

饮用水深度处理活性炭池中微生物群落分布研究

王敏¹, 尚海涛², 郝春博², 骆鹏¹, 顾军农¹

(1. 北京市自来水集团水质监测中心, 北京 100192; 2. 中国地质大学(北京)水资源与环境学院, 北京 100083)

摘要:采集 2 种炭龄饮用水深度处理活性炭池表面生物膜, 提取微生物总 DNA, 构建细菌 16S rDNA 克隆文库, 并通过 16S rDNA 序列的系统发育分析, 对样品中的细菌种群多样性以及群落结构进行了研究. 结果表明, 5 a 炭龄炭样克隆文库中阳性克隆的 16S rDNA 序列分属 11 个细菌类群, 分别为 α -Proteobacteria (26.5%), β -Proteobacteria (16.3%), δ -Proteobacteria (16.3%), Planctomycetes (12.2%), Gemmatimonadetes (6.1%), Acidobacteria (4.1%), Nitrospira (2.0%), γ -Proteobacteria (2.0%), Bacteroidetes (2.0%), Actinobacteria (2.0%), Unclassified Bacteria (10.2%). 1.5 a 炭龄炭样克隆文库中阳性克隆的 16S rDNA 序列分属 10 个细菌类群, 分别为 α -Proteobacteria (21.6%), Planctomycetes (10.8%), Bacteroidetes (10.8%), β -Proteobacteria (9.0%), Acidobacteria (9.0%), Nitrospira (7.2%), δ -Proteobacteria (7.2%), Unclassified Proteobacteria (5.4%), Gemmatimonadetes (3.6%), Unclassified Bacteria (14.4%). 可以看出, 2 种炭龄活性炭表面的微生物种群均十分丰富, 变形菌门细菌在 2 个克隆文库中均居较大比例, 优势种群为 α -Proteobacteria 纲和 β -Proteobacteria 纲. 在炭龄 5 a 的活性炭表面, δ -Proteobacteria 纲所占比例较高, 硝化螺旋菌门(Nitrospira)所占比例较低, 而炭龄 1.5 a 的活性炭上的情况恰好相反. 在 2 个炭样中共发现了阿菲波菌属(*Afipia*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)这 2 种潜在致病菌, 可能对饮用水生物安全性带来一定风险.

关键词: 活性炭; 16S rDNA; 分子克隆文库; 微生物种群; 致病菌

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2011)05-1497-08

Diversity and Bacteria Community Structure of Activated Carbon Used in Advanced Drinking Water Treatment

WANG Min¹, SHANG Hai-tao², HAO Chun-bo², LUO Peng¹, GU Jun-nong¹

(1. Water Quality Monitoring Center of Beijing Waterworks Group, Beijing 100192, China; 2. School of Water Resources & Environment, China University of Geosciences(Beijing), Beijing 100083, China)

Abstract: Two granular activated carbon (GAC) samples with 1.5 a and 5 a age were collected, Bacterial genome DNA was extracted for the 16S rDNA gene amplification, and then a bacterial 16S rDNA gene clone library was constructed. After the phylogenetic analysis of 16S rDNA sequences, bacterial diversity and community structure of two activated carbon biofilm sample were studied. The results showed the bacteria in GAC with 5 a age could be divided into 11 groups, which were as follows α -Proteobacteria (26.5%), β -Proteobacteria (16.3%), δ -Proteobacteria (16.3%), Planctomycetes (12.2%), Gemmatimonadetes (6.1%), Acidobacteria (4.1%), Nitrospira (2.0%), γ -Proteobacteria (2.0%), Bacteroidetes (2.0%), Actinobacteria (2.0%), Unclassified Bacteria (10.2%). The bacteria in GAC with 1.5 a age could be divided into 10 groups, which were as follows α -Proteobacteria (21.6%), Planctomycetes (10.8%), Bacteroidetes (10.8%), β -Proteobacteria (9.0%), Acidobacteria (9.0%), Nitrospira (7.2%), δ -Proteobacteria (7.2%), Unclassified Proteobacteria (5.4%), Gemmatimonadetes (3.6%), Unclassified Bacteria (14.4%). The results revealed a variety of bacterial divisions on the studied GAC biofilm. Proteobacteria had the highest share in the two total clones, and α - and β -Proteobacteria were on a dominant position. A relatively high proportion of δ -Proteobacteria was observed in the biofilm of GAC with 5 a age, and Nitrospira was in a minor proportion. However, a totally converse condition appeared in GAC with 1.5 a age. Two pathogenic bacteria, *Afipia* and *Chryseobacterium*, were detected in analyzed GACs, which implies a potential microbial risk in water supply.

