# 分子生物学在废水系统硝化细菌群落特征分析中的应用进展

黄 燕,黄民生,戴兴春,朱 勇,高 尚,高 岩

(华东师范大学资源与环境科学学院,上海 200062)

摘要 较系统地介绍了与环境微生物相关的分子生物学研究方法,如克隆文库分析法、分子杂交技术、遗传指纹技术等,及其这些相关技术在硝化细菌群落结构与分布、多样性、动态性分析中的应用进展。结果表明,分子生物学技术在研究硝化细菌群落特征中发挥了重要的作用。

关键词 硝化细菌 群落特征 分子生物学 综述

中图分类号 :Q71 文献标识码 :A 文章编号 :1004-6933(2008)06-0012-05

## Progress in the application of molecular biology to analysis of community characteristics of nitrifying bacteria in wastewater

HUANG Yan, HUANG Min-sheng, DAI Xing-chun, ZHU Yong, GAO Shang, GAO Yan

(*School of Resources and Environment Sciences, East China Normal University, Shanghai* 200062, *China*)

**Abstract**: A systematic review of molecular biology research methods applied in environmental microbiology is given, including clone library profiling, molecular hybridization and genetic fingerprinting. Progress in the application of these methods to the analysis of community composition and distribution, diversity and dynamic analysis of nitrifying bacteria is also presented. The results show that molecular biology techniques play an important role in the study of the community characteristics of nitrifying bacteria.

**Key words**: nitrifying bacteria; community characteristics; molecular biology; application progress

近年来,随着城市人口的急剧增长,工农业生产的快速发展,造成污染源和外排污染物数量剧增,因此不少污染物受纳水体的生态环境严重失衡。氮和磷是引起水体富营养化的重要元素,因此氮和磷的去除一直是环境学科研究的重点。目前污水中氮、磷去除所采用的方法主要为生物去除法,即利用微生物氨化、硝化以及反硝化作用去除污水中的氮,利用聚磷菌过量吸收磷而减少排放。

硝化细菌是生物硝化脱氮中起主要作用的微生物,会直接影响硝化效果和生物脱氮的效率。传统的硝化菌群是典型的好氧自养型细菌,呈革兰氏阴性,能够氧化氨氮或亚硝氮为硝酸盐[1]。硝化细菌分为两类:将氨氮氧化为亚硝酸盐的称之为亚硝酸菌(Ammonia Oxidizing Bacteria,AOB),将亚硝氮氧化为硝酸盐的称之为硝酸菌(Nitrite Oxidizing Bacteria,NOB)。这两大菌群协同作用将氨氮转化为硝态氮,其生长缓慢,对冲击负荷敏感,因此成为研究脱氮过程的主要菌群。

硝化细菌群落组成的特征,在很大程度上决定着废水脱氮处理的效果。因此,全面了解硝化细菌种类、数量及时空分布变化等生态特性、种群结构及生态功能关系并对系统进行优化调控,是确保脱氮处理系统稳定、高效运行的关键,近年来已成为国内外的研究热点。

硝化细菌的生长速度极其缓慢,现常用的分离纯化方法,如最大可能数、极限稀释、选择性平板等

基金项目:上海市建设与交通'十一五'重点科研项目(2006)

作者简介:黄燕(1982—),女,浙江宁波人,硕士研究生,研究方向为水处理技术。E-mail:hy9673@hotmail.com

通讯作者:黄民生,教授,E-mail:mshuang@des.ecnu.cn

也不能有效地获得硝化细菌,这些传统方法不但费时费力且细菌计数困难、不准确,这些都明显限制了人们对硝化细菌的研究与应用。近年来,分子生物学方法已经成为现代环境微生物学研究的重要手段,人们对硝化细菌分子水平上的研究越来越多,对其群落结构的分析也越趋深入。

