

贵州阿哈湖沉积物中硫酸盐还原菌的时空分布特征

张 伟^{1 2}

(¹ 贵州师范学院 地理与旅游学院, 贵州 贵阳 550018; ² 中国科学院 地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550081)

摘要: 利用 PCR 扩增和荧光原位杂交方法对贵州阿哈湖沉积物中硫酸盐还原菌 (Sulfate-reducing bacteria, SRB) 类群和数量的时空分布特征进行了分析。结果表明, 秋季沉积物中检测出四个 SRB 类群 (脱硫肠菌属、脱硫叶菌属、脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属和脱硫弧菌属—脱硫微菌属), 而春季沉积物中只检测出三个类群 (脱硫肠菌属、脱硫叶菌属和脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属)。相比秋季, 春季沉积环境溶解氧含量较高, 且温度较低, 这可能导致脱硫弧菌属—脱硫微菌属在春季沉积物中处于不可育状态, 由于其活性低而无法检测。秋季沉积物检测出来的 SRB 类群相比春季沉积物具有更大的分布范围, 同时, 秋季沉积物 SRB 数量总体上高于春季沉积物, 上述结果指示秋季沉积物环境条件更适于 SRB 群落。

关键词: 硫酸盐还原菌; 时空分布; PCR 扩增; 荧光原位杂交; 阿哈湖

中图分类号: Q 178; P 272 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2016)01-0057-07

The vertical and temporal distributions of sulfate-reducing bacteria in sediments of Lake Aha

ZHANG Wei^{1 2}

(¹ School of Geography and Tourism, Guizhou Normal College, Guiyang 550018, China; ² State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: The distribution of sulfate-reducing bacteria (SRB) in the sediments of Lake Aha was analyzed based on evaluation of the presence and quantity of six main groups of SRB in sediments collected during spring and autumn. The results show that four SRB groups (*Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus*–*Desulfonema*–*Desulfosarcina* and *Desulfovibrio*–*Desulfomicrobium*) are present in autumn, while only three groups (*Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus* and *Desulfococcus*–*Desulfonema*–*Desulfosarcina*) are detected in spring. Compared with the autumn of Lake Aha, sediments in spring have relatively high dissolved oxygen contents and low temperature, which may lead to the inactive status of *Desulfovibrio*–*Desulfomicrobium* in the sediments and then the *Desulfovibrio*–*Desulfomicrobium* is undetectable due to its low activity. The distribution of each SRB group is wider in sediments collected in autumn than in spring, and they show a greater overall presence and quantity in autumn than in spring. These findings indicate that the environmental conditions in autumn are more suitable for SRBs.

Keywords: sulfate-reducing bacteria; vertical and temporal distribution; PCR; FISH; lake Aha

0 引言

湖泊是人类生活和工农业生产所需淡水的重要来源,其水环境质量是影响人类生命健康的重要因素。随着社会经济的不断发展,矿山开发、工农业和生活废污水排放等各种人为活动对湖泊环境的影响日益突出。阿哈湖是位于贵阳市西南郊约 8 km 的一个底层滞水季节性缺氧的人工水库。汇水区域内分布有大小煤矿 200 余个,大量酸性矿坑废水长期入湖,下游又接纳生活污水,导致阿哈湖呈现重金属、营养盐和硫酸盐复合型污染的水体环境^[1]。岩溶地区湖泊具有强烈的酸缓冲能力,仅在煤矿废水污染下,微量金属元素易与还原态硫化物结合而固定在沉积物中,但在持续有机污染输入的情况下,则可能改变沉积物的氧化还原环境,容易使一些有害金属活化,重新迁移并造成严重的“二次污染”问题,严重威胁到湖泊/水库的水质安全^[2]。