Key words: activated carbon; 16S rDNA; clone library; bacteria community structure; pathogenic bacteria

由于地表水源的微污染现状日益加剧,越来越多的给水厂采用深度处理工艺来处理地表水,活性炭池就是其中的一种. 以往有关活性炭的研究多集中在对有机物的去除上,而对活性炭生物降解机制以及微生物群落分布的研究十分有限. 饮用水环境属典型的贫营养型环境,活性炭上的微生物也主要是贫营养型微生物,这类微生物依靠传统的分离培

养方法进行解析难度很大^[1]. 当前采用先进的分子生物学技术——分子克隆文库已经可对富营养环境中的微生物群落结构进行快速、准确地解析^[2, 3].

收稿日期: 2010-06-02; 修订日期: 2010-08-30
基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07424-003); 国家自然科学基金项目(40802059)
作者简介: 王敏(1976~), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为饮用水深度处理技术, E-mail: wangminwater@126.com

其方法是提取样品的总 DNA 后,用特异性 16S rDNA 引物进行 PCR 扩增,扩增产物能很容易地被克隆到合适的载体上,经转化后就构建成了一个 16S rDNA 分子克隆文库,随机选择克隆,进行其 DNA 序测定,通过与数据库中的相关种群比较,可确定与该克隆最相近的菌株. 用这种不依赖培养的方法可以直接分析环境中的微生物(包括难培养微生物)种群结构. 钦颖英^[4]和 Chen^[5]等也采用构建 16S rDNA 克隆文库的方法解析了给水生物预处理反应器和膜处理工艺中的微生物种群结构. 但这种方法用于饮用水等贫营养环境中微生物的检测在国内外还鲜有报道. 本研究针对饮用水深度处理中使用的活性炭池,尝试利用分子生物学的手段,通过构建活性炭表面微生物的 16S rDNA 克隆文库,对活性炭表面细菌种群多样性进行了分析,并通过 16S rDNA 序列的系统发育分析,对其中的细菌群落结构进行了探讨. 鉴定分析活性炭表面微生物群落结构和分布对于明确饮用水深度处理中活性炭生物降解机制以及微生物泄露导致的健康风险具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验样品取自北方某地表水厂炭池的表层活性炭,活性炭炭龄分别为 5 a 和 1.5 a,以 5 a 炭样和 1.5 a 炭样表示,系统发育树中的编号分别为 1 号和 6 号.

1.2 DNA 的提取及扩增

取 10 g 活性炭,置于 100 mL 无菌生理盐水中,超声振荡 15 min^[6],然后取上层溶液提取样品的总 DNA,使用细菌 16S rDNA 通用引物^[7] 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') 和 1492R (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3'),PCR 扩增样品中的相应基因. PCR 反应条件为:预变性条件为 95℃ 5 min,94℃ 变性 30 s,52℃ 退火 30 s 和 72℃ 延伸 2 min,共 35 个循环,最后在 72℃ 下延伸 7 min. PCR 反应的产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测.

1.3 16S rDNA 基因全长的 PCR 扩增和基因文库构建

PCR 产物走琼脂糖凝胶电泳,用 UNIQ-10 柱离心式多用途 DNA 纯化试剂盒(上海生工)回收纯化凝胶中 1 500 bp 处的 DNA 的琼脂块,用 Promega 公司的 pGEM-T 载体连接回收产物. 将含有合适片断大小的质粒转化入 *E. coli* DH5 α 后,采用 IPTG/X-

gal 抗性筛选平板选择具有氨苄青霉素抗性的白色转化子构建 16S rDNA 克隆文库. 以 T7 (5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC-3') 和 SP6 (5'-ATT TAG GTG ACA CTA TAG AAT ACT C-3') 为引物,少量菌体为模板,PCR 扩增验证插入片段的大小,筛选阳性克隆. 将筛选好的阳性克隆保存于含有 20% 甘油和 100 μ g/mL 氨苄青霉素的 LB 培养基中,-70℃ 保藏.

