

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第2期

Vol.33 No.2

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

基于人体健康风险的水污染事件污染物安全阈值研究	郑丙辉, 罗锦洪, 付青, 秦延文, 胡林林 (337)
基于人体健康风险的水污染事件遗传性致癌物安全浓度研究	罗锦洪, 郑丙辉, 付青, 黄民生 (342)
湿地水环境健康评价方法及案例分析	李玉凤, 刘红玉, 郝敬峰, 郑因, 曹晓 (346)
北运河下游典型河网区水体中氮磷分布与富营养化评价	单保庆, 菅宇翔, 唐文忠, 张洪 (352)
漳卫南运河流域水质时空变化特征及其污染源识别	徐华山, 徐宗学, 唐芳芳, 于伟东, 程燕平 (359)
黄河三角洲浅层地下水化学特征及形成作用	安乐生, 赵全升, 叶思源, 刘贯群, 丁喜桂 (370)
沉积物扰动持续时间对悬浮物中磷形态数量分布的影响	李大鹏, 黄勇, 李勇, 潘杨 (379)
沉水植物生长期对沉积物和上覆水之间磷迁移的影响	王立志, 王国祥, 俞振飞, 周贝贝, 陈秋敏, 李振国 (385)
长寿湖表层沉积物氮磷和有机质污染特征及评价	卢少勇, 许梦爽, 金相灿, 黄国忠, 胡文 (393)
洪泽湖沉积物中营养盐和重金属的垂向分布特征研究	张文斌, 余辉 (399)
降雨对农家堆肥氮磷流失的影响及其面源污染风险分析	彭莉, 王莉玮, 杨志敏, 陈玉成, 乔俊婧, 赵中金 (407)
浅水湖泊水动力过程对藻型湖区水体生物光学特性的影响	刘笑菡, 冯龙庆, 张运林, 赵林林, 朱梦圆, 时志强, 殷燕, 丁艳青 (412)
基于半分析模型的太湖春季水体漫衰减系数 K_d (490) 估算及其遥感反演	刘忠华, 李云梅, 李瑞云, 吕恒, 檀静, 郭宇龙 (421)
基于 QAA 算法的巢湖悬浮物浓度反演研究	张红, 黄家柱, 李云梅, 徐伟凡, 刘忠华, 徐昕 (429)
好氧/厌氧潜流湿地结构工艺优化	李锋民, 单时, 李媛媛, 李扬, 王震宇 (436)
邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻活性氧自由基的影响	别聪聪, 李锋民, 李媛媛, 王震宇 (442)
Rac-及 S-异丙甲草胺对 2 种微藻毒性特征影响研究	蔡卫丹, 刘惠君, 方治国 (448)
羟基自由基致死船舶压载水海洋有害生物研究	白敏冬, 张拿慧, 张芝涛, 陈操, 孟祥盈 (454)
天然菱铁矿改性及强化除砷研究	赵凯, 郭华明, 李媛, 任燕 (459)
零价铁降解 4-氯硝基苯动力学研究	廖娣劫, 杨琦, 李俊鎔 (469)
水体中氧氟沙星的光化学降解研究	邵萌, 杨桂朋, 张洪海 (476)
阿替洛尔在硝酸根溶液中的光降解研究	季跃飞, 曾超, 孟翠, 杨曦, 高士祥 (481)
吡啶在紫外光辐射下的生物降解	方苗苗, 阎宁, 张永明 (488)
蜜环菌漆酶对蒽醌类染料的脱色条件优化	朱显峰, 秦仁炳, 余晨晨, 范书军 (495)
ϵ -聚赖氨酸生产废菌体对六价铬吸附影响的研究	曹玉娟, 张杨, 夏军, 徐虹, 冯小海 (499)
丝状菌污泥致密过程的强化条件研究	李志华, 孙玮, 姬晓琴, 王晓昌 (505)
亚硝化颗粒污泥对温度变化的响应特性研究	罗远玲, 杨朝晖, 徐峥勇, 周玲君, 黄兢, 肖勇, 曾光明, 汪理科 (511)
我国典型工程机械燃油消耗量及排放清单研究	李东玲, 吴烨, 周昱, 杜让, 傅立新 (518)
北京市 PM_{10} 自动监测网络优化研究	齐玲, 赵越, 谢绍东 (525)
道路绿化带对街道峡谷内污染物扩散的影响研究	徐伟嘉, 幸鸿, 余志 (532)
Fe^{II} (EDTA) 络合协同 RDB 去除 NO 废气效能及过程分析	陈浚, 杨宣, 於建明, 蒋轶锋, 陈建孟 (539)
UV-B 辐射对亚热带森林凋落叶氮、磷元素释放的影响	宋新章, 张慧玲, 江洪, 余树全 (545)
干热河谷林地燥红土固碳特征及“新固定”碳表观稳定性	唐国勇, 李昆, 孙永玉, 张春华 (551)
九龙江河口表层水体及沉积物中甲烷的分布和环境控制因素研究	郭莹莹, 陈坚, 尹希杰, 孙治雷, 邵长伟 (558)
秋季黄河口滨岸潮滩湿地系统 CH_4 通量特征及影响因素研究	姜欢欢, 孙志高, 王玲玲, 牟晓杰, 孙万龙, 宋红丽, 孙文广 (565)
我国典型非木浆造纸二噁英排放研究	王志芳, 丁琼, 王开祥, 吴昌敏, 曲云欢, 赵晓冬 (574)
典型电器工业区河涌沉积物中的多溴联苯醚空间和垂直分布	邱孟德, 邓代永, 余乐洵, 孙国萍, 麦碧娴, 许玫英 (580)
电子废物拆解区农业土壤中多氯联苯的污染特征	王学彤, 李元成, 张媛, 缪绎, 孙阳昭, 吴明红, 盛国英, 傅家谟 (587)
北京科教园区绿地土壤中多环芳烃的残留特征与潜在风险	彭驰, 王美娥, 欧阳志云, 焦文涛, 陈卫平 (592)
上海城市样带土壤重金属空间变异特征及污染评价	柳云龙, 章立佳, 韩晓非, 庄腾飞, 施振香, 卢小遮 (599)
海河流域北部地区河流沉积物重金属的生态风险评价	尚林源, 孙然好, 王赵明, 汲玉河, 陈利顶 (606)
三峡库区消落带不同水位高程土壤重金属含量及污染评价	王业春, 雷波, 杨三明, 张晟 (612)
超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中细菌群落结构分析	叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝健, 蔡明山, 许燕滨, 占星星 (618)
大庆聚驱后油藏内源微生物群落结构解析与分布特征研究	赵玲侠, 高配科, 曹美娜, 高梦黎, 李国强, 朱旭东, 马挺 (625)
不同碳源刺激对老化污染土壤中 PAHs 降解研究	尹春芹, 蒋新, 王芳, 王聪颖 (633)
应用电致化学发光分子探针技术对微小原甲藻的检测	朱霞, 甄毓, 米铁柱, 于志刚, 池振明, 路兴岚 (640)
软骨藻酸直接竞争 ELISA 方法的建立及优化	王茜, 程金平, 高利利, 董宇, 席磊 (647)
固相萃取-高效液相色谱法同时测定水体中的 10 种磺胺类抗生素	洪蕾洁, 石璐, 张亚雷, 周雪飞, 朱洪光, 林双双 (652)
五氯酚对 HeLa 细胞毒性及 DNA 损伤的研究	金帮明, 王辅明, 熊力, 张晓峰, 刘堰 (658)
建筑陶瓷碳计量与优化模型研究	彭军霞, 赵宇波, 焦丽华, 曾路, 郑为民 (665)
《环境科学》征订启事 (447)	
《环境科学》征稿简则 (475)	
信息 (524, 586, 605, 624)	

