

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第5期

Vol.33 No.5

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

区域空气质量模拟中查表法的应用研究	谢旻,王体健,江飞,李树,蔡彦枫,庄炳亮(1409)
长江三角洲地区秸秆露天焚烧大气污染物排放清单及其在空气质量模式中的应用	苏继峰,朱彬,康汉青,王红磊,王体健(1418)
北京及周边城市一元脂肪酸大气颗粒物干沉降通量及来源分析研究	徐小娟,李杏茹,王跃思,刘晨书,潘月鹏,王英锋(1425)
上海大气超细颗粒物和工业纳米颗粒的表征及细胞毒性的比较研究	张睿,吕森林,尚羽,易飞,任晶晶,郝晓洁,安静,吴明红(1431)
青岛市大气 PM _{2.5} 元素组成及来源研究	李秀镇,盛立芳,徐华,屈文军(1438)
冬季天津家庭室内空气颗粒物中邻苯二甲酸酯污染研究	王夫美,陈丽,焦姣,张雷波,姬亚芹,白志鹏,张利文,孙增荣,张星梅(1446)
再悬浮装置在大气 PM _{2.5} 源谱分析中的应用	段恒轶,钱冉冉,吴水平,印红玲(1452)
黔西南煤燃烧产物微量元素分布特征及富集规律研究	魏晓飞,张国平,李玲,项萌,蔡永兵(1457)
三峡水库不同运行状态下支流澎溪河水-气界面温室气体通量特征初探	蒋滔,郭劲松,李哲,方芳,白镭,刘静(1463)
香溪河库湾夏季温室气体通量及影响因素分析	王亮,肖尚斌,刘德富,陈文重,王雨春,陈小燕,段玉杰(1471)
臭氧浓度升高与土壤湿度对农田土壤微生物呼吸温度敏感性的影响	陈书涛,张勇,胡正华,史艳妹,沈小帅(1476)
托木尔峰青冰滩 72 号冰川径流水化学特征初步研究	赵爱芳,张明军,李忠勤,王飞腾,王圣杰(1484)
五大连池水溶性有机磷矿化特性的研究	张斌,席北斗,赵越,魏自民,白雪,王曼林(1491)
7 条环太湖河流沉积物氮含量沿程分布规律	卢少勇,远野,金相灿,焦伟,吴瑶洁,任德有,周羽化,陈雷(1497)
巢湖十五里河沉积物氮磷形态分布及生物有效性	李如忠,李峰,周爱佳,童芳,钱家忠(1503)
北运河系地表水近 10 年来水质变化及影响因素分析	郭婧,荆红卫,李金香,李令军(1511)
东莞运河排涝对东江河网水质影响分析	孙磊,毛献忠,黄旻旻(1519)
北京平原区地下水污染源识别与危害性分级	陆燕,何江涛,王俊杰,刘丽雅,张小亮(1526)
地下水曝气修复过程的三维数值模拟	李恒震,胡黎明,王建,武晓峰,刘培斌(1532)
垂向水动力扰动机的蓝藻控制效应数值实验研究	邹锐,周璟,孙永健,嵇晓燕,岳佳,刘永(1540)
新型生物岛栅中污染物去除的微生物机制研究	高明瑜,谢慧君,王文兴(1550)
营养盐水平对念珠藻胞外有机物产生的影响	齐飞,刘晓媛,徐冰冰,黄岳,封莉,张立秋(1556)
水网藻种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究	傅海燕,柴天,赵坤,刘智峰,张明真,侯明,许鹏成(1564)
酞酸酯在模拟海河菹草微宇宙中的消减和分布特征	迟杰,杨青(1570)
电子束辐射对铜绿微囊藻毒素产生和释放的抑制作用研究	刘书宇,吴明红,姜钦鹏(1575)
青铜峡灌区典型排水沟水污特征解析	李强坤,胡亚伟,罗良国(1579)
四溴双酚 A 的辐射降解研究	李杰,徐殿斗,徐刚,马玲玲,吴明红(1587)
污泥基活性炭催化臭氧氧化降解水中微量布洛芬的效能研究	王红娟,齐飞,封莉,张立秋(1591)
高水力负荷对人工湿地处理精养虾塘排水效果的影响	李怀正,章星异,陈卫兵,叶剑峰(1597)
城市污水生物脱氮系统出水经氯胺消毒形成 NDMA 的影响因素研究	尚晓玲,李咏梅(1604)
利用淀粉基共混物作为反硝化固体碳源的研究	沈志强,吴为中,杨春平,陈佳利,王建龙(1609)
好氧污泥颗粒化过程中 Zeta 电位与 EPS 的变化特性	王浩宇,苏本生,黄丹,崔晓姣,竺建荣(1614)
活性污泥对病毒的生物吸附特性	周玉芬,郑祥,雷洋,陈迪(1621)
阴离子型聚丙烯酰胺在离子交换膜上的吸附规律	邓梦洁,于水利,时文歆,衣雪松(1625)
两性修饰膨润土对苯酚的吸附及热力学特征	李婷,孟昭福,张斌(1632)
表面活性剂对苯并[a]芘在黑炭表面吸附解吸的影响	张景环,陈春溶,张玮航,栗桂州(1639)
南京市 4 个污水处理厂的活性污泥中细菌的分离鉴定和抗生素耐药性分析	葛峰,郭坤,周广灿,张会娟,刘济宁,戴亦军(1646)
焦化废水中苯酚降解菌筛选及其降解性能	陈春,李文英,吴静文,李静(1652)
Xanthobacter flavus DT8 降解二噁英的特性研究	金小君,陈东之,朱润晔,陈静,陈建孟(1657)
未开发油气田地地表炔氧化菌空间定量分布	满鹏,齐鸿雁,呼庆,马安周,白志辉,庄国强(1663)
矿化垃圾中氧化甲烷兼性营养菌的筛选与生物特性研究	赵天涛,项锦欣,张丽杰,全学军,赵由才(1670)
长江中游干流及 22 条支流表层水中多氯联苯的分布特征及其潜在风险	李昆,赵高峰,周怀东,曾敏,廖柏寒,吴正勇,张盼伟,郝红(1676)
典型血吸虫病区表层水中酚类化合物的污染特征及潜在风险	吴正勇,赵高峰,周怀东,李科林,曾敏,李昆,张盼伟,郝红(1682)
闽江福州段沉积物中多环芳烃的空间分布异质性研究	陈卫锋,倪进治,杨红玉,魏然,杨玉盛(1687)
三峡库区蓄水运用期表层沉积物重金属污染及其潜在生态风险评价	王健康,高博,周怀东,陆瑾,王雨春,殷淑华,郝红,袁浩(1693)
典型电器工业区河涌沉积物中重金属的分布和潜在生态风险	邓代永,孙国萍,郭俊,张宏涛,张琴,许政英(1700)
密云水库上游金属矿区土壤中重金属形态分布及风险评价	高彦鑫,冯金国,唐磊,朱先芳,刘文清,李宏兵(1707)
湘西花垣矿区土壤重金属污染及其生物有效性	杨胜香,袁志忠,李朝阳,龙华,唐文杰(1718)
基于 GIS 的某训练场土壤重金属污染评价	刘玉通,方振东,杨琴,谢朝新,王大勇,毛华军(1725)
土壤质地和湿度对 SVE 技术修复苯污染土壤的影响	刘少卿,姜林,姚玉君,李艳霞,刘希涛,林春野(1731)
蒙脱土、高岭土和针铁矿对 DNA 吸附与解吸特征	王慎阳,饶伟,王代长,张亚楠,李腾,唐冰培,杨世杰(1736)
LNAPL 在砂质含水层中动态迁移的电阻率法监测试验研究	潘玉英,贾永刚,郭磊,李进军,单红仙(1744)
亚临界水解预处理稻草秸秆制备活性炭及表征	董宇,申哲民,雷阳明,王茜,刘婷婷(1753)
蓝藻好氧堆肥及其氮素损失控制的研究	任云,崔春红,刘奋武,占新华,周立祥(1760)
固定化微生物技术修复 PAHs 污染土壤的研究进展	钱林波,元妙新,陈宝梁(1767)
《环境科学》征订启事(1483)	《环境科学》征稿简则(1620)
信息	(1490,1496,1586,1743)