1.4 基因文库的 ARDRA 分型

将引物 T7 和 SP6 鉴定出的阳性克隆 PCR 产物,使用限制性内切酶 *Hha* I 和 *Msp* I (Promage 公司)进行酶切分析. 酶切反应使用 20 μ L 体系,包括:2 μ L Buffer,1 μ L 内切酶,10 μ L PCR 产物,18 μ L 双蒸水. *Hha* I 于 60℃ 酶切 4 h,*Msp* I 则于 37℃ 酶切 4 h. 酶切产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳,经 EB 染色后,使用凝胶成像仪照相. 用 Quantity One 凝胶处理系统分析酶切图谱,确定 ARDRA 类型数目.

1.5 序列测定和系统发育分析

将确定的阳性克隆进行测序,获得序列后,将每种基因型的序列输入 RDP 网站,利用 Classifier 程序确定其系统发育类群. 再将每种基因型的序列输入 NCBI 网站,用 BLAST 程序与数据库中已有的序列进行比对,下载相似性最高的序列和相似性较高的已知种的序列作为参考. 将所有序列用 BioEdit 中 ClustalW 程序比对后,用 MEGA 4.0 软件绘制系统发育树.

2 结果与讨论

随机挑取 5 a 炭样的 200 个白色克隆建立克隆文库. 以 T7 和 SP6 为引物,少量菌体为模板,PCR 扩增克隆质粒上的插入片断. 经过验证,确定 180 个为阳性克隆. 用 *Hha* I 和 *Msp* I 对阳性 PCR 产物进行酶切分析,将克隆文库中的序列分成 100 种类型. 选取每种 ARDRA 型的代表克隆进行测序. 获得序列后,剔除相同序列,共得到 38 种基因型的序列. 将每种基因型的序列输入 RDP 网站,利用 Classifier 程序确定其系统发育类群.

以同样的方法,随机挑取 1.5 a 炭样的 200 个白色克隆建立克隆文库,确定了 182 个为阳性克隆. 通过酶切分析,将克隆文库中的序列分成 103 种类型. 最终共得到 43 种基因型的序列. 将每种基因型的序列输入 RDP 网站,利用 Classifier 程序确定其系统发育类群.

本研究所得序列均已提交 GenBank, 序列登陆号为 HM163075- HM163155.

2 个炭样的克隆文库中各种细菌所占比例列于表 1 中.

表 1 细菌在基因文库中的所占比例

Table 1 Fraction of different bacteria in gene clone library		比例/%	
细菌分类		5 a 炭样	1.5 a 炭样
变形细菌门	α -Proteobacteria	26.5	21.6
	β -Proteobacteria	16.3	9.0
	γ -Proteobacteria	2.0	
	δ -Proteobacteria	16.3	7.2
硝化螺旋菌门	Nitrospira	2.0	7.2
浮霉菌门	Planctomycetes	12.2	10.8
拟杆菌门	Bacteroidetes	2.0	10.8
芽单胞菌门	Gemmatimonadetes	6.1	3.6
酸杆菌纲	Acidobacteria	4.1	9.0
未分类变形细菌门	Unclassified		5.4
	Proteobacteria		
未分类细菌	Unclassified Bacteria	10.2	14.4
放线菌门	Actinobacteria	2.0	

5 a 炭样克隆文库中细菌的 180 个阳性克隆的 16S rDNA 序列分属 11 个细菌类群, 分别为 α -Proteobacteria (26.5%), β -Proteobacteria (16.3%), δ -Proteobacteria (16.3%), Planctomycetes (12.2%), Gemmatimonadetes (6.1%), Acidobacteria (4.1%), Nitrospira (2.0%), γ -Proteobacteria (2.0%), Bacteroidetes (2.0%), Actinobacteria (2.0%), Unclassified Bacteria (10.2%). 可以看出, α -Proteobacteria 是该微生物群落中数量最大的一个类, β -Proteobacteria 是这一生态系统中的第二大类细菌, δ -Proteobacteria 为第三大类细菌, Planctomycetes 门细菌在文库中所占比例也较高.