超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中细菌群落结构分析

叶运弟¹, 孙水裕^{1*}, 郑莉¹, 刘宝健², 蔡明山², 许燕滨¹, 占星星¹

(1. 广东工业大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 2. 广州市沥滘污水处理厂, 广州 510290)

摘要: 应用基于16S rDNA的PCR-DGGE对超声波-好氧/缺氧污泥消化过程中微生物种群的多样性进行研究. 通过SDS细胞裂解法提取不同时期污泥中的基因组DNA, 采用通用引物进行V3区域PCR扩增, 长约190 bp的PCR产物经DGGE分离后, 获得污泥微生物群落的DNA特征指纹图谱, 对条带进行切胶测序, 使用序列数据进行同源性分析并建立系统发育树. DGGE图谱表明, 在反应器运行的不同时期, 微生物群落结构发生动态演替. 5、10、15、20、25 d微生物相似性与0 d相比分别为61.2%、48.2%、46.4%、42.6%、41.7%, 总细菌Shannon指数经历了一个从逐渐减少到趋于稳定的过程, 这表明超声波改变污泥内部性质, 导致微生物多样性的降低. UPGMA聚类分析将DGGE图谱区分为三大族群并对应于不同运行时期. 测序结果表明, 超声波-好氧/缺氧污泥消化中微生物群落主要为 *Firmicute*、*GenusCitrobacter*、*Bacilli*、 α -Proteobacteria、 β -Proteobacteria.

关键词: 超声波预处理; 好氧/缺氧; 微生物多样性; PCR-DGGE; 克隆测序

中图分类号: X703.1; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)02-0618-07

Analysis of Community Structure on Sludge Aerobic/anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment

YE Yun-di¹, SUN Shui-yu¹, ZHENG Li¹, LIU Bao-jian², CAI Ming-shan², XU Yan-bin¹, ZHAN Xing-xing¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China 2. Guangzhou Lijiao Sewage Treatment Plant, Guangzhou 510290, China)

Abstract: The microbial community structure of sludge aerobic/anoxic digestion after ultrasonic pretreatment was studied by PCR amplification and DGGE based on 16S rDNA. The genomic DNA of sludge at different stages was extracted with SDS cell lysate method. After purification of DNA, the 16S rDNA genes (V3 region) were amplified by using the universal primers (F357GC and R518). The results of agarose gel (1.5%) electrophoresis showed that the PCR products were about 190 bp in length. The amplified DNA fragments were separated by paralleled DGGE with the denaturant (urea and acrylamide) from 30% to 60%. The sequences were used for homology analysis and phylogenetic trees were constructed. The DGGE profiles showed that the change of microbial diversity was in correspondence to different periods. Compared with 0 d, the diversities of microorganisms were 61.2%, 48.2%, 46.4%, 42.6% and 41.7%, respectively after 5 d, 10 d, 15 d, 20 d, 25 d. Shannon density index of bacteria experienced a process from a gradual reduction to stable state. This suggested that ultrasonic pretreatment had a significant impact on bacterial community structures. Cluster analysis of DGGE by UPGMA (unweighted air group method, arithmetic mean) divided all lanes into three clusters, which corresponded to different periods during the whole experiment. The sequences indicated that *Firmicute*, *GenusCitrobacter*, *Bacilli*, α -Proteobacteria, β -Proteobacteria were the predominant microbial populations in the process of sludge aerobic/anoxic digestion after ultrasonic pretreatment.

Key words: ultrasonic pretreatment; aerobic/anoxic; microbial diversity; PCR-DGGE; cloning and sequencing

好氧/缺氧污泥消化工艺是污泥减量化生物处理方法之一, 但是其污泥停留时间一般为20 d, 引入超声波预处理可提高污泥的生物活性和可降解性能, 缩短污泥消化时间^[1,2]. 目前关于超声波-好氧/缺氧污泥消化工艺中污泥的生物群落结构、生理状态等方面的研究甚少. 传统的培养方法鉴定出的微生物只占环境微生物总数的0.1%~10%, 很难真实准确地反映出活性污泥中微生物种群结构, 不适用于分析环境或生态工程样品^[3]. 聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)作为一种指纹分析

技术, 具有可重复、快速和操作简便等特点^[4], 近年来在国内外广泛应用于分子生物学研究^[5~10], 通过PCR-DGGE技术可以分析污泥中微生物群落结构及多样性, 揭示其演替规律及优势菌群^[11,12].