新型生物岛栅中污染物去除的微生物机制研究

高明瑜, 谢慧君*, 王文兴

(山东大学环境研究院, 济南 250100)

摘要: 生物岛栅是一种新型的原位水质净化技术. 本研究在分析植物生长初期生物岛栅系统(ZLT)对污染物去除效果的基础上, 分别利用二喹啉甲酸(BCA)蛋白法和荧光素二乙酸(FDA)酶脂活性法测定微生物量及活性, 结合 PCR-变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术研究了系统中微生物的结构特征. 结果表明, ZLT 系统对污染物的去除率均明显高于传统浮岛系统(ZL)和仅有填料的对比系统(ZT). ZLT 系统中各层填料样品的荧光素和蛋白浓度相差不大, 其最高浓度分别为 $277.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $50.8 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 但根部样品的浓度仅为 $95.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $18.1 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 相差近 3 倍. 另外 2 个系统的变化趋势与此类似. DGGE 图谱多样性指数分析表明, ZLT 中随着水深增加微生物的多样性指数从 1.66 下降到 1.23, 但这种趋势在 ZL 样品中并不明显. 在植物生长初期, 生态浮岛生物膜上的微生物有超过 80% 属于 γ -变形菌或拟杆菌门.

关键词: 生物岛栅; 生物膜载体; 微生物机制; 污染物去除; 微生物群落

中图分类号: X52 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2012)05-1550-06

Microbial Mechanism of Pollutants Removal in New Biological Island Grid

GAO Ming-yu, XIE Hui-jun, WANG Wen-xing

(Environmental Research Institute of Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: Biological island grid is a new in-situ water purification technology. Based on the analyses of water purification performance of biological island grid system (ZLT) in the initial stage of plant growth, the biomass and activity of microbe in the system are measured with bicinchoninic acid (BCA) protein method and the fluorescein diacetate (FDA) activity, respectively. The microbial characteristics are also detected by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) technique. Results showed that the removal of various pollutants in ZLT system was significantly higher than that in traditional floating-bed system (ZL) and control system (ZT), which was only filled with filler. There was little difference in the concentrations of the fluorescein and protein among different layers of filler samples in ZLT. The highest concentrations were $277.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $50.8 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively, while they were nearly three times lower in root samples, only $95.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $18.1 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. The trends of the other two systems were similar. Diversity index analysis of DGGE pattern showed that ZLT samples decreased from 1.66 to 1.23 with the increasing of water depth, but this trend was not evident in ZL samples. More than 80% of the microbe on the biofilm carrier and root belonged to Gamma-Proteobacteria and Bacteroidetes in this stage.

Key words: biological island grid; biofilm carrier; microbial mechanism; pollutants removal; microbial communities

生物岛栅是在人工浮岛基础上发展起来的一种新兴的生态水净化技术, 该技术具有造价低、运行管理相对容易等优点, 目前在我国的研发与应用日益增多^[1]. 人工浮岛模仿自然界植物生长规律, 并利用浮岛上的植物根部吸附和吸收作用将水中的各种污染成分去除^[2], 但是植物的生长率和生物量阻碍了传统浮岛的净化效果^[3,4], 且漂浮植物只能利用表层水体. 有些研究, 如李海英等^[1]和 Sun 等^[5]试图解决这些问题, 为微生物提供更多的附着面以利于其生长, 但是, 对这些附着面上微生物的深入探讨却鲜有报道.

在前期实验中, 笔者在传统人工浮岛的基础上构建了新型生物岛栅, 初步证实了生物膜载体对于污染物去除效果的必要性, 报道了生物膜载体中微生物的特征^[6], 但是并未更深入地诠释新型岛栅中生物膜及根际微生物的群落结构及活性等问题. 据

报道, 二喹啉甲酸(BCA)法可通过测定蛋白质浓度而准确、快速、经济确定样品中总生物量^[7,8]. 环境样品水解荧光素二乙酸(FDA)的活性可用来评价微生物的总体活性, Battin 等^[9]及 Iasur-Kruh 等^[10]分别将该方法应用于土壤、活性污泥、溪流沉积生物滤膜等样品测定.