## 1 与微生物群落结构分析相关的分子生物学研究方法

对环境中微生物种群的类型和数量进行及时和准确的分析测定在微生物生态研究中十分重要,传统的微生物分析测定方法,包括显微镜微生物形态观察、选择性培养基计数、纯种分离和生理生化鉴定等,在环境样品研究中都存在一定的缺陷。

随着近代分子生物学技术的发展,不依靠纯培养的微生物群落结构的分析方法已得到广泛发展和应用。近年来,针对目前传统微生物分析方法存在的问题,在环境微生物领域,国际上诸多国家先后展开了分子生物学研究方法的建立和生物学评价工作,更精确地揭示了微生物种类和遗传的多样性,基于 DNA/RNA 的现代分子生物技术在废水处理、生物修复等环境污染治理领域已有广泛的研究应用。迄今,国内外就目前所开展的研究来看,用于微生物群落结构的分析技术主要有以下几种。

### 1.1 克隆文库分析法(clone library profiling)

在分析环境样品中核酸分子的种类和数量时,由于直接提取的核酸分子的量很少,不能用于直接分析,一般都是通过 PCR 扩增和构建克隆文库的方法。通过对文库中各转化子序列的测定,分析文库中标记序列的类型和出现频率,就可以知道该环境样品种的这些基因的种类和相对数量,从而获得物种组成的信息,得到微生物群落种群组成的分析数据。

其中,以 16S rRNA/DNA 为基础的分子生物学技术已成为普遍接受的方法。该技术主要利用不同微生物在 16S 核糖体及其基因序列上的差异来进行微生物种类的鉴定和定量分析。虽然该方法比较耗时,且需要大量财力支持,但是由于该方法对微生物细胞中 16S rRNA 基因进行特异扩增后对核苷酸序列进行测定,并与已知菌种 16S rRNA 进行比较,以此进行微生物鉴定和微生物系统学研究,因此该方法是目前比较准确的方法之一,在微生物生态学研究中占有重要的地位[2]。

### 1.2 分子杂交技术(molecular hybridization)

两条序列一样或相近的核酸片段在一定条件下能退火结合在一起,形成稳定的双链结构。根据这个原理,以一条特异标记(荧光、同位素或 DIG 等)的核酸片段为探针,就可以检测出另一条靶核酸序列的存在。用已知的标记序列作为探针,可以检测微生物群落样品中特定的微生物种类存在状况及其种群水平的高低。可以直接对样品进行分析的荧光原位杂交(FISH)、原位 PCR(IS - PCR)、基因芯片(Microarrays)等受到研究者的青睐。

其中,荧光原位杂交(FISH)是一项利用标记的 DNA 或 RNA 探针直接在染色体、细胞或组织水平定位特定靶核酸序列的分子细胞遗传学技术[3-4]。FISH 利用高度特异的寡聚核苷酸探针杂交可以得到特定微生物在环境中的存在、分布、丰度以及整个微生物群落的组成、结构及其多样性等全面信息。

### 1.3 基于 PCR 扩增的遗传指纹技术(genetic fingerprinting)

该方法是指将代表微生物群落结构的核酸分子进行各种形式的凝胶电泳,从而将代表微生物群落种各种不同种群的核酸分子区分开。凝胶电泳中各微生物群落核酸分子的迁移行为就构成了该群落特异的遗传指纹图谱。该方法的一大优点就是可以同时对比大量的微生物群落样品。DNA 指纹技术的潜在问题则是总 DNA 的提取和 PCR 扩增过程存在的影响因素。没有任何一种 DNA 提取方法是绝对可靠的[5],而且 PCR 过程中,如通用引物并非完全通用、GC 含量影响、Taq 酶活性等等,都会导致误差产生。无论选择杂交技术还是 DNA 指纹技术,它们总是描述群落中占主要部分的种类。

用于群落结构分析的指纹图技术中,最常用的是用 16S/18S rRNA 基因序列可变区的扩增以及 DGGE/TGGE 电泳分析技术,目前已经被广泛用于分析微生物的区系结构组成与动态变化。此外,随机扩增技术(RAPD)、扩增 rDNA 限制性分析(ARDRA)、限值性片段长度多态性分析(RFLP/T - RFLP)等也被用于监测微生物群落结构的动态变化或者比较不同微生物群落样品的结构差异。