本研究以超声波-好氧/缺氧污泥消化工艺中的活性污泥为对象, 利用PCR-DGGE技术对不同运行

收稿日期: 2011-04-14; 修订日期: 2011-06-24

基金项目: 广东省教育部产学研合作专项(2008B0905200253)

作者简介: 叶运弟(1987~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为污泥减量化的机制, E-mail: 513870370@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: sysun@gdut.edu.cn

阶段超声波预处理后活性污泥中的微生物群落结构进行研究,并对污泥中微生物的多样性结构进行相似性比较和聚类分析,对系统内的主要优势种群进行克隆测序并将结果在 GenBank 中进行比对,旨在探讨超声波对好氧/缺氧污泥消化系统的微生物群落结构的影响,为优化工艺条件,提高处理效率和缩短污泥消化时间提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 实验装置及取样条件

污泥取自广州市某污水处理厂二沉池集泥井中污泥,消化罐采用好氧/缺氧消化工艺,消化罐通过控制空压机的启闭产生好氧和缺氧期(图 1). 好氧和缺氧期各 12 h,交替运行. 每天进泥和排泥各一次,污泥在进入消化罐前进行超声处理,进泥量为 2.5 L,消化罐容积为 30 L,污泥的停留时间为 12 d. 经过前期的实验确定超声波预处理的参数为 28

kHz、0.15 W·mL⁻¹、超声时间 10 min 时,消化污泥的生物消化效率最高^[13].

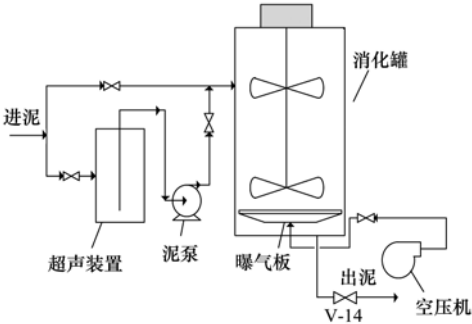


图 1 实验装置设置示意
Fig.1 Experimental facility setting

系统运行 0、5、10、15、20 和 25 d 时分别在消化罐中取样,具体取样条件可见表 1. 样品在 6 ~ 10℃、9 650 r·min⁻¹下离心 30 min,沉淀部分加入 40 mL 灭菌的 PBS 缓冲液 (pH = 7) 振荡混匀,离心

表 1 取样时间和工艺条件

Table 1 Characteristics of aerobic/anoxic digestion of municipal sewage sludge at different sampling times							
取样时间/d	取样编号	运行条件			处理效果		
		好氧期 DO /mg·L ⁻¹	缺氧期 DO /mg·L ⁻¹	pH	MLSS /mg·L ⁻¹	MLVSS /mg·L ⁻¹	氨氮 /mg·L ⁻¹
0	G1	5.60	0.40	6.70	10.20	5.43	4.15
5	G2	5.40	0.30	6.82	9.10	4.41	5.53
10	G3	5.50	0.50	6.58	7.31	3.40	5.31
15	G4	5.60	0.40	6.96	6.75	2.98	3.49
20	G5	5.30	0.50	6.94	6.65	2.84	3.54
25	G6	5.40	0.40	6.89	6.29	2.79	4.43

10 min,重复上述操作一次,取 0.5 g 活性污泥进行 DNA 提取.

1.2 总 DNA 提取

参考 Zhou 等^[14]提出的方法并加以改进,采用 SDS 细胞裂解法直接从预处理后的活性污泥样品中提取基因组 DNA. 在 0.5 g 活性污泥中加入 300 μL 裂解处理液 (100 mmol·L⁻¹ Tris, 100 mmol·L⁻¹ EDTA, 200 mmol·L⁻¹ NaCl, 1% PVP, 2% CTAB, pH = 8.0) 和 20 μL 蛋白酶 K,涡旋振荡混匀后放于 37℃ 水浴锅中保温 30 min; 加 80 μL 的 10% SDS,65℃ 水浴 1 h; 9 650 r·min⁻¹下离心 10 min; 将上清移至干净的灭菌离心管中. 用等体积的酚/氯仿溶液 (体积比为 1:1) 和等体积的氯仿/异戊醇混合液 (体积比为 24:1) 进行提取,取上层水相,用 40 μL 的 3 mol·L⁻¹ 乙酸铵和 1 mL 无水乙醇沉淀 DNA, -20℃ 放置 30 min,6 ~ 10℃、9 650 r·min⁻¹下离心 20 min. 用 70% 乙醇洗涤沉淀,加入 50 μL TE 缓冲液溶解

沉淀,提取的总 DNA 用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测.

1.3 PCR 扩增

采用 Bio-Rad PTC-100 基因扩增仪,将基因组 DNA 作为模板进行 PCR 扩增. 扩增方法参照文献 [15]. 采用对大多数细菌和古细菌 16S rDNA 基因的 V3 区具有特异性的引物对^[16] F357-GC (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAC TCC TAC GGG AGG CAG CAG-3') 和 R518 (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3'), 在引物 F357 的 5'端添加“GC 夹”以提高扩增片断的分离效果,应用“GC 夹板”技术,理论上可使检出率提高到 100%^[17].

50 μL 反应体系组成: 无菌 ddH₂O 39 μL, 10 × PCR buffer 5 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTP 溶液 1 μL, 20 mmol·L⁻¹ 引物 F357-GC、R518 各 1 μL, 2.5 U Taq 酶 1 μL, 样品 DNA 2 μL.

PCR 扩增的程序:95℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 1 min,55℃ 下退火 1 min,72℃ 下延伸 90 s,35 个循环,用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 DGGE 凝胶电泳

采用 Bio-Rad170-9081Dcode System for DGGE 对 PCR 扩增产物进行分离. 丙烯酰胺凝胶的变性范围从 30% ~60% (100% 的变性剂为 7 mol·L⁻¹ 的尿素和 40% 丙烯酰胺的混合物). 待胶板凝固后,加入 25 μL PCR 产物,然后在 1 × TAE 电泳缓冲液中电泳 5 h (60℃、150 V). 电泳结束后,将凝胶进行银染,将图像在观测仪中拍照存档。

1.5 切胶和测序

用灭菌刀片切取胶上主要的条带并置于 1.5 mL 的离心管中,加入 50 μL 灭菌的去离子水,于沸水中水浴 10 min,将离心管于 4℃ 下静置过夜,使 DNA 片断从胶中慢慢扩散出来,以此为模板,采用不带有 GC 发夹结构的 F357 和 R518 引物进行 PCR 扩增,扩增程序同 1.3 节. PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测并纯化,将纯化后的 DNA 片断连接至 pMD18-T Vector (TaKaRa, Japan),转化到大肠杆菌 DH5α 感受态细胞中,在含有 X-gal、IPTG 和氨苄青霉素 (Amp) 的 LB 平板上进行蓝白筛选. 挑选白斑在 LB 液体培养基 (加入 Amp 至终浓度为 50 mmol·L⁻¹) 中培养 10 h,菌液送到鼎国 (广州) 生物有限公司测序。