硫酸盐还原菌(Sulfate-reducing bacteria, SRB)是一大类厌氧菌,不同的 SRB 类群具有不同的生理生化和系统发育特征^[3]。由于这些生理生化和系统发育的多样性,SRB 栖息于不同的环境介质,其驱动的硫酸盐还原反应是湖泊环境中 SO_4^{2-} 的主要清除机制,主要发生在水—沉积物界面及以下深度的沉积物厌氧环境^[4],对湖泊环境碳和硫的循环起着重要作用^[5]。另外,硫酸盐还原反应生成的硫化物可以和溶解态金属离子结合形成不溶性金属沉淀,所以 SRB 在污染水体和沉积环境的生物修复方面也发挥重要作用^[6-11]。然而,SRB 分布受环境因子如 SO_4^{2-} 浓度、有机质含量、温度、溶解氧水平以及局部小生境微生物群落组成的影响^[10-12],因此,要探究硫酸盐还原过程与湖泊水质变化之间的内在联系,有必要分析 SRB 的时空分布情况。本研究主要利用 PCR 扩增和荧光原位杂交技术(Florescence In Situ Hybridization, FISH)分析了阿哈湖沉积物中 SRB 的类群和数量的时空分布特征。

1 材料与方法

1.1 研究区和样品采集

阿哈湖位于贵州省贵阳市西南郊,于 1958 年建

坝,1960 年蓄水,海拔 1 108 m,流域汇水面积约 190 km^2 ,湖水面积约 3.4 km^2 ,平均水深为 13 m,最大水深接近 25 m,水输送通量为 $1.04 \times 10^8 \text{ m}^3$,湖水寄宿时间为 0.44 a^[1]。汇水区域分布有二叠系灰岩及煤系地层,其上覆盖有硅铝质和硅铁质黄壤,部分地区有三叠系碳酸盐类岩石及泥页岩出露,并发育有黑色、黄褐色石灰土^[13]。湖泊周围为疏林植被,灌草丛较多,流域年均降水量 1 109 mm,年均气温 15.3 $^{\circ}\text{C}$ 。

本次研究选择阿哈湖大坝处(26°32'24.03"N, 106°38'51.94"E)沉积物为研究对象,是由于该处为各处水流交汇区域,具有煤矿废水与生活污水复合污染的综合特征。采用便携式不扰动湖泊沉积物采样器^[14],于 2013 年 5 月和 10 月在阿哈湖大坝附近位置采集春季和秋季沉积物样品(表 1)。采集的沉积物柱有清晰的沉积物—水界面,沉积物未被扰动。沉积物柱上部 0.5 cm 呈现棕黄色粗颗粒状,代表水体的悬浮层,指示水体颗粒物的悬浮沉积过程,0.5 cm 以下有约 1.0 cm 厚浅灰色的含不规则矿物结核的亚扩散层,再往下至约 11 cm 深度是黑色沉积物掺杂一些棕褐色的斑点,12~21 cm 为灰黄色沉积物,21 cm 以下深度以黑色沉积物为主。沉积物柱在 5~15 cm 深度范围有气泡出现,反映了湖泊沉积环境早期成岩过程中的有机质分解。沉积物柱芯现场在自制氮气手套箱(持续通 N_2)中按 1 cm 间隔取样,沉积物—水界面的水样品也同步收集。

表 1 阿哈湖采集的沉积物样品的描述

Table 1 Descriptions of sediment cores of Lake Aha

样品编号	春季	秋季
采样日期 / YY / MM / DD	13 / 05 / 05	13 / 10 / 04
水深 / m	17	17
沉积物柱 / mm	280	290