因此, 本实验以 5 月植物生长初期的生物岛栅为研究对象, 以只有植物的普通浮岛和只有弹性填料的系统为对比, 在初步考察 3 种不同实验条件下系统对水质的净化效果的基础上, 利用 BCA 测蛋白法和 FDA 酶脂活性确定微生物总量及活性, 结合

收稿日期: 2011-07-14; **修订日期:** 2011-09-06

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07210-009); 山东大学自主创新基金项目(2009TS025); 国家自然科学基金项目(21007032)

作者简介: 高明瑜(1987~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染生态修复, E-mail: gaomingyu1987@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xiehuij@sdu.edu.cn

PCR-DGGE 技术分析了该阶段植物根部和生物膜载体上微生物的活性和结构特征, 深入研究了新型生物岛栅的微生物作用机制, 以期生物岛栅的实际推广应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 新型生态岛栅的设计与运行

新型生物岛栅由竹筏、弹性填料和植物组成, 其设计与运行具体见文献[6]。

1.2 实验设计

实验基地位于南四湖入湖口新薛河上游(N 34° 46.146', E117°08.992'), 中试实验在户外流通的 4 个池子中进行, 长度 10 m, 宽度 5 m, 深度 0.6 m。所有池子上方均有玻璃顶覆盖, 以促进自然光周期和避免雨水造成的影响。进水为新薛河的河水。4 个实验池具体情况如下: ZLT: 竹筏 + 芦苇 + 弹性填料; ZL: 竹筏 + 芦苇; ZT: 竹筏 + 弹性填料; 空白: 为空白水面。

1.3 水质分析

水样在上午的 10:00 ~ 11:00 从实验池取样, 所有样品均从进水口和出水口取样。样品采集后, 部分样品经 0.45 μm 滤膜过滤用于 COD 及氨氮 (AN) 分析。未过滤样品用于分析总氮 (TN) 和总磷 (TP)。考虑到物理沉积和水质自身净化的影响, 3 个实验池中污染物去除率的计算公式为:

$$\text{去除率}(\%) = (c_B - c_T) \times 100 / c_B$$

式中, c_B 为空白出水口浓度, c_T 为实验系统出水口浓度。

1.4 填料样品处理

样品分别取自填料的上 (S, 深度约 10 cm 处)、中 (Z, 深度约 30 cm 处)、下 (X, 深度约 50 cm 处) 3 层以及植物根部 (G), 8 个样品依次是 ZLT 系统的填料的上 (LTS)、中 (LTZ)、下层 (LTX)、根部 (LTG)、ZL 植物根部 (LG)、ZT 系统填料的上 (TS)、中 (TZ)、下层 (TX) 样品。

将一定量的样品用已消毒的镊子放入 50 mL 离心管中, 按比例添加适量的缓冲液 (0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠缓冲液, pH 7.8), 用漩涡振荡器振荡洗涤 5 min, 洗涤 2 次, 将悬浮液储存在 10 mL 离心管中, 4℃ 保存备用。

1.5 蛋白浓度及荧光素二乙酸 (FDA) 酯酶分析

蛋白浓度测定: 取 1 mL 悬浮液样品加入 1 mL 1 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液在 55℃ 下培养 2 h 后, 加入 1 mL 1 mol·L⁻¹ 的 HCl 溶液中和, 然后利用 BCA 法

蛋白定量试剂盒 (百泰克) 处理后, 加入 96 微孔板用酶标仪在 562 nm 处测定样品中蛋白浓度^[11]。

FDA 酯酶活性测定: 取 1 mL 悬浮液样品置于 50 mL 三角瓶中, 加入 15 mL 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠缓冲液 (pH 7.8), 及 0.2 mL 1 mg·mL⁻¹ FDA 储备液, 盖上瓶塞, 置于 30℃ 恒温振荡箱中, 200 r·min⁻¹ 培养 20 min 后, 立即加入 15 mL 氯仿/甲醇混合溶液终止反应, 盖上瓶塞充分振荡, 然后转移至 50 mL 离心管中, 2 000 r·min⁻¹ 离心 3 min。吸取 15 mL 上清液于 50 mL 比色管中, 用上述缓冲液定容后在 490 nm 处比色测定^[10]。

1.6 样品 DNA 提取及扩增电泳

取 2 mL 悬浮液在 4℃、8 500 r·min⁻¹ 下离心 8 min, 弃上清, 采用快速 DNA 提取试剂盒 (百泰克) 对沉淀中的 DNA 进行提取。16S rRNA 基因的扩增引物^[11]为: f968 (5'-CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAA CGC GAA GAA CCT TAC-3') 和 r1401 (5'-CGG TGT GTA CAA GRC CCG GGA ACG-3', R = A or G)。

PCR 反应体系为: 2.5 μL buffer, 1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.2 mmol·L⁻¹ dNTPs, 0.2 μmol 引物, BSA, 2.5 U *Taq* 酶, 0.5 μL 模板。PCR 扩增条件为: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 1 min, 65 ~ 57℃ 降落式退火各 1 min, 72℃ 1 min, 16 个循环; 95℃ 1 min, 57℃ 1 min, 72℃ 1 min, 24 个循环, 共 40 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。

扩增后样品通过变性剂浓度为 35% ~ 55% 的变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 中分离条带后, 经过测序得到样品的核酸序列。得到的序列在 National Centre for Biotechnology Information (NCBI) 数据库中进行对比, 得出菌种信息。

1.7 PCR-DGGE 图谱分析

微生物群落多样性指数采用 Shannon - Weaver 指数 (H') 表示, H' 可反映种群内及种群之间的遗传多样性分布和差异, 其表达式为:

$$H' = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

式中, S 为每个样品的条带数目; n_i 为第 i 种种群的个体数; N 为种群中的个体总数, 个体数用波峰面积表示。

利用 Quantity One-4.6 软件对样品间的相似性进行分析, 根据条带的数目及各条带的亮度, 采用 UPGMA 法构建了一个相似性指数树状图。

2 结果与讨论

2.1 3 个系统的污染物去除率

本研究中的岛栅系统已经稳定运行 1 a, 实验期间进水 COD 为 $(24.00 \pm 1.02) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, AN 为 $(2.11 \pm 0.56) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水质较稳定, 3 种系统对污染物的去除效果如图 1 所示。