1.5 a 炭样克隆文库中细菌的 182 个阳性克隆的 16S rDNA 序列分属 10 个细菌类群, 分别为 α -Proteobacteria (21.6%), Planctomycetes (10.8%), Bacteroidetes (10.8%), β -Proteobacteria (9.0%), Acidobacteria (9.0%), Nitrospira (7.2%), δ -Proteobacteria (7.2%), Unclassified Proteobacteria (5.4%), Gemmatimonadetes (3.6%), Unclassified Bacteria (14.4%). 可以看出, 1.5 a 炭样克隆文库中 α -Proteobacteria 和 β -Proteobacteria 两纲细菌与 5 a 炭样相比所占比例较低, 但依然是该克隆文库中主要的微生物种群.

将 2 个样品克隆的基因型序列输入 NCBI 网站, 用 BLAST 程序与数据库中已有的序列进行比对. 为了了解这些细菌的系统发育地位, 除了数据

库中同源性最高的序列之外, 本研究还下载了一些同源性较高的已知菌种的序列, 与所得序列分别构建了 Proteobacteria 和其它类群细菌的系统发育树, 确定该克隆的细菌种属.

比对结果表明, 5 a 炭样中许多细菌的 16S rDNA 序列与数据库中已经存在序列相似性比较低, 很多相似性在 95% 以下, 最低达 88%, 而且绝大多数序列来源于未培养的微生物. 与文库中相似性较高的序列大多来自于土壤、活性污泥、地下水、江河湖泊及城市供水系统等相关环境.

从图 1、2 可以看出, 5 a 炭样中绝大多数克隆都与未培养细菌亲缘关系较近, 只有克隆 1-22 与 *Chitinimonas taiwanensis* 在系统发育树上聚为一类. *Chitinimonas taiwanensis* 为台湾几丁单胞菌, 是台湾研究者 2004 年刚刚从淡水池塘里分离出来的一个新属、新种, 有较强的几丁质分解功能^[8]. 该细菌属红环菌科, 为革兰氏阴性微弯曲杆菌, 具有单鞭毛的运动性. 本菌可利用几丁质为唯一碳、氮、能源生长, 并可于好氧与厌氧下生长. 最适生长温度范围为 25~37℃, 酸碱度范围为 pH 6~8. 与文库中克隆相似性较高的序列均来自相关环境的未培养细菌.

比对结果表明, 1.5 a 炭样中许多细菌的 16S rDNA 序列与数据库中已经存在的序列相似性比较低, 很多相似性在 95% 以下, 与 5 a 炭样相同, 绝大多数序列来源于未培养的微生物, 与文库中相似性较高的序列同样来自于土壤、活性污泥、地下水、江河湖泊及城市供水系统等相关环境.

从图 3 中可以看出, 1.5 a 炭样中绝大多数克隆都与未培养细菌亲缘关系较近, 只有 3 个克隆子与已知序列亲缘关系较近. 克隆 6-21 与阿菲波菌属 (*Afipia*) 细菌在系统发育树上聚为一类. 该属细菌为人类病原体, 在脱氮反应器中比较常见, 主要起亚硝酸盐氧化的作用^[9]. 从图 4 中可以看出, 克隆 6-20 与 *Pirellula staleyi* strain ATCC 35122 的亲缘关系最近, 该菌株分离自淡水湖泊, 2002 年刚被确立为一个新种^[10]. 克隆 6-25 与金黄杆菌属细菌 (*Chryseobacterium*) 聚在一个分枝上, 该属细菌可降解多种难降解有机物, 如苯胺、甲基叔丁基醚等^[11]. 金黄杆菌呈金黄色、不透明、表面光滑湿润、边缘整齐、易挑取, 菌呈杆状, 为革兰氏阴性菌. 黄杆菌纲主要存在于水生环境中, 也会在食物中存在. 多数黄杆菌纲细菌对人无害, 但脑膜脓毒性金黄杆菌 (*Chryseobacterium meningosepticum*) 可引起新生儿脑