1.2 环境参数分析

沉积物—水界面的水样品的温度、pH 值和溶解氧含量用便携式水质参数仪(WTW, pH3210/Cond 3210, 德国)现场分析。

1.3 SRB 类群的 PCR 扩增

1.3.1 参考菌株

利用分子生物学方法对 SRB 16SrDNA 特异性

序列进行分析,可将 SRB 分为六大类群^[15]: 脱硫肠菌属(类群 1) (*Desulfotomaculum*,DFM)、脱硫叶菌属(类群 2) (*Desulfobulbus*,DBB)、脱硫杆菌属(类群 3) (*Desulfobacterium*,DBM)、脱硫细菌属(类群 4) (*Desulfobacter*,DSB)、脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属(类群 5) (*Desulfococcus-Desulfonema-Desulfosarcina*,DCC-DNM-DSS) 和脱硫弧菌属—脱硫微菌属(类群 6) (*Desulfovibrio-Desulfomicrobium*,DSV-DMB)。本研究中将以下菌株作为六大 SRB 类群的阳性控制菌株,分别为: *Desulfotomaculum nigri-ficans* NCIMB 8395(类群 1); *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032(类群 2); *Desulfobacterium autotrophicum* DSM 3382(类群 3); *Desulfobacter curvatus* DSM 3379(类群 4); *Desulfovibrio desulfuricans* DSM 642(类群 5); *Desulfosarcina variabilis* DSM 2060(类群 6)。大肠杆菌 *E coli* ATCC 8099 作为阴性控制菌株^[12]。

1.3.2 DNA 提取与纯化

取 0.1 g 沉积物样品溶解在 500 μL 灭菌去离子水,于 1.5 mL 离心管中 12 000 rpm 离心 10 min,弃上清,加入 1 000 L STE (0.1 M NaCl,10 mM Tris-HCl,1 mM EDTA)。随后沉积物 DNA 用 Fast DNA

SPIN kit (Bio101) 试剂盒提取和纯化,用同样的方法提取参考菌株的 DNA。提取出来的 DNA 样本进行含量和纯度分析。将 DNA 标本用 TE 稀释 100 倍,以 TE 缓冲液作为空白调零,利用紫外—可见分光光度仪测定样本的 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀。根据 1 OD₂₆₀ 相当于 50 ng/μL DNA 计算出各个样品 DNA 含量,并将其稀释至 50 ng/μL。同时计算出 OD₂₆₀/OD₂₈₀, 比值介入 1.8-2.0 为合格。

1.3.3 PCR 扩增

DNA 纯化后,用针对六大 SRB 类群特异性 16S rDNA 序列设计的引物进行 PCR 扩增^[15]。采用 PCR 热启动程序,共包含 30 个循环(表 2)。每个 PCR 管(50 μL) 包含 5 μL 10 × PCR 缓冲液,5 μL MgCl₂(25 mM),上下游引物各 2 μL(10 pmol/μL),4 μL dNTP (2.5 mM),2 μL Taq 聚合酶(1 U/μL),4 μL DNA 模板(50 ng/μL) 和 26 μL 灭菌去离子水。PCR 扩增产物用 1.5%(w/v) 琼脂糖凝胶电泳后在凝胶成像仪中分析并拍照。通过与 DNA 标志物比对,以待测样品和阳性对照有特异性目的条带出现,而阴性对照无特异性目的条带出现,判断为待测样品中有该类群 SRB 存在。

表 2 六大 SRB 类群的 PCR 循环条件

Table 2 The PCR reaction condition of six SRB groups

硫酸盐还原菌	预变性		变性		退火		延伸		最后一次延伸	
	温度/℃	时间/min	温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/min
类群 1	95	5	95	60	55	60	72	90	72	5
类群 2	95	5	95	30	52	30	72	90	72	7
类群 3	94	5	94	45	52	40	72	50	72	5
类群 4	95	5	95	60	55	60	72	60	72	5
类群 5	94	5	94	50	58	45	72	50	72	7
类群 6	95	5	95	60	52	60	72	60	72	5

1.4 荧光原位杂交技术分析 SRB 数量

1.4.1 寡核苷酸探针

检测 SRB 的通用探针为 SRB385(序列为: 5' CGG CGT CGC TGC GTC AGG 3')^[16], 阴性对照探针为 NON338(序列为: 5' ACT CCT ACG GGA GGC AGC 3')^[17], 同一样品杂交细胞计数结果由 SRB385 探针计数的信号减去 NON338 探针计数的

信号为最终结果。上述探针由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,采用 5' 端 Cy3 标记。

1.4.2 参考菌株

阳性控制菌株为 *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032, 阴性控制菌株为 *E Coli* ATCC 8099。