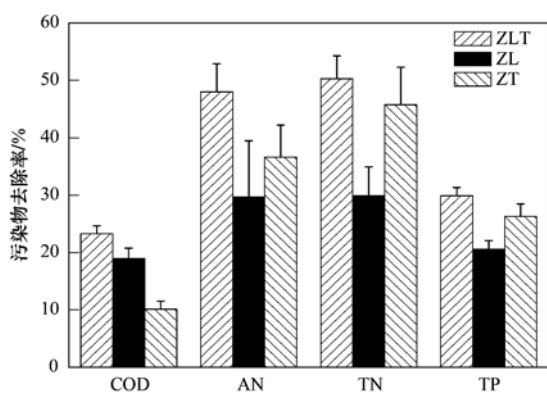


图 1 3 个系统对不同污染物去除率

Fig. 1 Removal rates of different pollutants for three systems

结果表明, 在同时带有植物和生物膜载体的 ZLT 系统中各种污染物的去除率均明显高于另外 2 个系统. 此外由于植物处于生长初期, 对于氮磷等营养物质的需要较大, 所以对氮、磷的去除率都明显高于 COD 去除 ($P < 0.05$), 尤其是 AN 和 TN. 其中, ZT 系统对 AN 和 TN 的去除率分别达到了 36.6% 和 45.8%, 而对 COD 的去除率只有 10.1%. 而在 ZLT 系统中, 对 AN 和 TN 的去除率分别为 48.0% 和 50.3%, 为 ZL 的近 2 倍, 同时比 ZT 系统的去除率分别高出了 11.4% 和 4.5%; 对 COD 和 TP 的去除, 3 个系统之间也有显著差异 ($P < 0.05$). 在 ZT 系统中, 除了 COD 的去除率较低外, 其他 3 类污染物去除率都与 ZLT 相差不是很大, 均高于只有植物的 ZL 系统. 这说明在植物生长初期, 作为生物膜载体的弹性填料对于污染物的去除也很重要, 尤其是对氮磷等营养物质的吸附作用, 而对于 COD 的吸附可能不如植物的生长吸收作用明显, 所以比 ZL 略低. 这与马强等^[6]报道的一致.

从结果中还可以看出, 新型生物岛栅对污染物的去除效果明显优于传统的生态浮岛, 而只有弹性填料的 ZT 系统对污染物的去除率也很高, 说明了生物膜载体在污染物去除中的必要性, 这与 Chung 等^[12]和 Ouyang 等^[13]报道的人工湿地系统中植物的直接去污作用仅为不到 10% 一致.

2.2 微生物量及活性分析

以荧光素含量代表的微生物活性、以及以蛋白浓度代表的微生物量的实验结果见图 2.

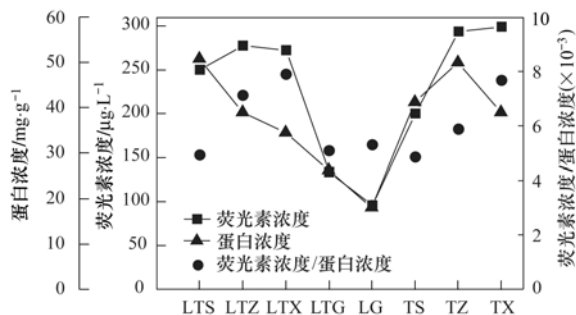


图 2 各样品中蛋白及荧光素浓度

Fig. 2 Protein and fluorescein concentrations of the samples

如图 2 所示, 各样品的荧光素浓度最低为 LG 的 $95.8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 最高为 TX 中的 $299.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 两者之间相差 3 倍. 但总体来说, 根部样品的浓度明显低于填料的各层样品, 这与 Iasur-Kruh 等^[10]的研究结果相似. 填料各层之间的浓度相差不大, 其中 ZLT 系统在不同深度的荧光素浓度为 $250.0 \sim 277.5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, ZT 系统为 $200.0 \sim 299 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 不同深度荧光素浓度及微生物含量变化不明显. 关于植物及其深度对微生物活性影响的研究并不多, 仅有的结果也都各不相同^[10]. Mermillod-Blondin 等^[14]认为在淡水沉积物中, 随着深度增加 FDA 酶脂活性会降低, 但这在本研究中的趋势并不明显. 这可能与溶解氧有关, 因为该实验中水是流动的, 溶解氧保持在 $7.0 \sim 8.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的富氧水平.

微生物量的变化趋势跟荧光素相似, 根部的 2 个样品明显偏低, 填料样品的浓度大约为根部样品浓度的 2 倍. ZLT 系统中浓度在 $(42.6 \pm 8.2) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 内, ZT 各层浓度在 $(44.5 \pm 5.5) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内, 变化都不大, 2 个系统的浓度变化趋势也不同. 这可能是由于植物生长初期, 系统中各组分还没有完全稳定, 单一地采用生物总量的代表性还不够所致, 各方面的影响作用有待进一步研究.

虽然生物膜中荧光素浓度与蛋白浓度变化规律不明显, 但荧光素与蛋白浓度的比值却有规律可循 (见图 2), 可以此来代表样品中活细胞在总生物量中所占的比例. 结果表明, ZLT 系统中填料上各层的活细胞比例都比 ZT 系统高, 尤其是中层相差最大, ZLT 中为 7.11×10^{-3} , 比 TZ 高出了 1.24×10^{-3} , 而根部中所占的比例与上层相近, 而且要比 ZL 系统略低, 这可能是由于植物根部与填料上层之间距离很短, 所以也有一定的相互影响有关. 此外, 将 3 个系统的所有样品的结果平均,

活细胞占总生物量的比例在 ZLT、ZL、ZT 系统中分别为： 6.25×10^{-3} 、 5.30×10^{-3} 、 6.13×10^{-3} ，这与 N、P 等污染物的去除率大小（ZLT > ZT > ZL）相吻合，由此可以看出微生物活细胞与生物总量的比值与氮磷的去除能力呈正相关性，该比值与 AN、TN、TP 去除率的相关性系数 R^2 分别为 0.73、