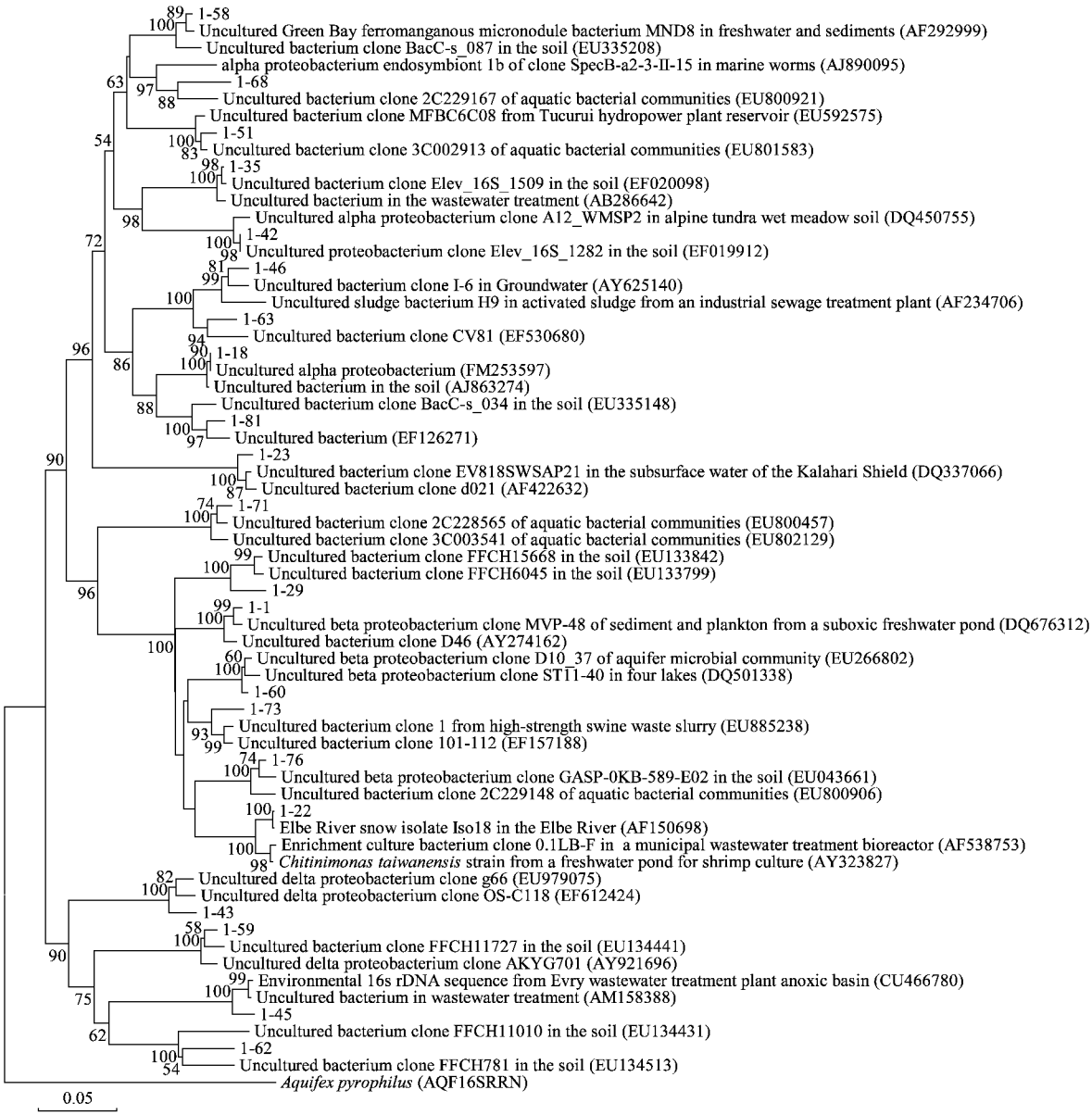


图 1 5 a 炭样的 Proteobacteria 门细菌系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree from analysis of Proteobacteria bacteria on GAC with 5 a age