1.4.3 样品预处理与固定

取 0.1 g 新鲜沉积物样品加入适量 PBS(0.13 M NaCl,7 mM Na₂HPO₄,3 mM NaH₂PO₄,pH 7.2)

中 漩涡震荡混匀, 10 000 rpm 离心 10 min 弃上清, 重复 3 次; 随后加入适量 PBS(pH7. 2) 稀释。样品混匀后, 取 0. 1 g 均匀涂布于多聚赖氨酸包被的玻璃片上, 空气干燥 30 min; 在 4 % 多聚甲醛磷酸盐缓冲液中室温固定 20 min, PBS(pH7. 2) 洗涤 5 min, Milli-Q 超纯水洗涤 5 min, 空气干燥; 湿盒中用 2 mg/ml 溶菌酶 32 °C 处理 10 min, PBS(pH7. 2) 洗涤 5 min, Milli-Q 超纯水洗涤 5 min, 空气干燥; 分别用 50 %、80 % 和 96 % 乙醇固定 3 min, 空气干燥。

1. 4. 4 荧光原位杂交反应与镜检

取 27 μ L 荧光原位杂交缓冲液(0. 9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0. 01 % SDS, 25 % 甲酰胺, pH 7. 2) 和 3 μ L 探针(25 ng / μ L) 混匀, 并点到样品上, 湿盒中 46 °C 杂交 2 h; 洗涤缓冲液(54 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 0. 01 % SDS, 5 mM EDTA, pH 7. 2) 50 °C 洗涤 30 min, Milli-Q 超纯水中漂洗, 空气干燥, 封片。用 Nikon Eclipse 80i 落射荧光显微镜进行 SRB 镜检, 计数发红色荧光的菌体为 SRB。采用 Nikon NIS Elements AR 荧光成像分析软件进行拍照和计数。

1. 4. 5 自发荧光

沉积物中有大量的自发荧光物质, 波长主要在 520~580 nm, 自发荧光物质可能是纤维性或颗粒状物, 在光镜下无原核生物的菌体形态^[18]。观察时如果怀疑为自发荧光物质, 可以根据荧光的颜色和普通光学显微镜下进一步观察发光物的形态来进行鉴别, 以减少特异性荧光检测的干扰。

2 结果与讨论

2. 1 SRB 类群的时空分布

从沉积物样品中扩增出四个 SRB 类群(图 1 和表 3), 即脱硫肠菌属、脱硫叶菌属、脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属和脱硫弧菌属—脱硫微菌属。脱硫杆菌属和脱硫细菌属没有检出。不同的 SRB 类群有不同的时空分布。脱硫肠菌属主要分布在沉积物中部, 脱硫叶菌属主要分布在上层和中层沉积物中, 脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属在春季沉积物样品中主要分布在上层, 在秋季沉积物样品中主要分布在上层和下层。脱硫弧菌属—脱硫微菌属在秋季沉积物样品中分布广泛。

表 3 SRB 类群在阿哈湖春季和秋季沉积物中的分布

Table 3 The distributions of SRB groups in sediments of spring and autumn of Lake Aha

Depth /mm	DFM		DBB		DBM		DSB		DCC-DNM-DSS		DSV-DMB	
	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋
	0	+	+	+							+	
10	+	+	+							+	+	+
20	+	+	+							+	+	+
30	+	+	+							+	+	+
40	+		+							+	+	+
50	+									+		+
60	+		+	+						+		+
70	+		+	+						+		+
80	+	+	+	+							+	+
90	+	+	+							+	+	+
100	+	+	+	+						+	+	+
110	+	+		+						+	+	+
120	+		+								+	+
130	+	+	+									+
140	+	+	+									+
150	+	+									+	
160	+	+	+	+							+	+
170	+	+	+	+							+	+
180	+	+	+	+							+	+
190	+		+	+								+
200	+	+		+								
210	+		+								+	+
220	+	+		+							+	+
230	+	+		+							+	+
240	+										+	+
250	+											+
260												+
270												+
280												+
290												+

注: DFM 代表脱硫肠菌属; DBB 代表脱硫叶菌属; DBM 代表脱硫杆菌属; DSB 代表脱硫细菌属; DCC-DNM-DSS 代表脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属; DSV-DMB 代表脱硫弧菌属—脱硫微菌属。