1.6 样品的生物多样性分析

应用凝胶分析系统 Quantity One 4.3.0 对扫描所得的 DGGE 图谱进行分析,利用 Shannon 指数 (H) 来评价样品的生物多样性。 H 值超高,微生物种群越丰富. 因此, H 可反映种群内及种群之间的遗传多样性分布和差异,公式为:

$$H = - \sum P_i \log P_i$$

式中, P_i 为 i 个条带的强度与同泳道中所有条带总强度的比值. 应用 DNAMAN 软件对测得的序列进行编辑,去掉载体序列后在 GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库中获取相近的典型菌株的 16S rDNA 序列. 在 GenBank 中选取相关的特征序列,与本文中的测序结果一起用 Clustal X1.81 按照最大同源性的原则进行多序列比对,比对结果导入 MEGA 4.1 软件包构建系统发育树。

2 结果与讨论

2.1 污泥样品总 DNA 提取和 PCR 扩增结果

6 个样品的 DNA 均已提取出,结果如图 2 所示。

通过与 DNA marker 进行比较,可知 DNA 片断大小约为 23 kb,DNA 片断完整,表明文中的提取方法可以顺利提取样品中的总 DNA 片断. 适合进行下一步的 16S rDNA 的 PCR 扩增. 图 3 显示 6 个样品已扩出,且亮度和纯度都比较好,扩增出的 DNA 大小为 190 bp 左右,证实为 16S rDNA V3 区特异性片断。

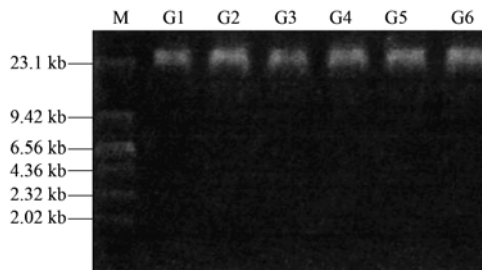


图 2 基因组 DNA 凝胶电泳图像

Fig. 2 Agarose gel (1.5%) electrophoresis of genomic DNA

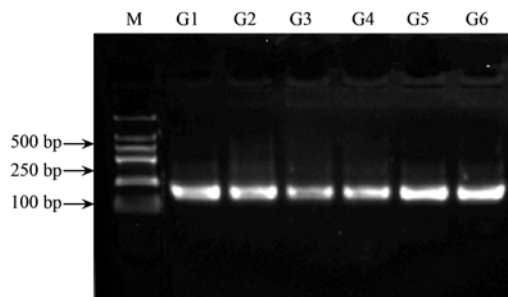


图 3 PCR 产物

Fig. 3 PCR products

2.2 总细菌群落多样性分析

由 4(a) DGGE 电泳图分析可知:种群的丰富度比较高,活性污泥样品中微生物多样性相当丰富. 在系统运行期间部分条带 (Band 2、3、4、6、7、8、9、10、11、12) 始终存在,说明这些细菌对环境的改变具有较强的适应能力,属于优势菌群. Band1、5 在超声 0 d 时不存在,Band5 的菌种适应超声环境而生存,而且数量维持稳定,逐渐成为优势菌群. Band1 菌种开始能适应超声环境,随着时间的推移数量上有明显递减趋势,在第 15 d 后这个菌种消失或低于检测限. 由于 DGGE 技术的局限性,当某一种群的 DNA 在总 DNA 中含量少于 1.5% 时,便无法用该技术检测到^[17],因此,这些种群并不能在 DGGE 图谱中显示出来. DGGE 可以很好地鉴别复杂的 16S rDNA 样品,通常条带的多少可以反映出群落的多样性,条带信号强弱可以反映相对数量. 在反应器运行过程中,不同时期的样品经过 DGGE 分离

后呈现不同的指纹图谱,图谱中即存在共同条带也存在特征条带,说明活性污泥中微生物群落结构和种群数量的不同.在演替过程中,既有原始种群的消亡,也有新种群的出现,优势种群的功能地位处于动态变化中.

图4(b)是以原始污泥样品 G1 为标准时各泳道的比较图与其相似性的顺序分布.由图4(b)可知:

G2 的相似性在 60% 以上,说明反应器开始运行 5 d 微生物群落结构变化不大. G3 和 G4 的相似性分别为 48.2%、46.4%,与 G1 相比,降低趋势明显,反应器运行 6~15 d 时,由于部分微生物不适应超声环境而被淘汰,随着的时间的推移, G5 和 G6 的微生物多样性在 42% 范围波动在这个过程中,系统内微生物逐渐适应环境,反应器进入稳定阶段.