膜炎。最近科学家又在原料奶中发现了一种新型的细菌 *Chryseobacterium oranimense*, 这种细菌在极低的温度下都可以生存, 对人体造成的影响还不明确, 相关科学家表示, 这种新型细菌的数量和危害性比以前人们预计的要复杂的多。

3 讨论

2 个炭样的分子克隆文库中, 变形细菌门的细菌占了很大的比例。变形细菌门 (Proteobacteria) 为革兰氏阴性菌, 多数营兼性或者专性厌氧及异养生活, 但有很多例外。研究结果表明, 2 种活性炭样品

的细菌群落中, α -Proteobacteria 纲细菌均占优势地位。这与 α -Proteobacteria 纲细菌的生理特征有关, 它们是典型的贫营养型细菌, 适合在贫营养环境中生存。供水系统是一个典型的贫营养环境, 故这类细菌在群落中占优势地位就不足为奇了^[12]。Chen 等^[5]用构建 16S rDNA 克隆文库的方法和 FISH 方法研究了用于饮用水处理的反渗透膜反应器中的细菌群落结构, 2 种方法的研究结果一致表明 α -Proteobacteria 纲细菌占了反应器细菌总数的 50% 左右^[5]。这一比例要高于本研究的结果。 β -Proteobacteria 纲细菌在代谢类型上与

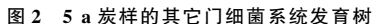


Fig. 2 Phylogenetic tree from analysis of other phyla of bacteria on GAC with 5 a age

理系统中的最优势类群,其次是拟杆菌(Bacteroidetes). 钦颖英等^[4]对给水生物预处理反应器中的细菌种群研究后发现 β -Proteobacteria 纲并不是给水生物膜中的最大类群,也未发现相似于拟杆菌的克隆子. 本研究结果表明,给水系统活性炭生物膜中 β -Proteobacteria 纲细菌不是生物膜中的最大类群,但也的确发现了拟杆菌门细菌,这说明在给水和废水的处理系统中,或同是在给水处理系统中