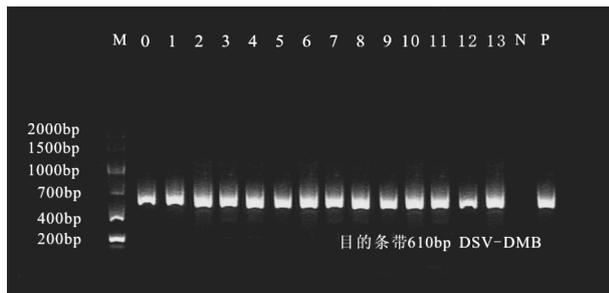


图1 阿哈湖秋季沉积物样品中脱硫弧菌属—脱硫微菌属的PCR扩增代表图(目的条带为610 bp, M为DNA标志物, 0-13代表沉积物深度(cm), N代表阴性控制, P代表阳性控制)
Fig.1 Representative PCR amplifications of Desulfovibrio-Desulfomicrobium in Autumn sediment of Lake Aha (Targeted band: 610 bp, M: DNA Ladder; Lanes 0-13 correspond to sediment depths; N, negative control; P, positive control)

阿哈湖沉积物中检测的SRB类群不同与具有相似地质和气候特征的贵州红枫湖沉积物中SRB类群的检测结果^[19]。红枫湖沉积物中检测出脱硫杆菌属、脱硫细菌属、脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属和脱硫弧菌属—脱硫微菌属。阿哈湖沉积物中SRB类群主要分布在230 mm以上深度,而红枫湖沉积物中SRB类群主要分布在70 mm以上深度,指示阿哈湖沉积物中SRB具有更大的活性。阿哈湖和红枫湖沉积物中SRB不同的类群分布可能与两个湖泊不同的环境条件有关(如阿哈湖酸矿废水的输入)。

从季节对比来看,春季沉积物中SRB类群主要分布在230 mm以上,秋季沉积物中SRB类群主要分布在250 mm以上。每一个检测出来的SRB类群都主要分布在沉积物柱芯的上层,同时,不同的SRB类群具有不同的时间和深度分布特征。一些SRB类群在一定的季节和深度范围内占优势,如脱硫肠菌属和脱硫叶菌属在春秋季节沉积物中分布在上层和下层沉积物中,脱硫球菌属—脱硫线菌属—脱硫八叠菌属春季时分布在上层沉积物中,在秋季时分布在上层和下层沉积物中。脱硫弧菌属—脱硫微菌属在秋季沉积物中具有广泛的分布范围。总体来看,每个SRB类群在秋季的分布范围要大于在春季的分布范围,这指示秋季沉积物的环境条件更适于SRB类群的存活。

研究表明,自然生境中少于1%的总的原核生物数量能够获得纯培养,一个重要的原因是自然生境中很多微生物可以随着环境条件的变化而处于不可育状态^[20],处于该状态的微生物通常无繁殖活

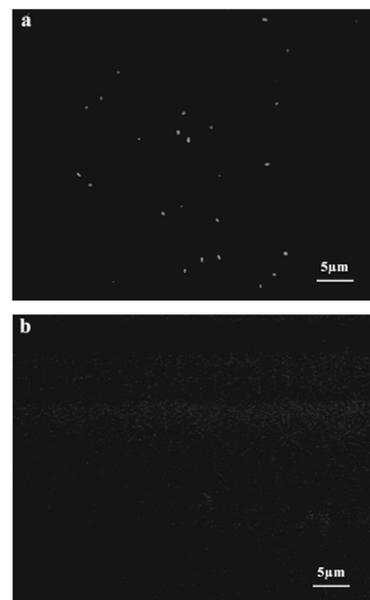
性,DNA含量非常低,类似医学微生物的“可见不可育状态”,其机理还不清楚。据此分析,洱海秋季沉积物样品中检测到了脱硫弧菌属—脱硫微菌属,而春季沉积物样品中没有检出这个类群,指示脱硫弧菌属—脱硫微菌属在春季的沉积环境中可能处于不可育状态,活性低以致无法检测出来。许多研究表明多数SRB是严格厌氧和嗜温的,包括脱硫弧菌属菌株^[12]。从表4可以看出,相比秋季,春季沉积物—水界面溶解氧含量高而温度低,这可能导致脱硫弧菌属—脱硫微菌属在春季沉积环境中为不可育状态而无法检测^[12]。