0.99、0.92，可以证明在污染物的去除中，尤其是氮磷的去除，微生物中的活细胞起到重要作用。

2.3 微生物群落结构分析

2.3.1 DGGE 图谱

本研究采用 PCR-DGGE 技术对样品中的微生物结构进行分析，具体见图 3。

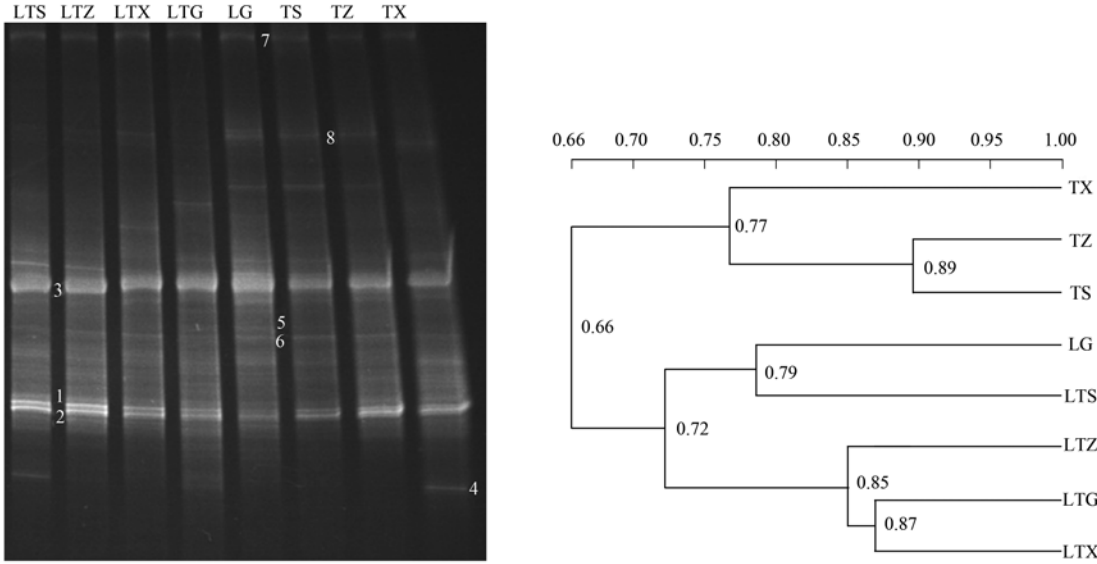


图 3 DGGE 图谱及样品间的相似性分析

Fig. 3 DGGE pattern and the similarity analysis of samples

结果表明，不同系统的不同样品中，条带的位置、亮度以及数目各有不同，每个样品都有 2 ~ 3 个较亮的条带出现，表明在岛栅的不同位置均存在其各自不同的优势种群。群落结构的相似性分析结果可分为 2 组，第一组为 ZLT 系统的 4 个样品及 LG 系统的根部样品，第二组是 ZT 系统中填料上的 3 个样品，其中相似性最高的是 ZT 系统中填料上层和中层的 2 个样品，相似性指数达到 89%；其次为 ZLT 系统中填料下层和根部样品，相似性为 87%，这 2 个样品与其中层填料的相似性也达到了 85%。总体来说，植物和填料同时存在的 ZLT 系统的微生物结构与只有植物的 ZL 系统比较相似（相似性指数 79%），而与只有填料的 ZT 系统相似性略低，相似性只有 66%，这说明在生物岛栅中植物根际环境对其环境中的微生物群落结构有一定的影响，这可能与植物根际分泌物有关^[15]。

2.3.2 微生物群落多样性指数分析

对 DGGE 图谱中各条带的 Shannon 多样性指数（ H' ）进行分析，并对 3 个系统相对应样品作图，如图 4 所示。结果表明，ZLT 样品中微生物的多样性指数随着深度的增加而降低，但是这种趋势在 ZL 样

品中并不明显，这可能跟植物分泌物有关^[15]，随着深度的增加，植物根际分泌物的浓度降低，因而微生物的多样性降低。但是，ZLT 样品上层和中层填料上的微生物多样性均大于根部（LTG），这表明选择的填料类型的确有利于微生物的吸附。另外，ZL 样品中根部的微生物多样性远大于 ZLT 根部的样品，这可能是因为加入填料后微生物的生态位竞争造成的^[16]。

2.3.3 微生物特征分析

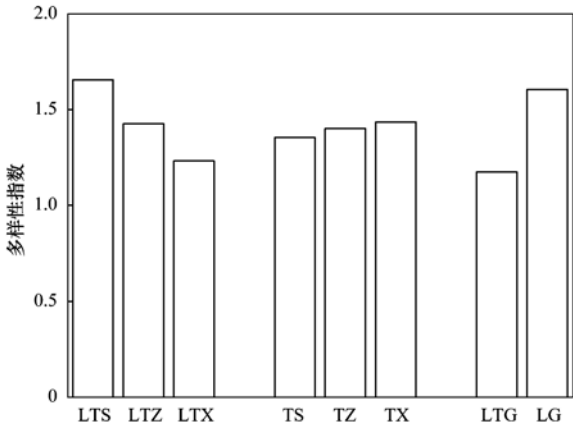


图 4 不同样品的多样性指数

Fig. 4 Diversity index of different samples

将 DGGE 图谱中的 7 个条带进行切胶后 PCR 扩增分析,结果表明其中 5 条带(G1、G2、G4、G5、G6)所代表的菌属属于 γ -变形菌,其余 2 条带属于拟杆菌门(表 1 和图 5).这和马强等^[6]报道的结论不同,这可能和植物所处的生长期不同有关.所有样品中都包含 Band G1、G2、G6 和 G7,G1 和 G2 代表的 *Aeromonas* sp. 是一种潜在的致病菌^[17],并且经常存在于一些饮用水的过滤系统中,这表明新型岛栅膜随着运行的时间加长,可能存在产生致病菌的危害,这点值得深入研究.所有样品中都存在的 Band

G6 报道的还较少,其中一个学者认为与植物的根际分泌物有关,但相关结果只在 GenBank 数据库中有描述;而与 G6 不同的是,G7 这种 *Bacteroidetes* bacterium 广泛存在于水体中^[18]. Band G5 只存在于 LG 样品中,属于固氮菌^[19],说明固氮菌与根际的关系很紧密,但是在 ZLT 样品中并没有监测出来,这可能与下面的弹性填料有关. Band G4 只存在于 TX 样品中,属于 *Thiothrix eikelboomii*,是一种化能自养菌,广泛存在于深水中^[20],在 TX 的条件下,适宜此种菌群的出现.