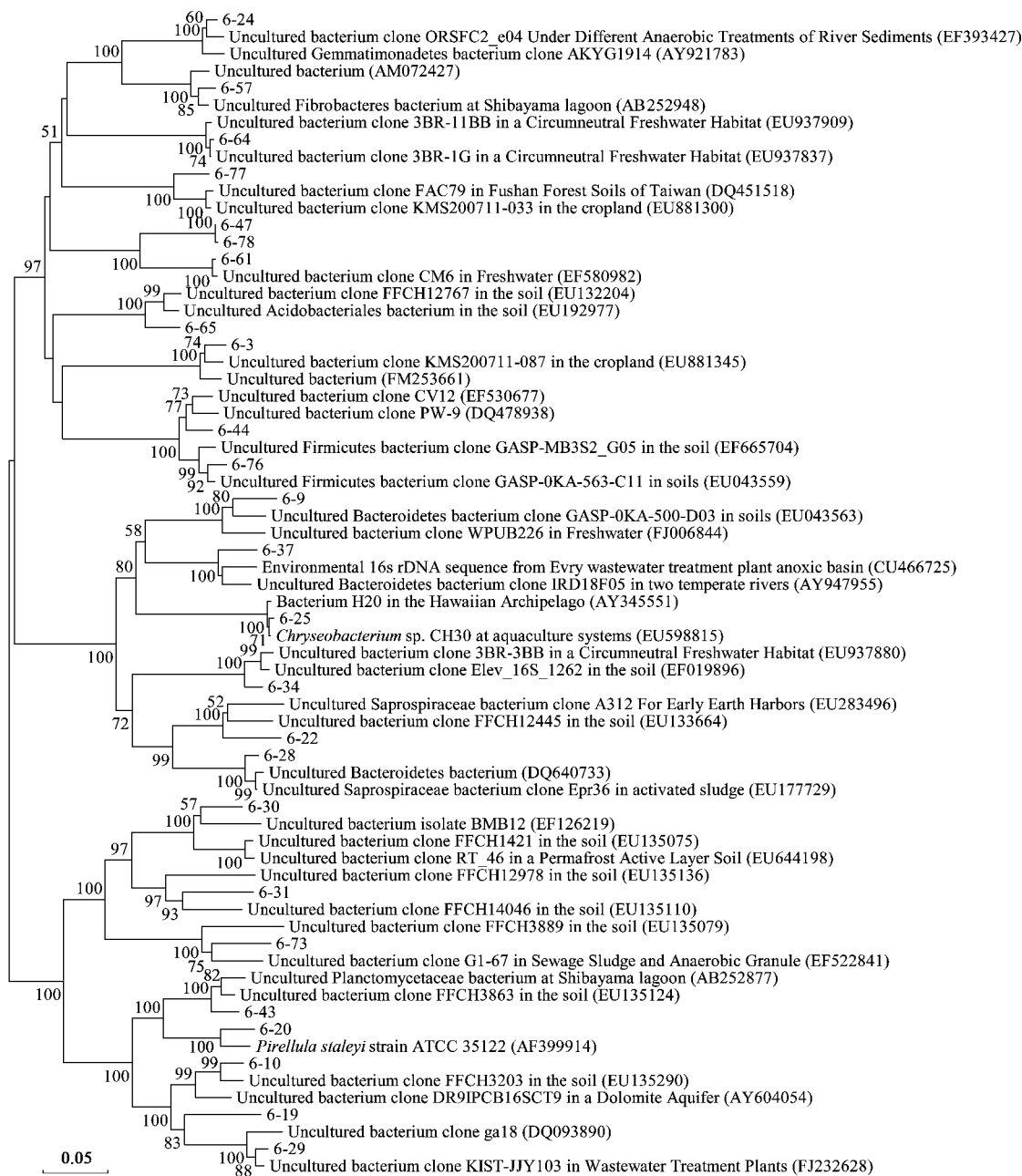


图 4 1.5 a 炭样的其它门细菌系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree from analysis of other phyla of bacteria on GAC with 1.5 a age

性炭表面硝化螺旋菌门这类好氧菌所占比例较高。

5 a 炭样的细菌群落中浮霉菌门 (Planctomycetes) 所占比例为 12.2%, 1.5 a 炭龄炭样所占比例为 10.8%, 在各自文库中的所占比例均较高。Planctomycetes 细菌是一小门水生细菌, 在海水、半咸水、淡水中都可被发现。Planctomycetes 的某些细菌如 (Candidatus Brocadia)、(Candidatus Kuenenia) 和 (Candidatus Scalindua) 属, 它们至今未能成功分离得到纯菌株, 因此尚未获得正式命名和

分类。但它们能够在缺氧环境下利用亚硝酸盐 (NO_2^-) 氧化铵离子 (NH_4^+) 生成氮气来获得能量, 因此称作厌氧氨氧化菌 (anaerobic ammonium oxidation, Anammox), 对全球氮循环具有重要意义, 也是污水处理中重要的细菌。

5 a 炭样的细菌群落中拟杆菌门 (Bacteroidetes) 所占比例为 2.0%, 1.5 a 炭样所占比例为 10.8%。Bacteroidetes 包括三大类细菌, 即拟杆菌纲、黄杆菌纲、鞘脂杆菌纲。很多拟杆菌纲的种类生活在人或

者动物的肠道中,有些为病原菌,其中脆弱拟杆菌和产黑色素拟杆菌是引起阑尾炎和败血症的常见菌^[14].

5 a 炭样的细菌群落中酸杆菌纲(Acidobacteria)所占比例为4.1%,1.5 a 炭龄炭样所占比例为9.0%,酸杆菌纲细菌多为厌氧菌.

文库中还包 括芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、放线菌门(Actinobacteria)及未分类细菌,但所占比例均较小.

在2个炭样中共发现了2种潜在致病菌,分别为阿菲波菌属(*Afipia*)细菌和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)细菌,因此对饮用水的生物安全性带来一定的风险,这就对后续的消毒工艺提出了更高的要求,必须采用高效的消毒手段才能确保饮用水的安全.