表4 阿哈湖沉积物—水界面水温度、pH值和溶解氧含量
Table 4 The temperature, pH and dissolved oxygen of water samples in Lake Aha

季节	温度/°C	pH值	溶解氧/mg/L
春季	13.8	7.3	7.5
秋季	23.2	7.5	0.9

2.2 荧光原位杂交检测的SRB数量

荧光原位杂交(Florescence In Situ Hybridization, FISH)是一种免培养的检测具有特定环境功能细菌的技术,被广泛用于分析自然生境中的SRB数量^[21-22]。本研究沉积物样品中与SRB385探针杂交的细胞可见明显的荧光信号,指示样品中丰富的rRNA含量。阳性控制菌株可见明显的荧光信号,而阴性控制菌株与SRB385探针不发生反应而没有荧光信号(图2)。





(a. 阳性控制菌株; b. 阴性控制菌株; c. 沉积物样品)

图 2 阿哈湖秋季沉积物样品与 SRB385 探针杂交细胞的荧光原位杂交代表图

(a. *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032; b. Negative control; c. Sediment sample)

Fig. 2 Representative FISH analyses conducted using probe SRB 385 in sediments of Autumn of Lake Aha

在春季采集的沉积物样品中,SRB 主要分布在 0~240 mm,250~280 mm 接近不可检测(图 3)。SRB 数量从不可检测到 34.39×10^4 cells/g 湿沉积物范围之内变化,最高值出现在 80 mm 深度。在秋季采集的沉积物样品中,SRB 主要分布在 0~250 mm,260~290 mm 未检测到 SRB。SRB 数量从不可检测到 26.23×10^4 cells/g 湿沉积物范围之内变化,最高值出现在 90 mm 深度。综合来看,SRB

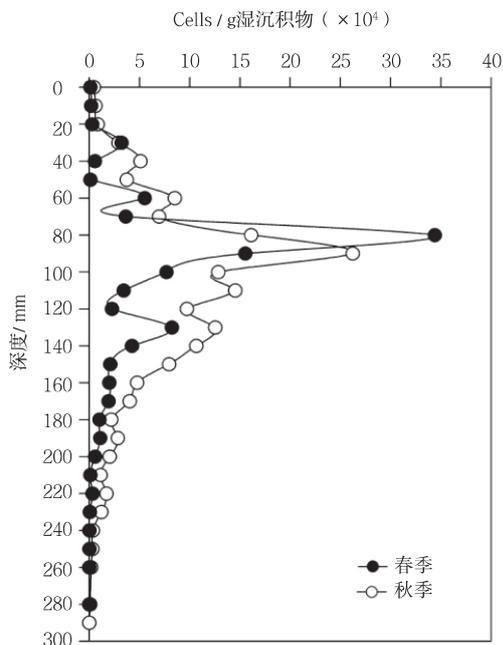


图 3 阿哈湖沉积物中 SRB 数量的时空分布

Fig. 3 Vertical and temporal variation of SRB quantity in the sediments of Lake Aha

数量从沉积物表层向下逐渐增加,在 80 mm 深度(春季)和 90 mm 深度(秋季)达到最大值,之后随沉积深度加深 SRB 数量逐渐减小。表层沉积物 SRB 数量低可能与表层沉积物存在较低浓度的溶解氧,这不利于厌氧的 SRB 生存有关,深层沉积物 SRB 数量的减小可能与较低的有机碳和 SO_4^{2-} 含量有关^[10-12]。在沉积物柱芯 50~150 mm 深度范围观测到气泡出现,这指示有机质分解主要发生在 150 mm 以上的深度范围。