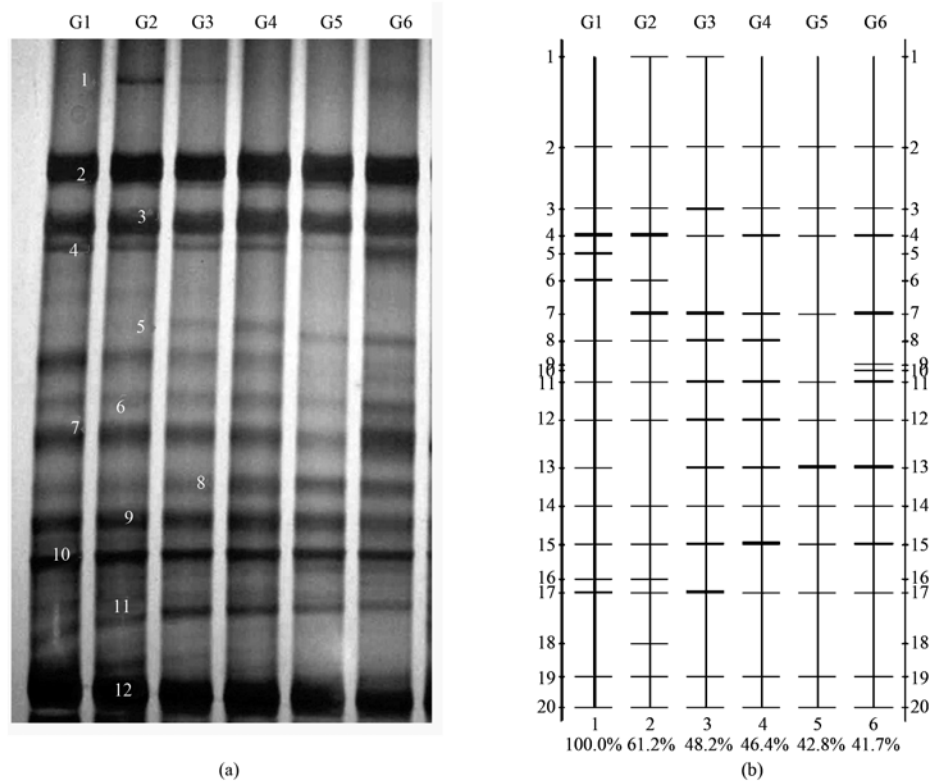


图4 污泥样品中总细菌 DGGE 图谱
Fig.4 DGGE profiles of bacteria in sludge sample

评价群落内生物多样性最常用的指数是 Shannon 指数,它是研究群落物种的丰富度和分布均匀程度的综合指标. Shannon 指数越高表示微生物群落多样性越高.从图5可知:超声波-好氧/缺氧污泥消化中总细菌 Shannon 指数经历了一个从逐渐减少到趋于稳定的过程.运行阶段 I (0~5 d),微生物多样性剧烈减少,因为超声波改变活性污泥内部环境,对环境比较敏感的微生物数量和活性都降低.从而导致多样性指数下降至 2.51.运行阶段 II (10~15 d),微生物多样性变化不明显,多样性指数在 2.46~2.48 之间,这是微生物适应环境的一个过程,属于缓冲期.运行阶段 III (20~25 d),微生物适应环境,缓慢增长,多样性指数上升至 2.51,属于稳定期.

通过非加权算术平均法 UPGMA (The

unweighted pair group method with arithmetic average) 算法实现聚类分析,如图6所示, V3 区的 DGGE 图谱可分为三大族群: G1 和 G2 为第一类族群; G3 和 G4 为第二类族群; G5 和 G6 为第三类族群,以上述 DGGE 样品多样性分析相吻合.这也说明了污泥内种群结构变化随着工艺的运行在不同时间会呈现一定的演替,而且缓冲期和稳定期菌群表现出更接近的同源性.

2.3 测序结果与系统进化树

通过系统发育树分析(图7), 16S rDNA V3 区 DGGE 图谱的优势种群主要分为 5 个群(groups): *Firmicute*(2 个序列), *Genuscitrobacter* (1 个序列), *Bacilli* (5 个序列), α -*Proteobacteria* (1 个序列), β -*Proteobacteria*(3 个序列). 超声波作用释放出的胞内物质,可作为自产底物供微生物生长,提高其对有机

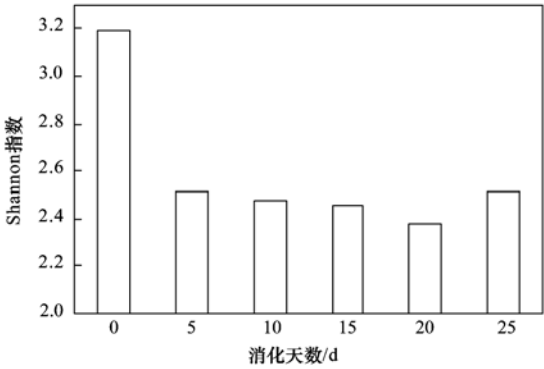


图 5 总菌的微生物群落 Shannon 指数随时间的变化
Fig. 5 Changes of Shannon density index of bacteria