4 结论

(1)对细菌16S rDNA克隆文库分析结果表明,活性炭表层生物膜中细菌种群多样性十分丰富,2种生物膜中的微生物种群较为相似,但所占比例有所差异.变形菌门细菌在整个克隆文库中占了很大的比例,优势种群为 α -Proteobacteria和 β -Proteobacteria纲,它们是各生态环境中的常见细菌类群.

(2)炭龄长的活性炭表面参与硫酸还原反应的厌氧菌所占比例较高,而硝化螺旋菌门这类好氧菌所占比例较低,炭龄短的活性炭上的情况正好相反.

(3)由于成熟的生物膜表面与原水接触,较容易地吸取养料和溶解氧,形成由好氧和兼氧微生物组成的好氧层;而生物膜内,由于缺氧形成厌氧和兼性微生物组成的厌氧层.随着使用年限的延长,活性炭表面逐渐形成了一层生物膜,炭龄长的活性炭上生长有较多的厌氧菌和较少的好氧菌说明炭龄长的活性炭较炭龄短的活性炭表面生长有更为成熟的生物膜.

(4)在2个炭样中共发现了2种潜在致病菌,分别为阿菲波菌属(*Afipia*)细菌和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)细菌,因此对饮用水的生物安全性带来一定的风险,这就对后续的消毒工艺提出了

更高的要求,必须采用高效的消毒手段才能确保饮用水的安全.

参考文献:

- [1] 王振宇,张昱,刘新春,等. O_3 -BAC工艺的微生物群落结构解析[J]. 中国给水排水, 2006, **22**(1):1-4.
- [2] 王海燕,周岳溪,戴欣,等. 16Sr DNA克隆文库方法分析MDAT-IAT同步脱氮除磷系统细菌多样性研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(6):903-911.
- [3] Nercessian O, Fouquet Y, Pierre C, *et al.* Diversity of bacteria and archaea associated with a carbonate-rich metalliferous sediment sample from the rainbow vent field on the Mid-Atlantic Ridge [J]. Environmental Microbiology, 2005, **7**(5): 698-714.
- [4] 钦颖英,李道棠,杨虹. 给水生物预处理反应器的细菌种群多样性和群落结构[J]. 应用与环境生物学报, 2007, **13**(1):104-107.
- [5] Chen C L, Liu W T, Chong M L. Community structure of microbial biofilms associated with membrane-based water purification processes as revealed using a polyphasic approach [J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2004, **63**(4):466-473.
- [6] 鲁巍,王云,张晓健. BAR反应器中生物膜的分离及定量[J]. 中国给水排水, 2005, **21**(2):91-94.
- [7] Kellner R L. Molecular identification of an endosymbiotic bacterium associated with pederin biosynthesis in *Paederus sabaeus* (Coleptera:Staphylinidae) [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, **32**(4):389-395.
- [8] 温沁雪,施汉昌,陈志强. 高氨氮废水处理系统中功能微生物的检测[J]. 应用与环境生物学报, 2007, **13**(4):541-545.
- [9] Chang S C, Wang J T, Vandamme P, *et al.* *Chitinimonas taiwanensis* gen. nov., sp. nov., a novel chitinolytic bacterium isolated from a freshwater pond for shrimp culture [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2004, **27**(1):43-49.
- [10] Butler M K, Wang J, Webb R I, *et al.* Molecular and ultrastructural confirmation of classification of ATCC 35122 as a strain of *Pirellula staley* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, **52**(5): 1663-1667.
- [11] 张逸飞,顾挺,王国祥,等. 一株苯胺降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. 环境污染与防治, 2008, **30**(2):12-15.
- [12] 陶天申,杨瑞馥,东秀珠. 原核生物系统学[M]. 北京:化学工业出版社, 2007. 100-120.
- [13] Wagner M, Loy A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, **13**(3):218-227.
- [14] 张锡辉,王爽,王治军. 水源受污染程度与微生物安全性调查研究[J]. 中国给水排水, 2007, **23**(17):41-45.