### 1.4 实时定量 PCR 技术(real-time PCR)

所谓 real-time PCR 技术,是指在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号累积实时监测整个 PCR 进程,然后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。目前根据荧光定量途径的不同,real-time PCR 测定主要包括 3 种方法:SYBR Green 荧光定量法和 Taqman 探针法及 Molecular Beacon。

实时荧光定量 PCR 具有特异性强,能有效解决 PCR 污染问题,自动化程度更高等优点,与其他的分子生物学技术的联合应用,使人们不仅可以定性,也可以定量研究微生物群落结构组成及数量变化,深入探索微生物群落与环境因子之间的相互作用及其

动态变化过程。实时定量 PCR 技术已广泛应用于研究自然环境的微生物生态系统中,如土壤、水体、沉积物、活性污泥、肠道等复杂微生物生态系统中重要功能种群的定量研究中。

## 2 分子生物学技术在硝化细菌群落结构分析中的应用

通过分子生物学方法可以方便、快速、准确地获得处理设施中的微生物情况,为设施运行提供参考资料 通过分析微生物的多样性,还可以为构建人工生态系统提供依据 ;也可以为进一步开发利用不可培养的微生物的特殊功能基因提供初步资料。

硝化细菌在不同的环境中往往形成不同的优势菌群,在污水处理过程中,硝化细菌的优势菌群随着反应系统和运行特征的不同而具有各自的特征,目前较多的研究者对于污水处理系统中硝化优势菌株的组成进行了大量研究。

### 2.1 硝化细菌群落的多样性研究

DGGE 和 PCR 技术相结合被广泛应用于各种突变分析,是目前可以探知最为完整的环境微生物菌群结构的分子生物学技术,已被广泛引用到分子微生物生态学研究领域,尤其是在微生物多样性的研究上。

许玫英等[6] 采用 PCR-DGGE 技术,研究了含高浓度氨氮的废水处理系统不同驯化时期活性污泥样品中总的细菌类群的差异性。结果表明所检测到的氨氧化细菌优势菌群均属于变形细菌的 β 亚类,与 *Nitrosomonas sp*. 相比具有较高的相似性。活性污泥驯化成熟后,废水处理系统中 AOB 的活性有明显提高,活性污泥中的细菌类群更加集中,优势菌群相对稳定,系统对废水的处理效率也相应提高。

Pynaert 等[7] 报道了生物转盘反应器(RBC)高效自养生物脱氮系统的微生物多样性,与接种污泥相比,生物膜中好氧氨氧化菌(AOB)种群组成发生了明显的变化,并发现优势种为 *Nitrosomonas sp*.。Tsuneda 等[8] 采用 DGGE 技术分析硝化颗粒污泥中硝化菌群组成,发现 *Nitrosococcus mobilis* 是主要的硝化细菌之一,当氨负荷从 $0.125\ kg\cdot m^{-3}\cdot d^{-1}$ 上升到 $0.82\ kg\cdot m^{-3}\cdot d^{-1}$,出现了 3 种新的硝化细菌,与 *Nitrosomonas marina* 相似性最高,而样品中没有检测到 *Nitrosospira* 的相关菌种,说明高浓度氨环境有利于 *Nitrosomonas* 的生长。

嵌套式 PCR(Nested PCR)的联合应用拓宽了 DGGE 的应用范围,能对活性污泥中特定微生物菌群作分析,使研究结果更有实际意义。该技术能检测出样品中丰度低的微生物,Philips 等[9] 报道采用嵌套式 PCR 能检测到质量分数低于 0.01% 的氨氧化菌。Boon 等[10] 采用嵌套式 PCR 和 DGGE 对取自比利时 15 家废水处理厂活性污泥中微生物种群结构作了较详尽的比较分析。实验分别对活性污泥中常见的 *Bacteria*、*α-Proteobacteria*,易引起泡沫和污泥膨胀的 *Actinomycetes*,除氮过程中起重要作用的氨氧化菌(AOB),能利用单 C 分子的 *Methanotrophs* 及新近发现的 *Acidobacterium* 等菌种作了嵌套式 PCR-DGGE 分析,取得了较好的效果。