总体来看,阿哈湖秋季沉积物中 SRB 类群与数量高于春季沉积物中 SRB 类群和数量,这可能与湖泊沉积物—水界面环境参数(如温度、溶解氧)的季节性差异有关^[23-24]。如表 4 所示,相比春季,秋季沉积物—水界面一些环境参数(较高的温度和较低的溶解氧含量)更适于 SRB 生长和繁育。另外,SRB 数量的最大峰值出现在不同深度,并且,春季沉积物 80 mm 深度的 SRB 数量高于秋季沉积物 90 mm 深度的 SRB 数量,这指示影响沉积物中 SRB 群落变化的因素是复杂的。

3 结论

利用 PCR 扩增和 FISH 技术对阿哈湖沉积物中 SRB 类群和数量的分析显示,SRB 类群和数量分布具有明显的季节和垂直深度的变化,这种时空分布的差异可能与一些环境因子(如 SO_4^{2-} 含量、有机碳源类型及其可利用性、溶解氧水平、温度等)的季节和深度变化有关。总体来看,阿哈湖秋季沉积物 SRB 类群和数量均多于春季沉积物样品,指示秋季沉积环境更适于 SRB 存活。另外,春季沉积环境溶解氧含量较高,且温度较低,这可能导致脱硫弧菌属—脱硫微菌属在春季沉积物中处于不可育状态,由于其活性低而无法检测。

参考文献【REFERENCES】

[1] 汪福顺. 季节性厌氧湖泊微量金属元素的界面地球化学行为[D]. 贵阳:中国科学院地球化学研究所博士学位论文,2003:1-147.

WANG F S. The geochemical activities of trace metal elements in the interface of seasonal anaerobic lakes [D]. Guiyang, A Dissertation Submitted to The University of Chinese Academy of Sciences For the degree of Doctor of Natural Science, 2003: 1-147.

[2] 汪福顺,刘丛强,梁小兵,等. 贵州阿哈湖沉积物—水界面微生物活动及其对微量元素再迁移富集的影响[J]. 科

学通报 2003 48(19):2073-2078.

WANG F S ,LIU C Q ,LIANG X B ,et al. Remobilization of trace metals induced by microbiological activities near sediment-water interface ,Aha Lake ,Guiyang [J]. Chinese Science Bulletin , 2003 48(19):2073-2078.

[3] Mubmann M ,Ishii K ,Rabus R ,et al. Diversity and vertical distribution of cultured and uncultured Deltaproteobacteria in an intertidal mud flat of the wadden sea [J]. Environmental Microbiology 2005 7(3):405-418.

[4] 吴丰昌 ,万国江 ,黄荣贵 ,等 . 湖泊水体中硫酸盐增高的环境效应研究 [J]. 环境科学学报 ,1998 ,18(1):28-33.

WU F C ,WAN G J ,HUANG R G ,et al. Study on the environmental effects for the increase of sulfate concentrations in lakes [J]. Acta Scientiae Circumstantiae ,1998 ,18(1):28-33.

[5] HAO O J ,CHEN J M ,HUANG L ,et al. Sulfate-reducing bacteria [J]. Critical Reviews in Environmental Sciences and Technology ,1996 26:155-187.

[6] Franzmann P D ,Robertson W J ,Zappla L R ,et al. The role of microbial populations in the containment of aromatic hydrocarbons in the subsurface [J]. Biodegradation 2002(13):65-78.

[7] Kleikemper J ,Pelz O ,Schroth M H ,et al. Sulfate reducing bacterial community response to carbon source amendments in contaminated aquifer microcosms [J]. FEMS Microbiology Ecology 2002(42):109-118.

[8] Janssen G M ,Temminghoff E J. In situ metal precipitation in a zinc-contaminated aerobic sandy aquifer by means of biological sulfate reduction [J]. Environmental Science and Technology 2004(38):4002-4011.

[9] Devereux R ,Hines M E ,Stahl D A S. cycling: Characterization of natural communities of sulfate-reducing Bacteria by 16S rRNA sequence comparisons [J]. Microbial Ecology ,1996(32):283-292.