表 1 各样品序列比对结果

Table 1 Gene sequence alignment of the samples

样品号	对应菌种	相似度/%
G1	<i>Aeromonas veronii</i> strain w-s-06(JF490065.1)	99
	Bacterium AhBYK2010RS-1(HQ322682.1)	99
G2	<i>Aeromonas</i> sp.111(JF444773.1)	100
	<i>Aeromonas hychophila</i> strain NJ-1(HQ876090.1)	100
G4	<i>Thiothrix eikelboomii</i> strain AP3(NR024758.1)	98
G5	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain NFL16(GQ496662.1)	99
G6	Uncultured bacterium clone W_0307_3(GQ379420.1)	99
G7	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone IRD18H08(AY947982.1)	99
G8	Uncultured bacterium clone SD5(AY187502.1)	99
	Uncultured <i>Flavobacteria</i> clone ATB-LH-5952(FJ535179.1)	99

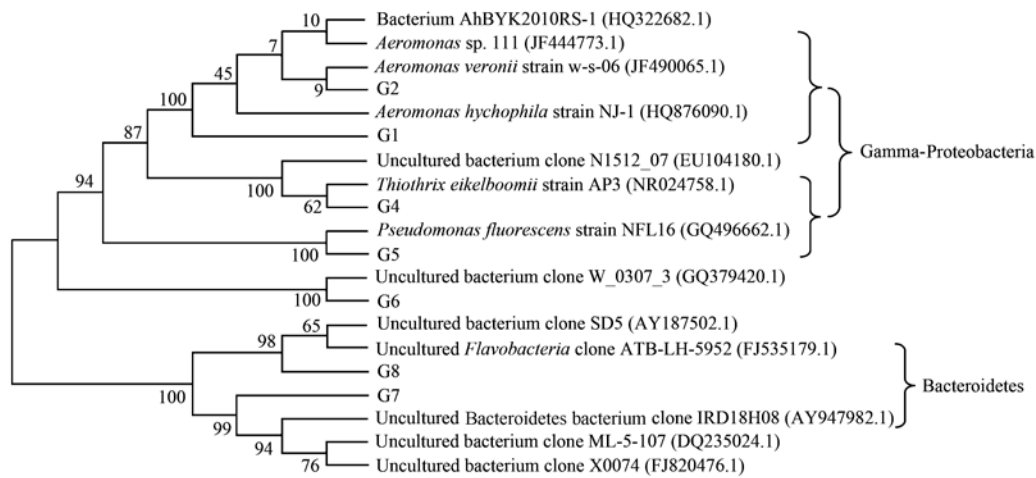


图 5 生物膜载体上微生物种群的 Neighbour-joining 分析结果

Fig. 5 Neighbour-joining analysis of microbial populations on biofilm carrier

3 结论

(1)ZLT 系统对 COD、AN、TN、TP 的去除效果都明显高于另外 2 个系统($P < 0.05$). 3 个系统的 COD 去除率均低于其他 3 类污染物,ZT 系统对于氮、磷的去除率高于 ZL 系统,证明了生物膜载体在污染物去除中的必要性.

(2)根部样品中微生物的总量及活性均明显低于填料的各层样品,不同深度处的填料样品中变化

趋势均不明显. ZLT 系统中填料上各层的活细胞比例都比 ZT 系统高. 此外,在污染物的去除中,尤其是氮磷的去除,微生物中的活细胞起到重要作用.

(3)ZLT 样品中微生物的多样性指数随着深度的增加而降低,且上层和中层填料上的微生物多样性均大于根部,而 ZL 样品中根部的微生物多样性远大于 ZLT 根部的样品. 生物膜上的微生物多属于 *Gamma-proteobacteria* 和 *Bacteroidetes*,并且不同的样品中存在其特异的微生物种群.

参考文献:

- [1] 李海英, 杨海华, 柯凡, 等. 微曝气生态浮床的净化效果与生物膜特性研究[J]. 中国给水排水, 2009, **25**(7): 35-40.
- [2] 王劫, 刘阳, 王泽民, 等. 人工浮岛技术应用前景[J]. 环境保护科学, 2008, **34**(5): 23-25.
- [3] Peterson S B, Teal J M. The role of plants in ecologically engineered wastewater treatment systems [J]. Ecological Engineering, 1996, **6**(1-3): 137-148.
- [4] Li X N, Song H L, Li W, *et al.* An integrated ecological floating-bed employing plant, freshwater clam and biofilm carrier for purification of eutrophic water[J]. Ecological Engineering, 2010, **36**(4): 382-390.
- [5] Sun L P, Liu Y, Jin H. Nitrogen removal from polluted river by enhanced floating bed grown canna[J]. Ecological Engineering, 2009, **35**(1): 135-140.
- [6] 马强, 高明瑜, 谭伟, 等. 新型生态浮岛在改善水质中的作用及生物膜载体微生物特征研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(6): 1596-1601.
- [7] Kapoor K N, Barry D T, Rees R C, *et al.* Estimation of peptide concentration by a modified bicinchoninic acid assay [J]. Analytical Biochemistry, 2009, **393**(1): 138-140.
- [8] Olson B J, Markwell J. Assays for determination of protein concentration[C]. Current Protocols in Protein Science, 2007, Chapter 3, Unit 3.4.
- [9] Battin T J. Assessment of fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total esterase activity in natural stream sediment biofilms[J]. Science of the Total Environment, 1997, **198**(1): 51-60.
- [10] Iasur-Kruh L, Hadar Y, Milstein D, *et al.* Microbial population and activity in wetland microcosms constructed for improving treated municipal wastewater[J]. Microbial Ecology, 2010, **59**(4): 700-709.
- [11] Ragusa S R, McNevin D, Qasem S, *et al.* Indicators of biofilm development and activity in constructed wetlands microcosms[J]. Water Research, 2004, **38**(12): 2865-2873.
- [12] Chung A K C, Wu Y, Tam N F Y, *et al.* Nitrogen and phosphate mass balance in a sub-surface flow constructed wetland for treating municipal wastewater[J]. Ecological Engineering, 2008, **32**(1): 81-89.
- [13] Ouyang Y, Luo S M, Cui L H. Estimation of nitrogen dynamics in a vertical-flow constructed wetland [J]. Ecological Engineering, 2011, **37**(3): 453-459.
- [14] Mermillod-Blondin F, Lemoine D, Boisson J C, *et al.* Relative influences of submersed macrophytes and bioturbating fauna on biogeochemical processes and microbial activities in freshwater sediments[J]. Freshwater Biology, 2008, **53**(10): 1969-1982.
- [15] Morgan J A, Martin J F, Bouchard V. Identifying plant species with root associated bacteria that promote nitrification and denitrification in ecological treatment systems[J]. The Society of Wetland Scientists, 2008, **28**(1): 220-231.
- [16] 牛克昌, 刘恽宁, 沈泽昊, 等. 群落构建的中性理论和生态位理论[J]. 生物多样性, 2009, **17**(6): 579-593.
- [17] Kwon S, Moon E, Kim T S, *et al.* Pyrosequencing demonstrated complex microbial communities in a membrane filtration system for a drinking water treatment plant [J]. Microbes and Environments, 2011, **26**(2): 149-155.
- [18] Crump B C, Hobbie J E. Synchrony and seasonality in bacterioplankton communities of two temperate rivers [J]. Limnology and Oceanography, 2005, **50**(6): 1718-1729.
- [19] 张多英, 张淑梅, 蔡柏岩. 玉米内生联合固氮菌的分离与鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2010, **41**(2): 6-10.
- [20] Dattagupta S, Schaperdorth I, Montanari A, *et al.* A novel symbiosis between chemoautotrophic bacteria and a freshwater cave amphipod[J]. International Society for Microbial Ecology, 2009, **3**(8): 935-943.