此外,利用 16S/18S rRNA 基因序列可变区的扩增以及限制性酶切片断长度多态性分析(restriction fragment length polymorphism,RFLP),也被广泛用于监测微生物群落的多样性分析。张丽娜等[11] 通过利用 PCR 技术对红壤荒草地富集液中的细菌总 DNA 进行扩增,建立了红壤荒草地富集液中氨氧化细菌特异性的 16S rDNA 文库,然后用酶 Hha Ⅰ 和 Rsa Ⅰ 对该文库特异性片段进行了 RFLP 分析,随机挑选的 35 个特异性克隆片段被分成 3 个不同的 RFLP 类型,其中优势占了所有分析克隆子的 94%,另两个型各占 3%。从每个 RFLP 类型中挑取一定的转化子进行测序,测序结果经 GenBank 检索,发现在该富集液体系文库中存在大量亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)细菌序列,由此推测红壤荒草地中存在氨氧化细菌,*Nitrosomonas* 属细菌能在富集条件下成为优势菌。

钦颖英等[12] 也通过提取一生产性规模的给水生物预处理反应器中生物膜样品的总 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,对生物膜中的细菌种群多样性和群落结构进行了研究。实验结果表明,给水生物膜反应器中的细菌种群多样性十分丰富,其中与硝化作用有关的是 *Nitrosamonas* 和 *Nitrospira* 属的细菌。研究结果表明,给水生物预处理反应器中的细菌群落结构和废水生物处理反应器中的细菌群落结构是有所差异的。

### 2.2 硝化细菌种群结构与分布研究

在微生物分子生态学领域,FISH、原位 PCR 等技术能将单个细菌从复杂的菌群背景中检测出来;在检测特定微生物的同时,确定其空间分布及其数量。目前,这些技术已被广泛应用于研究活性污泥或生物膜中硝化细菌的结构与分布情况。

Jang 等[13] 对 SBR 反应器内好氧颗粒污泥(粒径分布 :1 ± 0.35 mm ~ 1.3 ± 0.45 mm)内氨氧化菌(AOB)和硝化细菌的分布进行了检测,FISH 结果表明 :AOB 主要位于颗粒的表层和核心区域,硝化细菌则主要位于离颗粒表层 300 pm 左右。

Tsuneda 等[8] 分别采用 FISH 和原位 PCR 检测了

硝化反应器生物膜中氨氧化菌(以 amoA 为指示)的分布状况,两种检测方法均表明氨氧化菌主要位于接近生物膜表层处。当反应器停止供给氨两周后,FISH 即检测不到氨氧化菌,这与氨氧化菌活性降低而导致 rRNA 含量降低有关,但原位 PCR 依然可以检测到强的信号。可见,原位 PCR 可以检测到更低活性的氨氧化菌。

谢冰等[14]根据硝化细菌 16S rRNA 序列设计的探针 NSO190,为变形细菌 *proteobacteria* β 类的亚硝酸细菌的通用探针。硝酸细菌 NIT 探针,可检测出 *proteobacteria* α 类的硝酸细菌。NSO190 探针和 NIT 探针分别用发蓝色或绿色荧光的 FAM 标记,发橙色荧光的 HEX 标记。荧光显微镜观察表明,城市污水处理厂曝气池中亚硝酸细菌比硝酸细菌多,多呈游离状分布于活性污泥菌胶团上。经驯化培养,硝酸细菌数量明显增加,在活性污泥菌胶团上呈点状或片状分布。