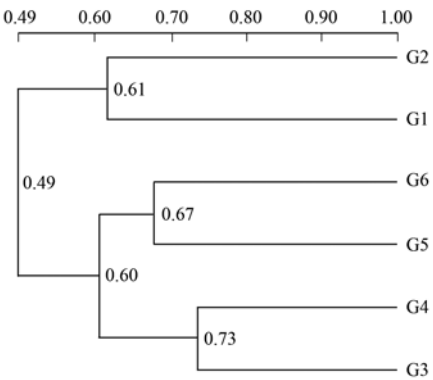


图 6 总细菌 DGGE 图谱 UPGMA 聚类分析
Fig. 6 Cluster analysis of bacterial DGGE by UPGMA

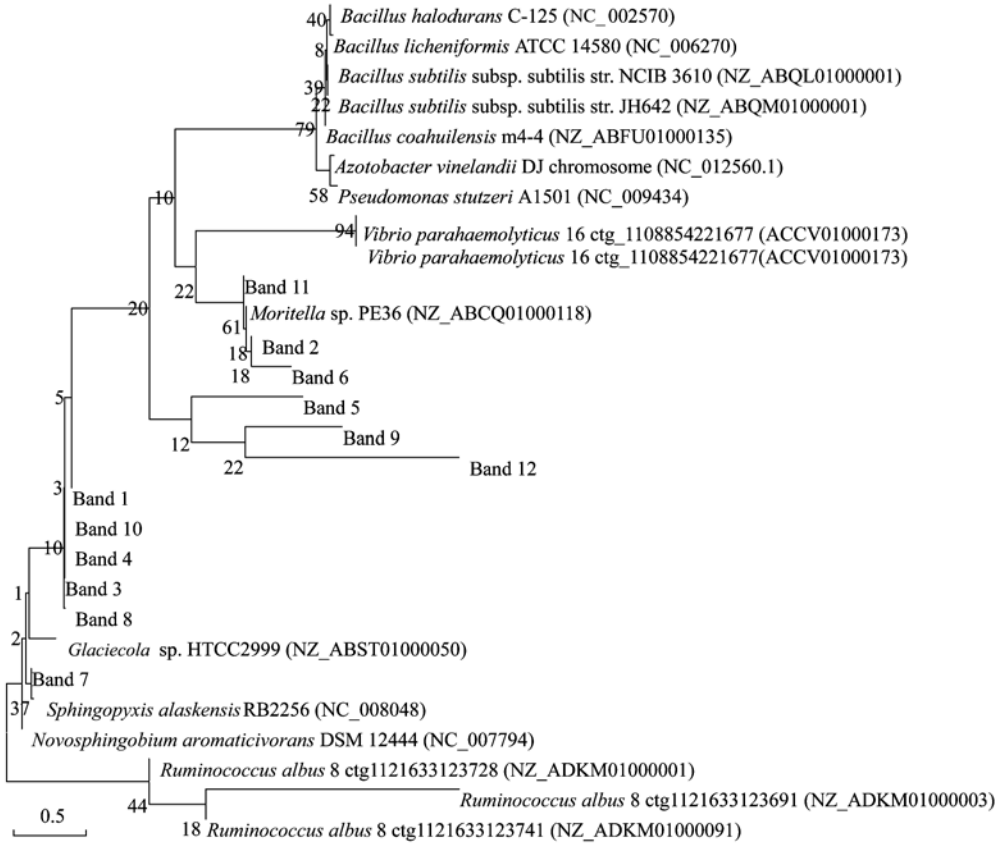


图 7 DGGE 图谱的系统发育树
Fig. 7 Phylogenetic tree based on DGGE profiles

物的分解吸收能力,加快有机质进入细胞和代谢产物排出细胞的进程,促进污泥消化^[18]. 可适应环境的 *Ruminococcus albus* (Band 5) 相对数量增加; 无法适应环境的 *Bacillus coahuilensis* (Band 1) 在竞争中被淘汰. Band 3、4、8 其最大相似菌分别为 *Bacillus halodurans* (99%)、*Bacillus licheniformis* (98%)、*Bacillus subtilis* (97%), 属于污泥消化系统中的优势种群(表 2). *Bacilli* 具有丰富的蛋白酶、脂肪酶、淀

粉酶、纤维素酶、脱氢酶等,它既能分解复杂有机物,又能脱氮除磷,而且还具有反硝化的能力,在活性污泥消化过程中起着重要作用^[19]. Band 9 的最大相似菌为 *Citrobacter freundii* (100%), 该条带所代表的细菌可能在超声波-好氧/缺氧污泥消化系统中起到将还原硝酸盐的作用. Band 2、11 最大相似菌为 *Vibrio parahaemolyticus* (93%), 属于 β -Proteobacteria. 污泥中存在大量的变形菌,包括 β 变形菌和 δ 变形菌,在

其他研究^[20]中也出现过类似结果,这些菌群对污染物去除起主要作用. Band 6 与 *Vibrio parahaemolyticus* 的同源性较差,只有 84%,不能确定其是否属于 β -Proteobacteria. 已有研究表明, β -变形杆菌是活性污泥中丰度最大的类群,其次有 α 、 γ -变形杆菌、黄杆菌 (*Cytophaga-Flavobacterium-*

Bacteroidetes, CF) 和硬壁门菌属 (*Firmicute*)、放线菌 (*Actinobacteria*)、硝化螺旋菌 (*Nitrospira*) 等^[21]. 通过上述研究分析,超声波促进污泥消化过程中形成 *Firmicute*、*GenusCitrobacter*、*Bacilli*、 α -Proteobacteria、 β -Proteobacteria 五大功能微生物种群,具体哪类种群在污泥消化中起关键作用还有待进一步研究.

表 2 DGGE 图谱优势条带最大相似性序列
Table 2 Similarity sequence of predominant DGGE band

条带	长度/bp	最相似菌	分类	Genbank 登录号	同源性/%
1	195	<i>Bacillus coahuilensis</i> m4-4	Bacilli	NZ_ABFU01000133	98
2	193	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 16 ctg_1108854221677	β -Proteobacteria	ACCV01000173	95
3	196	<i>Bacillus halodurans</i> C-125	Bacilli	NC_002570	99
4	191	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580	Bacilli	NC_006270	98
5	195	<i>Ruminococcus albus</i> 8 ctg1121633123741	Firmicute	NZ_ADKM01000091	98
6	191	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 16 ctg_1108854221677	β -Proteobacteria	ACCV01000173	84
7	172	<i>Sphingopyxis alaskensis</i> RB2256	α -Proteobacteria	NC_008048	98
8	195	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. SMY	Bacilli	NZ_ABQN01000001	97
9	191	<i>Citrobacter freundii</i> str. ballerup 7851/39	GenusCitrobacter	CACD01000121	100
10	189	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. JH642	Bacilli	NZ_ABQM01000001	97
11	190	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> AQ3810gcontig_1104296545856	β -Proteobacteria	NZ_AAWQ01000771	93
12	189	<i>Ruminococcus albus</i> 8 ctg1121633123728	Firmicute	NZ_ADKM01000001	100

3 结论

(1)在超声-好氧/缺氧污泥消化期间,既存在始终保持稳定的优势菌种,也有对新环境不适应而逐渐被淘汰的菌种或者在新环境驯化下逐渐演替为优势地位的菌种. 这说明,经超声处理的污泥内部微生物种群结构有较大的改变.

(2)在反应器内,污泥中的微生物多样性状况和细菌群落的演变和更替明显,通过超声处理改变系统环境后,一开始微生物的多样性有明显降低,随着时间的推移而逐渐趋于稳定. 聚类分析结果可把 6 个样品分为三大族群,不同族群的相似性差别明显.

(3)对总细菌的部分优势菌种进行切胶回收克隆测序和系统发育树分析后,获得 12 条总细菌的 16S rDNA 序列,超声波-好氧/缺氧污泥消化中主要存在五大种群,分别为 *Firmicute*、*GenusCitrobacter*、*Bacilli*、 α -Proteobacteria、 β -Proteobacteria.

参考文献:

[1] Salsabil M R, Prorot A, Casellas M, *et al.* Pre-treatment of activated sludge: effect of sonication on aerobic and anaerobic digestibility [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2009, **148**(2-3): 327-335.
[2] 王晓霞,邱兆富,范吉,等. 超声波处理剩余污泥有机物、氮和磷的释放特性研究 [J]. *环境污染与防治*, 2009, **31**(3): 66-69.