CONTENTS

Using Look-up Table Method in the Simulation of Regional Atmospheric Environment	XIE Min, WANG Ti-jian, JIANG Fei, <i>et al.</i> (1409)
Applications of Pollutants Released from Crop Residues at Open Burning in Yangtze River Delta Region in Air Quality Model	SU Ji-feng, ZHU Bin, KANG Han-qing, <i>et al.</i> (1418)
Atmospheric Dry Deposition Flux and Sources of Monocarboxylic Acids in Beijing and Surrounding Cities	XU Xiao-juan, LI Xing-ru, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (1425)
Comparison of Physicochemical Characterization of Shanghai Ambient Ultrafine Particles and Engineered Nano Particles and Their Cytotoxicity	 ZHANG Rui, LÜ Sen-lin, SHANG Yu, <i>et al.</i> (1431)
Element Compositions and Source of PM _{2.5} Aerosols in Qingdao	LI Xiu-zhen, SHENG Li-fang, XU Hua, <i>et al.</i> (1438)
Phthalate Esters Pollution in Household Indoor Air Particles of Tianjin in Winter	WANG Fu-mei, CHEN Li, JIAO Jiao, <i>et al.</i> (1446)
Application of a Resuspension Test Chamber in PM _{2.5} Source Profile Analysis	DUAN Heng-yi, QIAN Ran-ran, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (1452)
Distribution and Enrichment of Trace Elements in Coal Combustion Products from Southwestern Guizhou	WEI Xiao-fei, ZHANG Guo-ping, LI Ling, <i>et al.</i> (1457)
Air-Water Surface Greenhouse Gas Flux in Pengxi River at Different Operational Stages of the Three Gorges Reservoir	JIANG Tao, GUO Jing-song, LI Zhe, <i>et al.</i> (1463)
Fluxes of Greenhouse Gases from Xiangxi River in Summer and Their Influencing Factors	WANG Liang, XIAO Shang-bin, LIU De-fu, <i>et al.</i> (1471)
Effects of Elevated Ozone Concentration and Soil Moisture on Temperature Sensitivity of Soil Microbial Respiration in a Cropland	CHEN Shu-tao, ZHANG Yong, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (1476)
Hydrochemical Characteristics in the Glacier No. 72 of Qingbiantan, Tomur Peak	ZHAO Ai-fang, ZHANG Ming-jun, LI Zhong-qin, <i>et al.</i> (1484)
Mineralization Characteristics of Dissolved Organic Phosphorus in Wudalianchi Lake, China	ZHANG Bin, XI Bei-dou, ZHAO Yue, <i>et al.</i> (1491)
Speciation Distribution of Nitrogen in Sediments of 7 Rivers around Taihu Lake	LU Shao-yong, YUAN Ye, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (1497)
Distribution and Bioavailability of Nitrogen and Phosphorus Species in the Sediments from Shiwuli Stream in Lake Chaohu	LI Ru-zhong, LI Feng, ZHOU Ai-jia, <i>et al.</i> (1503)
Surface Water Quality of Beiyun Rivers Basin and the Analysis of Acting Factors for the Recent Ten Years	GUO Jing, JING Hong-wei, LI Jin-xiang, <i>et al.</i> (1511)
Water Quality Impact of Dongjiang River Network Caused by Dongguan Canal Drainage	SUN Lei, MAO Xian-zhong, HUANG Min-min (1519)
Groundwater Pollution Sources Identification and Grading in Beijing Plain	LU Yan, HE Jiang-tao, WANG Jun-jie, <i>et al.</i> (1526)
3D Numerical Simulation of Air Sparging Remediation Process	LI Heng-zhen, HU Li-ming, WANG Jian, <i>et al.</i> (1532)
Numerical Experiment Study on the Algae Suppression Effect of Vertical Hydrodynamic Mixers	ZOU Rui, ZHOU Jing, SUN Yong-jian, <i>et al.</i> (1540)
Microbial Mechanism of Pollutants Removal in New Biological Island Grid	GAO Ming-yu, XIE Hui-jun, WANG Wen-xing (1550)
Effect of Nutrition Level of Phosphorus and Nitrogen on the Metabolism of the Extracellular Organic Matter of <i>Nostoc flagelliforme</i>	QI Fei, LIU Xiao-yuan, XU Bing-bing, <i>et al.</i> (1556)
Inhibitory Effects of Liquor Cultured with <i>Hydrodictyon reticulatum</i> on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i>	FU Hai-yan, CHAI Tian, ZHAO Kun, <i>et al.</i> (1564)
Removal and Distribution of Phthalate Acid Esters in <i>Potamogeton crispus</i> L. Microcosm of Haihe River	 CHI Jie, YANG Qing (1570)
Control and Removal of Microcystin Production of <i>Microcystis aeruginosa</i> by Irradiation of Electron Beam	LIU Shu-yu, WU Ming-hong, JIANG Qin-peng (1575)
Source Characteristics Analysis of Discharge and Pollutants in Typical Drainage Ditch of Qingtongxia Irrigation District	LI Qiang-kun, HU Ya-wei, LUO Liang-guo (1579)
Degradation of TBBPA by Electron Beam Radiolysis	LI Jie, XU Dian-dou, XU Gang, <i>et al.</i> (1587)
Catalytic Ozonation of Ibuprofen in Aqueous Solution by Activated Carbon Made from Sludge and Corn Cob	WANG Hong-juan, QI Fei, FENG Li, <i>et al.</i> (1591)
Effect of High Hydraulic Loading on Intensive Shrimp Aquaculture Wastewater Treatment Performance in Constructed Wetland	LI Huai-zheng, ZHANG Xing-yi, CHEN Wei-bing, <i>et al.</i> (1597)