孙寓娇等[15]利用 FISH、荧光实时定量 PCR 等技术,考察了 AUSB 反应器中好氧颗粒污泥中硝化菌群的生态分布。结果表明:好氧亚硝化颗粒污泥呈层状结构,氨氧化细菌(AOB)主要分布在颗粒污泥表层,亚硝酸盐氧化细菌(NOB)多分布在内层,颗粒内核则无活性细胞;随反应器氨氮负荷逐渐提高,颗粒污泥中 AOB 的相对含量逐渐升高。

Juretschko 等[16]运用 16S rRNA 克隆文库技术和 FISH 技术,深入研究了曝气硝化-反硝化系统中主要菌群的构成,表明系统中优势菌群为 *Proteobacteria*,其中主要为 β 亚类。

You 等[17]研究者采用 FISH 技术和 PCR-DGGE 研究比较 TNCU-I(一种与活性污泥结合的转盘生物接触反应器)和 $A^2O$ 的小试和中试的硝化效率,研究了两个系统中硝化细菌丰富度与硝化效率的关系。研究显示 TNCU-I 系统的硝化作用和硝化率要比 $A^2O$ 系统强。利用 PCR-DGGE 技术,在所有的样品中都发现 *Nitrosospira* 与 *Nitrosospira* 的亚属,而 *Nitrosomonas* 只存在于 TNCU-I RBC 生物膜中。另一方面,根据 FISH 技术提供的信息,发现氨氧化菌在 TNCU-I RBC 生物膜、TNCU-I RBC 活性污泥、$A^2O$ 系统中的比率是 10.3%、13.7%和 5.2%,高于亚硝化菌在系统中 2.5%、3.6%和 2.3%的比率。其结果表明,氨氧化菌在 TNCU-I 系统中是 $A^2O$ 系统中的 3.2 和 2.6 倍;氮的氧化速率是亚硝酸盐氧化速率的 2.9 倍。

### 2.3 硝化细菌种群动态性分析研究

多个样品的同时分析是 DGGE 技术研究微生物生态的一大优势,可用于监测反应器运行过程微生物种群动态变化。

Boon 等[18]利用 DGGE 分析两个平行反应器对抗氯苯胺冲击时活性污泥微生物相的动态变化,接种有 3-CA 降解菌的生物强化反应器,其微生物种群结构稳定,氨氧化菌的活性、丰度至第 4 天即开始恢复,而对照反应器运行至第 12 天仍未见任何恢复迹象。

胡宝兰等[19]采用城市污水处理厂活性污泥接种,通过培育硝化污泥,进行了启动厌氧氨氧化(*Anammox*)反应器的试验,并运用 PCR-DGGE 技术对启动过程中细菌种群变化作了跟踪研究。结果表明,通过反应器运行条件的控制,硝化生物膜可从进行好氧氨氧化反应过渡到进行厌氧氨氧化反应。在此过程中,异养型细菌的数量大幅度下降,硝化细菌、反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌的数量均有不同程度的增加,这些菌群数量的增加与反应器效能的提高相吻合,推测它们都与厌氧氨氧化作用有关。且随着反应器运行时间的延长,菌群发生明显变化并呈现简化趋势。

王峰等[20]对于化学生物絮凝处理工艺中悬浮填料塔的氨氧化细菌(AOB)群落进行了研究。主要考察了曝气强度和水力停留时间 2 个运行参数调整的情况下,系统 AOB 群落结构的变化。生物膜样品直接取自硝化填料塔,多维尺度(MDS)方法用于 DGGE 电泳图谱的分析,分析结果以二维图形向量的方式显示,结果表明,曝气强度和水力停留时间均对 AOB 群落有一定的影响,主要的 AOB 种类在运行过程中基本不变,系统对于运行条件具有良好的稳定性。