[3] 张斌. 膜生物反应器中微生物种群结构多样性研究 [D]. 天津: 天津大学, 2007.
[4] Muyzer G, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1998, **73**(1): 127-141.
[5] Wang X H, Zhang K, Ren N Q, *et al.* Monitoring microbial community structure and succession of an A/O SBR during start-up period using PCR-DGGE [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, **21**(2): 223-228.
[6] Zhou S, Wei C H, Liao C D, *et al.* Comprehensive study on dynamics of microbial community in Anaerobic-Oxic-Oxic process using PCR-DGGE, gas chromatography analysis, and dehydrogenase activity assays [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, **26**(2): 273-279.
[7] Liu C, Yang J L, Wu G, *et al.* Estimation of dominant microbial population sizes in the anaerobic granular sludge of a full-scale UASB treating streptomycin wastewater by PCR-DGGE [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, **26**(2): 375-379.
[8] Song Z W, Pan Y J, Zhang K, *et al.* Effect of seed sludge on characteristics and microbial community of aerobic granular sludge [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, **22**(9): 1312-1318.
[9] 张斌,孙宝盛,季民,等. MBR 中微生物群落结构的演变与分析 [J]. *环境科学学报*, 2008, **28**(11): 2192-2199.
[10] 陈谊,孙宝盛,张斌,等. 不同 MBR 反应器中硝化菌群落结构的研究 [J]. *中国环境科学*, 2010, **30**(1): 69-75.
[11] 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.
- [12] Baek K H, Yoon B D, Kim B H, *et al.* Monitoring of microbial diversity and activity during bioremediation of crude oil-contaminated soil with different treatments [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, **17**(1): 67-73.
- [13] 童文锦, 孙水裕, 郑莉, 等. 城市污水污泥超声波预处理的研究 [J]. *环境科学与技术*, 2010, **33**(5): 133-135.
- [14] Zhou J, Brouns M A, Tiedje J M. DNA recovery from soils of diverse composition [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, **62**(2): 316-322.
- [15] Maarit Niemi R, Heiskanen I, Wallenius K, *et al.* Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia [J]. *Journal of Microbiological Method*, 2001, **45**(3): 155-165.
- [16] 孙宝盛, 张斌, 吴卿, 等. 应用 PCR-DGGE 技术解析 MBR 中微生物群落多样性 [J]. *天津大学学报*, 2008, **41**(3): 356-361.
- [17] Muyzer G, de Waal E C, Vitterlinden 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.
- [18] 王永霞, 樊建军, 莫卫松. 超声波技术在污泥处理中的应用 [J]. *重庆建筑大学学报*, 2007, **29**(3): 91-94.
- [19] Atkinson B W, Mudaly D D, Bux F. Contribution of *Pseudomonas* spp. to phosphorus uptake in the anoxic zone of an anaerobic-anoxic-aerobic continuous activated sludge system [J]. *Water Science and Technology*, 2001, **43**(1): 139-146.
- [20] Huang L N, De Wever H, Diels L. Diverse and distinct bacterial communities induced biofilm fouling in membrane bioreactors operated under different conditions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(22): 8360-8366.
- [21] Aktan S, Salih B A. Fluorescent in situ hybridization (FISH) for the detection of bacterial community in activated sludge from textile factories [J]. *Environmental Technology*, 2006, **27**(1): 63-69.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊” 和“中国精品科技期刊”称号

2011 年 12 月 2 日,中国科技论文统计结果发布会在北京举行,会议公布了“百种中国杰出学术期刊”和“中国精品科技期刊”获奖名单。《环境科学》连续 10 次荣获“百种中国杰出学术期刊”称号和再次荣获“中国精品科技期刊”称号。

“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定。该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响。

