ZHANG Wen-juan, <i>et al.</i> (2158)
Effect of Water Bloom on the Nitrogen Transformation and the Relevant Bacteria	LI Jie, ZHANG Si-fan, XIAO Lin (2164)
Effect of Carbon and Nitrogen Forms on Decomposition of Organic Matter in Sediments from Urban Polluted River	TANG Qian, LIU Bo, WANG Wen-lin, <i>et al.</i> (2171)
Interfacial Property of Amphiphilic Copolymer Blending PVDF UF Membrane and Protein Anti-fouling	MENG Xiao-rong, LU Bing-xue, FU Dong-hui, <i>et al.</i> (2179)
Adsorption of Hg(II) in Water by Sulfhydryl-Modified Sepiolite	XIE Jing-ru, CHEN Ben-shou, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (2187)
Adsorption Behavior of Low Concentration Phosphorus from Water onto Modified Reed Biochar	TANG Deng-yong, HUANG Yue, XU Rui-chen, HU Jie-li, <i>et al.</i> (2195)
Adsorption Characteristics of 2,4-D on UiO-66 from Wastewater	REN Tian-hao, YANG Zhi-lin, GUO Lin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism and Surface Fractal Characteristics for the Adsorption of <i>p</i> -nitrophenol on Water-quenched Blast Furnace Slag	WANG Zhe, HUANG Guo-he, AN Chun-jiang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption Characteristics for Humic Acid by Binary Systems Containing Kaolinite and Goethite	NIU Peng-ju, WEI Shi-yong, FANG Dun, <i>et al.</i> (2220)
Effects of Sulfur/sponge Iron Ratio for Deep Denitrification and Phosphorus Removal of Reclaimed Water	ZHOU Yan-qing, HAO Rui-xia, WANG Zhen, <i>et al.</i> (2229)
Effect of Element Sulfur Particle Size and Type of the Reactor on Start-up of Sulfur-based Autotrophic Denitrification Reactor	MA Hang, ZHU Qiang, ZHU Liang, <i>et al.</i> (2235)
Influencing Mechanism of Titanium Salt Coagulant Chemical Conditioning on the Physical and Chemical Properties of Activated Sludge Flocs	WANG Cai-xia, ZHANG Wei-jun, WANG Dong-sheng, <i>et al.</i> (2243)
Distribution Characteristics of Methanogens in Urban Sewer System	SUN Guang-xi, JIN Peng-kang, SONG Ji-na, <i>et al.</i> (2252)
Long-term Performance and Bacterial Community Composition Analysis of AGS-SBR Treating the Low COD/N Sewage at Low DO Concentration Condition	XIN Xin, GUAN Lei, YAO Yi-duo, <i>et al.</i> (2259)
Optimization for <i>Microthrix parvicella</i> Quantitative Processing of Fluorescence <i>in situ</i> Hybridization (FISH)	WANG Run-fang, ZHANG Hong, WANG Qin, <i>et al.</i> (2266)
Influence of Carbonization Temperature on Bacterial Community of the Biological Carbon Electrode Based on High-throughput Sequencing Technology	WU Yi-cheng, HE Guang-hua, ZHENG Yue, <i>et al.</i> (2271)
Isolation, Identification and Characteristics of a <i>Rhodospseudomonas</i> with High Ammonia-nitrogen Removal Efficiency	HUANG Xue-jiao, YANG Chong, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (2276)
Variation Characteristics of Inorganic Phosphorus in Purple Soil Profile Under Different Conservation Tillage Treatments	HAN Xiao-fei, GAO Ming, XIE De-ti, <i>et al.</i> (2284)
Effect of Different Organic Materials on Nitrogen Mineralization in Two Purple Soils	ZHANG Ming-hao, LU Ji-wen, ZHAO Xiu-lan (2291)
Impacts of Biochar and Straw Application on Soil Organic Carbon Transformation	ZHANG Ting, WANG Xu-dong, PANG Meng-wen, <i>et al.</i> (2298)
Tracing Sources of Heavy Metals in the Soil Profiles of Drylands by Multivariate Statistical Analysis and Lead Isotope	SUN Jing-wei, HU Gong-ren, YU Rui-lian, <i>et al.</i> (2304)
Landscape Patterns Characteristics of Soil Heavy Metal Pollution in a Town of Southern Jiangsu	CHEN Xin, PAN Jian-jun, WANG Wen-yong, <i>et al.</i> (2313)
Assessment and Pollution Characteristics of Heavy Metals in Soil of Different Functional Areas in Luoyang	LIU Ya-na, ZHU Shu-fa, WEI Xue-feng, <i>et al.</i> (2322)
Evaluation on Heavy Metal Pollution and Its Risk in Soils from Vegetable Bases of Hangzhou	GONG Meng-dan, ZHU Wei-qin, GU Yan-qing, <i>et al.</i> (2329)
Fluorescence Spectroscopic Characteristics and Cu ²⁺ -complexing Ability of Soil Dissolved Organic Matter	TIAN Yu, WANG Xue-dong, CHEN Xiao-lin, <i>et al.</i> (2338)
Effect of Stabilizer Addition on Soil Arsenic Speciation and Investigation of Its Mechanism	CHEN Zhi-liang, ZHAO Shu-hua, ZHONG Song-xiong, <i>et al.</i> (2345)
Effects of Human Gut Microbiota on Bioaccessibility of Soil Cd, Cr and Ni Using SHIME Model	YIN Nai-yi, DU Hui-li, ZHANG Zhen-nan, <i>et al.</i> (2353)
Photosynthetic Characteristics and Ozone Dose-response Relationships for Different Genotypes of Poplar	XIN Yue, GAO Feng, FENG Zhao-zhong (2359)
Effects of Pyrene on Low Molecule Weight Organic Compounds in the Root Exudates of Five Species of <i>Festuca</i>	PAN Sheng-wang, YUAN Xin, LIU Can, <i>et al.</i> (2368)
N% and S% in Leaves of Vascular Plants <i>Cinnamomum camphora</i> and <i>Pinus massoniana</i> Lamb. for Indicating the Spatial Variation of Atmospheric Nitrogen and Sulfur Deposition	XU Yu, XIAO Hua-yun, ZHENG Neng-jian, <i>et al.</i> (2376)
Temporal and Spatial Dynamics of Greenhouse Gas Emissions and Its Controlling Factors in a Coastal Saline Wetland in North Jiangsu	XU Xin-wanghao, ZOU Xin-qing, LIU Jing-ru (2383)
Preparation of Visible-light-induced g-C ₃ N ₄ /Bi ₂ S ₃ Photocatalysts for the Efficient Degradation of Methyl Orange	ZHANG Zhi-bei, LI Xiao-ming, CHEN Fei, <i>et al.</i> (2393)
Estimation of Co-benefits from Pollution Emission Reduction by Eliminating Backward Production Capacities in Hainan Province	GENG Jing, REN Bing-nan, LÜ Yong-long, <i>et al.</i> (2401)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

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 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
赵进才 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)

2016年6月15日 第37卷 第6期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 6 Jun. 15, 2016

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	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行