Factors Influencing the Formation of NDMA During Chloramination Disinfection of Effluent from Biological Nitrogen Removal System for the Treatment of Municipal Sewage	 SHANG Xiao-ling, LI Yong-mei (1604)
Denitrification Using Starch/PCL Blends as Solid Carbon Source	SHEN Zhi-qiang, WU Wei-zhong, YANG Chun-ping, <i>et al.</i> (1609)
Profiles of Zeta Potential and EPS in Granulation Process of Aerobic Sludge	WANG Hao-yu, SU Ben-sheng, HUANG Dan, <i>et al.</i> (1614)
Biosorption Characteristics of f2 Bacteriophage onto Activated Sludge	ZHOU Yu-fen, ZHENG Xiang, LEI Yang, <i>et al.</i> (1621)
Adsorption of Anionic Polyacrylamide on the Surface of Ion Exchange Membranes	DENG Meng-jie, YU Shui-li, SHI Wen-xin, <i>et al.</i> (1625)
Adsorption of Amphoteric Modified Bentonites to Phenol and Its Thermodynamics	LI Ting, MENG Zhao-fu, ZHANG Bin (1632)
Effect of Surfactants on Sorption and Desorption of Benzo[a]pyrene onto Black Carbon	ZHANG Jing-huan, CHEN Chun-rong, ZHANG Wei-hang, <i>et al.</i> (1639)
Isolation and Identification of Bacteria in the Activated Sludge from Four Sewage Treatment Plants in Nanjing City and Its Antibiotic Resistance Analysis	 GE Feng, GUO Kun, ZHOU Guang-can, <i>et al.</i> (1646)
Screening and Characterization of Phenol Degrading Bacteria for the Coking Wastewater Treatment	CHEN Chun, LI Wen-ying, WU Jing-wen, <i>et al.</i> (1652)
Characteristics of 1,4-Dioxane Degradation by <i>Xanthobacter flavus</i> DT8	JIN Xiao-jun, CHEN Dong-zhi, ZHU Run-ye, <i>et al.</i> (1657)
Spatial Quantitative Distribution of Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria of Unexploited Oil and Gas Fields	MAN Peng, QI Hong-yan, HU Qing, <i>et al.</i> (1663)
Screening and Biological Characteristics of Amphitrophic Methane-Oxidizing Bacteria from Aged-Refuse	ZHAO Tian-tao, XIANG Jin-xin, ZHANG Li-jie, <i>et al.</i> (1670)
Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from 22 Tributaries and Mainstream in Middle Reaches of Yangtze River	 LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1676)
Pollution Characteristics and Potential Risks of Phenolic Compounds in Schistosomiasis Epidemic Areas	WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1682)
Spatial Heterogeneity and Autocorrelation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediment of Minjiang River in Fuzhou City	CHEN Wei-feng, NI Jin-zhi, YANG Hong-yu, <i>et al.</i> (1687)
Heavy Metals Pollution and Its Potential Ecological Risk of the Sediments in Three Gorges Reservoir During Its Impounding Period	WANG Jian-kang, GAO Bo, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1693)
Investigation on the Distribution and Potential Ecological Risk of Heavy Metal in the Sediments from Typical Electrical Industrial Zone	DENG Dai-yong, SUN Guo-ping, GUO Ju, <i>et al.</i> (1700)
Fraction Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Iron and Gold Mine Soil of Miyun Reservoir Upstream	GAO Yan-xin, FENG Jin-guo, TANG Lei, <i>et al.</i> (1707)
Heavy Metal Contamination and Bioavailability in Huayuan Manganese and Lead/Zinc Mineland, Xiangxi	YANG Sheng-xiang, YUAN Zhi-zhong, LI Zhao-yang, <i>et al.</i> (1718)
Evaluation of Heavy Metal Pollution in Soils from a Training Ground Based on GIS	LIU Yu-tong, FANG Zhen-dong, YANG Qin, <i>et al.</i> (1725)
Effects of Soil Texture and Water Content on Remediation of SVE on Soils Contaminated by Benzene	LIU Shao-qing, JIANG Lin, YAO Yu-jun, <i>et al.</i> (1731)
Characteristics of DNA Adsorption and Desorption in Montmorillonite, Kaoline and Goethite	WANG Shen-yang, RAO Wei, WANG Dai-zhang, <i>et al.</i> (1736)
LNAPL Migration Monitoring in Simulated Sand Aquifer Using Resistivity Method	PAN Yu-ying, JIA Yong-gang, GUO Lei, <i>et al.</i> (1744)
Preparation and Characterization of Activated Carbon from Rice Straw Pre-treated by the Subcritical Hydrolysis	DONG Yu, SHEN Zhe-min, LEI Yang-ming, <i>et al.</i> (1753)
Study on Composting of Cyanobacteria Amended with Different N Loss Inhibitor	REN Yun, CUI Chun-hong, LIU Fen-wu, <i>et al.</i> (1760)
Research Progress About Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contaminated Soil with Immobilized Microorganism Technique	 QIAN Lin-bo, YUAN Miao-xin, CHEN Bao-liang (1767)

《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5月15日 33卷 第5期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 5 May 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