CONTENTS

Safety Value of Contaminant in Water Pollution Accident Based on Human Health Risk	ZHENG Bing-hui, LUO Jin-hong, FU Qing, <i>et al.</i> (337)
Safety Concentration of Genotoxic Carcinogens in Water Pollution Accident Based on Human Health Risk	LUO Jin-hong, ZHENG Bing-hui, FU Qing, <i>et al.</i> (342)
A Quantitative Method and Case Analysis for Assessing Water Health	LI Yu-feng, LIU Hong-yu, HAO Jing-feng, <i>et al.</i> (346)
Temporal and Spatial Variation of Nitrogen and Phosphorus and Eutrophication Assessment in Downstream River Network Areas of North Canal River Watershed ...	SHAN Bao-qing, JIAN Yu-xiang, TANG Wen-zhong, <i>et al.</i> (352)
Spatiotemporal Variation Analysis and Identification of Water Pollution Sources in the Zhangweinan River Basin	XU Hua-shan, XU Zong-xue, TANG Fang-fang, <i>et al.</i> (359)
Hydrochemical Characteristics and Formation Mechanism of Shallow Groundwater in the Yellow River Delta	AN Le-sheng, ZHAO Quan-sheng, YE Si-yuan, <i>et al.</i> (370)
Impacts of Sediment Disturbance Time on the Distribution of Phosphorus Forms in Suspended Solids	LI Da-peng, HUANG Yong, LI Yong, <i>et al.</i> (379)
Influence of Submerged Macrophytes on Phosphorus Transference Between Sediment and Overlying Water in the Growth Period	WANG Li-zhi, WANG Guo-xiang, YU Zhen-fei, <i>et al.</i> (385)
Pollution Characteristics and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Surface Sediments of Lake Changshouhu in Chongqing, China	LU Shao-yong, XU Meng-shuang, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (393)
Vertical Distribution Characteristics of Nutrients and Heavy Metals in Sediments of Lake Hongze	ZHANG Wen-bin, YU Hui (399)
Effects of Rainfall on Nitrogen and Phosphorus Loss from Courtyard Compost and Its Risk of Nonpoint Source Pollution	PENG Li, WANG Li-wei, YANG Zhi-min, <i>et al.</i> (407)
Effects of Hydrodynamic Process on Bio-optical Properties in Algal-Dominated Lake Region of Shallow Lake	LIU Xiao-han, FENG Long-qing, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (412)
Estimation and Remote Sensing Inversion of Diffuse Attenuation Coefficient $K_d(490)$ in Lake Taihu in Spring Based on Semi-analytical Model	LIU Zhong-hua, LI Yun-mei, LI Rui-yun, <i>et al.</i> (421)
Monitoring the Total Suspended Matter of Lake Chaohu Based on Quasi-Analytical Algorithm	ZHANG Hong, HUANG Jia-zhu, LI Yun-mei, <i>et al.</i> (429)
Optimization of Aerobic/Anaerobic Subsurface Flow Constructed Wetlands	LI Feng-min, SHAN Shi, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (436)
Effects of Allelochemical Dibutyl Phthalate on <i>Gymnodinium breve</i> Reactive Oxygen Species	BIE Cong-cong, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (442)
Toxicity Effects of <i>Rac</i> - and <i>S</i> -Metolachlor on Two Algae	CAI Wei-dan, LIU Hui-jun, FANG Zhi-guo (448)
Studies for Killing the Oceanic Harmful Organisms in Ship's Ballast Water Using Hydroxyl Radicals	BAI Min-dong, ZHANG Na-hui, ZHANG Zhi-tao, <i>et al.</i> (454)
Modification of Natural Siderite and Enhanced Adsorption of Arsenic	ZHAO Kai, GUO Hua-ming, LI Yuan, <i>et al.</i> (459)
Kinetic Study of 4-Chloronitrobenzene Degradation by Zero-Valent Iron	LIAO Di-jie, YANG Qi, LEE Chun-chi (469)
Photochemical Degradation of Ofloxacin in Aqueous Solution	SHAO Meng, YANG Gui-peng, ZHANG Hong-hai (476)
Photodegradation of Atenolol in Aqueous Nitrate Solution	JI Yue-fei, ZENG Chao, MENG Cui, <i>et al.</i> (481)
Biodegradation of Pyridine Under UV Irradiation	FANG Miao-miao, YAN Ning, ZHANG Yong-ming (488)
Optimization on Decoloration Conditions of Anthraquinone Dyes by Laccase from <i>Amillariella mellea</i>	ZHU Xian-feng, QIN Ren-bing, YU Chen-chen, <i>et al.</i> (495)
Biosorption of Chromium(VI) by Waste Biomass of ϵ -Poly-L-lysine Fermentation	CAO Yu-juan, ZHANG Yang, XIA Jun, <i>et al.</i> (499)
Investigation on Enhanced Conditions for the Densification of Filamentous Sludge	LI Zhi-hua, SUN Wei, JI Xiao-qin, <i>et al.</i> (505)
Effect of Temperature on the Response Characteristics of Shortcut Nitrification Granular Sludge	LUO Yuan-ling, YANG Zhao-hui, XU Zheng-yong, <i>et al.</i> (511)
Fuel Consumption and Emission Inventory of Typical Construction Equipments in China	LI Dong-ling, WU Ye, ZHOU Yu, <i>et al.</i> (518)
Optimization of PM ₁₀ Monitoring Network in Beijing	QI Ling, ZHAO Yue, XIE Shao-dong (525)
Effect of Greenbelt on Pollutant Dispersion in Street Canyon	XU Wei-jia, XING Hong, YU Zhi (532)
Investigation of Effect and Process of Nitric Oxide Removal in Rotating Drum Biofilter Coupled with Absorption by Fe ^{II} (EDTA)	CHEN Jun, YANG Xuan, YU Jian-ming, <i>et al.</i> (539)
Effect of UV-B Radiation on Release of Nitrogen and Phosphorus from Leaf Litter in Subtropical Region in China	SONG Xin-zhang, ZHANG Hui-ling, JIANG Hong, <i>et al.</i> (545)
Characteristics of Carbon Sequestration and Apparent Stability of New Sequestered Carbon in Forested Torrid Red Soil at Dry-Hot Valley	TANG Guo-yong, LI Kun, SUN Yong-yu, <i>et al.</i> (551)
Spatial Distribution of Methane in Surface Water and Sediment of Jiulongjiang Estuary and the Effect Environment factors of It	GUO Ying-ying, CHEN Jian, YIN Xi-jie, <i>et al.</i> (558)
Methane Fluxes and Controlling Factors in the Intertidal Zone of the Yellow River Estuary in Autumn	JIANG Huan-huan, SUN Zhi-gao, WANG Ling-ling, <i>et al.</i> (565)
Study on Dioxin Emission for Typical Non-Wood Pulp Making in China	WANG Zhi-fang, DING Qiong, WANG Kai-xiang, <i>et al.</i> (574)
Horizontal and Vertical Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in River Sediment from a Typical Electrical Equipment Industrial Area	QIU Meng-de, DENG Dai-yong, YU Le-huan, <i>et al.</i> (580)
Characteristics of Polychlorinated Biphenyls in Soils from an Electronic Waste Recycling Area	WANG Xue-tong, LI Yuan-cheng, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (587)
Characterization and Potential Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Green Space Soils of Educational Areas in Beijing	PENG Chi, WANG Mei-e, OUYANG Zhi-yun, <i>et al.</i> (592)
Spatial Variability and Evaluation of Soil Heavy Metal Contamination in the Urban-transect of Shanghai	LIU Yun-long, ZHANG Li-jia, HAN Xiao-fei, <i>et al.</i> (599)
Assessment of Heavy Metal Pollution in Surface Sediments of Rivers in Northern Area of Haihe River Basin, China	SHANG Lin-yuan, SUN Ran-hao, WANG Zhao-ming, <i>et al.</i> (606)
Concentrations and Pollution Assessment of Soil Heavy Metals at Different Water-level Altitudes in the Draw-down Areas of the Three Gorges Reservoir	WANG Ye-chun, LEI Bo, YANG San-ming, <i>et al.</i> (612)
Analysis of Community Structure on Sludge Aerobic/anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment	YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (618)
Research on Population Structure and Distribution Characteristic of Indigenous Microorganism in Post-polymer-Flooding Oil Reservoir	ZHAO Ling-xia, GAO Pei-ke, CAO Mei-na, <i>et al.</i> (625)
Study on Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) with Different Additional Carbon Sources in Aged Contaminated Soil	YIN Chun-qin, JIANG Xin, WANG Fang, <i>et al.</i> (633)
Detection of <i>Prorocentrum minimum</i> (Pavillard) Schiller with the Electrochemiluminescence-Molecular Probe	ZHU Xia, ZHEN Yu, MI Tie-zhu, <i>et al.</i> (640)
Development of Direct Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Domoic Acid	WANG Qian, CHENG Jin-ping, GAO Li-li, <i>et al.</i> (647)
Simultaneous Determination of 10 Sulfonamide Antibiotics in Water by Solid-phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography	HONG Lei-jie, SHI Lu, ZHANG Ya-lei, <i>et al.</i> (652)
Effects of Pentachlorophenol on DNA Damage and Cytotoxicity of HeLa Cells	JIN Bang-ming, WANG Fu-ming, XIONG Li, <i>et al.</i> (658)
Modeling of Carbon Dioxide Measurement and Optimization on Building Ceramic Industry	PENG Jun-xia, ZHAO Yu-bo, JIAO Li-hua, <i>et al.</i> (665)

《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2月15日 33卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 2 Feb. 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

国内外公开发行人