为了揭示生物陶粒硝化反应器中活性污泥的微生物种群多样性,从运行不同时期的反应器中提取活性污泥,苏俊峰等[21]利用 PCR-DGGE 技术初步分析了生物陶粒反应器细菌的种群演替情况。结果表明,随着进水 COD 值的逐阶段降低,氨氮去除率逐步提高到 64.38%,群落结构和优势种群的数量具有时序动态性,微生物多样性与废水处理效果出现协同变化特征。测序结果表明,生物陶粒反应器中运行第 21 天的优势种群除了自养细菌,还有异养细菌存在,其中自养细菌为 *Nitrosospira*. *sp* 和 *Nitrobacter*. *sp*,异养细菌为 *Bacillus*. *sp*、*Pseudomonas*. *sp* 和 *Pseudochrobactrum*. *sp*。

PCR 定量分析技术作为一种核酸定量的手段,能通过量化微生物群落的组成,确定群落的优势类群,或具有某种生物学功能微生物类群的丰度。Aoi 等[22]利用 real-time 反转录技术测定 amoA mRNA 的水平,并与氨氧化过程的功能活性研究结合起来,结

果表明两者之间具有良好的相关性，硝化系统在受到外界因素影响后，mRNA 水平变化相当显著，测定方法显示了很好的敏感性。

Harms 等[23]利用 real-time PCR 方法系统测定了一座城市污水处理厂活性污泥中的硝化细菌和氨氧化基因水平长期的变化特征，且较为系统地优化和总结了针对污水处理系统中硝化细菌群落的定量测定方法。在周期 1 a 的运行期间，揭示了不同季节变化对于氨氧化细菌和亚硝酸氧化细菌的影响。研究中还基于测定的硝化细菌密度计算了系统硝化活性的变化。

Park 等[24]利用 FISH 技术研究了溶解氧对活性污泥中氨氧化菌群结构的影响。Tanaka 等[25]也利用 FISH 技术分析了投加悬浮生物膜载体的活性污泥系统中氨氧化菌群和硝酸盐氧化菌群的活性和群落机构特性的变化规律。

## 3 展 望

国内对于硝化细菌的研究大部分仍停留在菌种的分离、纯化和生理生化特性等方面的基础研究阶段，对硝化细菌生理生化特性等方面了解不多，与实际应用的要求还有较大的距离。近年来分子生物学得到了快速发展，这些新兴技术弥补了传统方法的不足，在废水治理以及菌群监测中发挥了重大作用，使得研究人员对硝化细菌群有了崭新的认识，并取得了可喜的成绩：①可以确定硝化过程中的优势菌群，鉴定出担负不同功能的菌种类型；②能够探明各菌种的结构与分布情况；③能够跟踪硝化细菌群落的动态变化，很好地了解群落的动态过程。所有的这些成果将为提高污水的脱氮处理效率提供更好的理论基础。

## 参考文献：


[1] KOWALCHUK G A, STEPHEN J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology [J]. Annu Rev Microbiol, 2001, 55: 485-529.

[2] BORNEMAN J, HARTIN R J. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66 (10): 4356-4360.

[3] 孙寓娇，王勇，黄霞. 荧光原位杂交技术在环境微生物生态学解析中的应用研究[J]. 环境污染治理技术与设备，2004，5(11)：14-20.

[4] 刘志培. 现代微生物学[M]. 北京：科学出版社，2002.

[5] BOURRAIN M, ACHOUAK W, URBAN V, et al. DNA extraction from activated sludge [J]. Curr Microbiol, 1999, 38(6): 315-319.

[6] 许玫英，曾国驱，任随周，等. 分子检测技术对活性污泥中氨氧化细菌的比较研究[J]. 微生物学报，2003，43(3)：371-378.

[7] PYNAERT K, SMETS B F, BEHEYDT D, et al. Start-up autotrophic nitrogen removal reactor via sequential biocatalyst addition[J]. Environ Sci Technol, 2004, 38: 1228-1235.

[8] TSUNEDA S, TATSUO N, HOSHINO T, et al. Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor[J]. Wat Res, 2003, 37: 4965-4973.