[10] Castro H F ,Williams N H ,Ogram A. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecology 2000(31):1-9.

[11] Garcia C ,Moreno D A ,Ballester A ,et al. Bioremediation of an industrial acid mine water by metal-tolerant sulfate-reducing bacteria [J]. Minerals Engineering 2001(14):997-1008.

[12] ZHANG W ,WANG Z L ,WANG M Y. Analyses of the vertical and temporal distributions of sulfate-reducing bacteria in Lake Erhai ,Southwest China [J]. Research Journal of Chemistry and Environment 2012 ,16(3):44-51.

[13] 宋柳霆 ,王中良 ,滕彦国 ,等 . 贵州阿哈湖物质循环过程的微量元素地球化学初步研究 [J]. 地球与环境 2012 ,40(1):9-17.

SONG L T ,WANG Z L ,TENG Y G ,et al. A primary geochemical study on trace metals during biogeochemical cycling in Aha lake ,Guizhou ,China [J]. Earth and Environment 2012 ,40(1):9-17.

[14] 王雨春 ,黄荣贵 ,万国江 . SWB-I 型便携式湖泊沉积物-界面水取样器的研制 [J]. 地球与环境 ,1998(1):94-96.

WANG Y C ,HUANG R G ,WAN G J. Development of Portable SWB-I interface water sampler in lake sediments [J]. Earth and Environment ,1998(1):94-96.

[15] Daly K ,Sharp R J and McCarthy A J. Development of oligonucleotide probes and PCR primers for detecting phylogenetic subgroups of sulfate-reducing bacteria [J]. Microbiology ,2000:146 ,1693-1705.

[16] Amann R I ,Ludwig W ,Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation [J]. Microbiological Reviews ,1995 (59):143-169.

[17] Christensen H ,Hansen M ,Sørensen J. Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization with an rRNA oligonucleotide probe [J]. Applied and Environmental Microbiology ,1999(65):1753-1761.

[18] Widdel F. Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur-reducing bacteria [A]. In Biology of Anaerobic Microorganisms [M]. New York: John Wiley & Sons. 1988:469-585.

[19] 梁小兵 ,朱建明 ,刘丛强 ,等 . 贵州红枫湖沉积物有机质的酶及微生物降解 [J]. 第四纪研究 ,2003 ,23(5):565-572.

LIANG X B ,ZHU J M ,LIU C Q ,et al. Enzymatic and microbial degradation of organic matter in lake hongfeng of Guizhou Province [J]. Quaternary Sciences 2003 23(5):565-572.

[20] Zweifel U L ,Hagström Å. Total Counts of Marine Bacteria Include a Large Fraction of Non-Nucleoid-Containing Bacteria (Ghosts) [J]. Applied Environmental Microbiology ,1995(61):2180-2185.

[21] Christensen H ,Hansen M ,Sørensen J. Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization with an rRNA oligonucleotide probe [J]. Applied and Environmental Microbiology ,1999(65):1753-1761.

[22] Purdy K J ,Nedwell D B ,Embley T M ,et al. Use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to investigate the distribution of sulphate-reducing bacteria in estuarine sediments [J]. FEMS Microbiology Ecology 2001(36):165-168.

[23] Pimenov N V ,Rusanov I I ,Karnachuk O V ,et al. Microbial processes of the carbon and sulfur cycles in Lake Shira (Khakasia) [J]. Microbiology 2003(72):221-229.

[24] Bak F ,Pfennig N. Sulfate-reducing bacteria in littoral sediment of Lake Constance [J]. FEMS Microbiology Ecology ,1991(85):43-52.

收稿日期:2015-11-30;修回日期:2015-12-02

* 基金项目:贵州省自然科学基金(黔科合J字[2014]2135),中国博士后基金面上项目(2015M572503)和贵州师范学院博士基金项目(13BS023)联合资助。

作者简介:张伟(1980-)男,博士,副教授。主要研究方向:为环境与生物地球化学,已发表中英文论文20余篇。