[9] PHILIPS C J, HARRIS D, DOLLHOPF S L, et al. Effects of agronomic treatments on structure and function of ammonia-oxidizing communities[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 5410-5418.

[10] BOON N, WINDT W D, VERSTRAETE W, et al. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2002, 39: 101-112.

[11] 张丽娜，曹慧，崔中利，等. 红壤荒草地氨氧化细菌富集液 16SrDNA 文库的 RFLP 分析[J]. 土壤学报，2006，43(4)：635-641.

[12] 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.

[13] JANG A, YOON Young-Han. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 105: 71-82.

[14] 谢冰，徐华，许亚同. 荧光原位杂交法在活性污泥硝化细菌检测中的应用[J]. 上海环境科学，2003，22(5)：363-365.

[15] 孙寓娇，左剑恶，杨洋，等. 好氧亚硝化颗粒污泥中硝化细菌群落结构分析[J]. 环境科学，2006，27(9)：1858-1861.

[16] JURETSCHKO S, LOY A, LEHNER A, et al. The microbial community composition of a nitrifying-denitrifying activated sludge from an industrial sewage treatment plant analyzed by the full-cycle rRNA approach[J]. Systematic Appl Microbiol, 2002, 25: 84-99.

[17] YOU S J, HSU C L, CHUANG S H, et al. Nitrification efficiency and nitrifying bacteria abundance in combined AS-RBC and $A^2O$ system[J]. Water Research, 2003, 37: 2281-2290.

[18] BOON N, TOP E M, VERSTRAETE W, et al. Bioaugmentation as a tool to protect the structure and function of an activated-sludge microbial community against a 3-chloroaniline shock load[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69: 1511-1520.


(下转第 56 页)

般在 7.5 以上。在所测定的 78 组样品中，大部分水样的 pH 值范围在 7.2 ~ 8.9 之间；②$\rho(F^-)$变化也比较大，分布范围在 0.2 ~ 3.2 mg/L 之间，两者之间并不存在明显的正相关关系，而 $\rho(F^-)$与矿化度呈近似的正相关关系，一般随着矿化度的增加，水中的 $\rho(F^-)$也增大，但这种趋势并不明显，尤其在矿化度大于 1.5 g/L 的情况下 $\rho(F^-)$极不稳定，其范围为 0.15 ~ 2.89 mg/L。这反映了在碱性水体中影响 $F^-$ 稳定存在的因素很多，不但与矿化度有关，也与硬度、$Na^+$、$Ca^{2+}$ 等有关系。

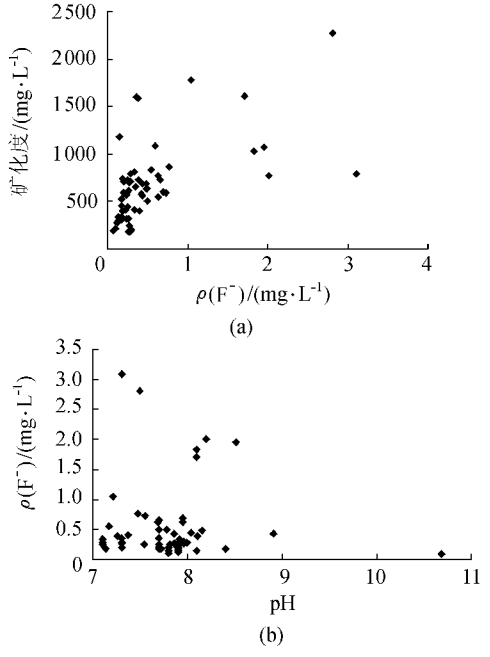


图 6　$\rho(F^-)$与 pH 及矿化度的关系

总结研究成果[7]，可以得出在同等矿化度条件下，硬度越高，$\rho(Ca^{2+})$越大，$\rho(F^-)$越小。而产生这种规律的原因主要在内陆流域高硬度的水环境下，一方面水中 $F^-$ 易与 $Ca^{2+}$ 结合形成难溶于水中 $CaF_2$，降低了水中 $F^-$ 浓度；另一方面，高硬度水质限制了水体对周围岩体中富氟矿物的溶解能力。

## 4　结　语

a. 地处干旱区内陆平原河西走廊的张掖市甘州区，由于其周围发育水系的山体广泛分布着富氟矿物，因此具有丰富的氟物质来源。这些氟物质以离子形式溶于水体，随水流被迁移到细土平原带，并且在强烈蒸发浓缩、温度和其他化学作用等作用下富集，至使浅层地下水中氟离子呈现出从山前冲洪积平原到细土平原带逐渐升高的趋势，而在径流条件好、速度快的深层地下水中氟离子浓度变化不明显。在垂向分布上，氟离子浓度呈现出随深度的增加而逐渐减小的特点。

b. 张掖甘州区浅层地下水化学具有明显的分区特征。$F^-$ 较容易溶解和富集在弱碱性的 $SO_4$-Cl-Na-Mg 型水中。而矿化度对 $F^-$ 影响不明显，尤其是在高矿化度的情况下，$\rho(F^-)$极不稳定。

c. 张掖市甘州区的高氟水分布在北山前戈壁带与细土平原交界一带，而充分利用当地深层地下水氟含量较低这一特点，取用深层地下水应是解决当地高氟区水质性缺水的有效手段。

## 参考文献：


[1] 蒋辉. 环境水文地质学[M]. 北京：中国环境科学出版社，1993：16-27.

[2] 高前兆，李福兴. 黑河流域水资源合理开发利用 [M]. 兰州：甘肃科学技术出版社，1990：50-51.

[3] 张光辉. 西北内陆黑河流域水循环与地下水形成演化模式[M]. 北京：地质出版社，2005：120-126.

[4] 甘肃省水文队. 中华人民共和国综合水文地质说明书(1∶20 万，张掖幅)[R]. 兰州：甘肃省水文队，1984，54-86.

[5] 张锦波. 包头市及近郊潜水氟成因类型的初步探讨[C]//地矿部水文地址工程地质研究所. 环境水文地质理论及方法研究. 北京：地质出版社，1987：180-181.

[6] 王根绪、程国栋. 西北干旱区水中氟的分布规律及环境特征[J]. 地理科学. 2000，20(2)：153-158.

[7] 杨忠耀. 氟病水文地球化学成因类型的划分[C]//地矿部水文地质与工程地质研究所. 环境水文地质理论及方法研究. 北京：地质出版社，1987：32-37.


(收稿日期：2007-07-30　编辑：高渭文)

(上接第 16 页)


[19] 胡宝兰，郑平，胡安辉，等. Anammox 反应器的启动及其菌群演变的研究[J]. 农业工程学报，2005，21(7)：107-110.

[20] 王峰，夏四清，史妍，等. 硝化悬浮填料塔中氨氧化细菌群落稳定性特征分析[J]. 环境工程，2006，24(3)：10-12.

[21] 苏俊峰，马放，王弘宇，等. 利用 PCR-DGGE 技术分析生物陶粒硝化反应器中微生物群落动态[J]. 环境科学学报，2007，27(3)：386-390.

[22] AOI Y，MASAKI Y，YAMAZAKI S，et al. Quantification analysis of amoA mRNA expression as a new biomarker of ammonia oxidation activities in a complex microbial community [J]. Lett Appel Microbiol，2004，39(6)：477-482.

[23] HARMS G，LAYTON A C，DIONISI H M. Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant[J]. Environ Sci Techno，2003，37(2)：343-351.

[24] PARK H D，NOGUERA D R. Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacteria communities in activated sludge[J]. Water Res，2004，38：3275-3286.

[25] TANAKA J，SYUTSRBO K，WATANABE K，et al. Activity and population structure of nitrifying bacteria in an activated-sludge reactor containing polymer beads [J]. Environ Microbiol，2003，5(4)：278-286.


(收稿日期：2007-09-19　编辑：高渭文)