

沉积物中微生物资源的研究方法及其进展

屈建航 李宝珍 袁红莉*

(中国农业大学生物学院,农业部农业微生物资源及其应用重点开放实验室,北京 100094)

摘要 沉积物生境条件特殊,含有丰富的微生物资源。作为自然界物质循环的主要推动力,沉积物中的微生物在水-沉积物的物质循环中起重要作用,水质变化如污染和富营养化反过来会引起沉积物中微生物群落的改变。沉积物中微生物多样性的研究,有助于从侧面了解上覆水水质、推测其污染及演化历史。沉积物中微生物物种、基因等资源的鉴定和获得,有助于丰富当前对微生物资源的认知领域,并为其在生物技术领域的应用奠定基础。研究描述了沉积物生境的一般特点,并对沉积物中微生物的多样性、微生物种质和基因资源等几个重要方面的研究方法和进展进行了综述。沉积物中微生物的研究是生物地球化学循环研究的基础,必将受到越来越广泛的关注。

关键词 微生物;多样性;资源;沉积物;生物地球化学

文章编号:1000-0933(2007)06-2636-06 中图分类号:Q142,Q93 文献标识码:A

Methodology in studies of microbial resource in sediment

QU Jian-Hang, LI Bao-Zhen, YUAN Hong-Li*

College of Biological Sciences, Key Laboratory of Agro-Microbial Resource and Application, Ministry of Agriculture, China Agricultural University, Beijing 100094, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (6) 2636 ~ 2641.

Abstract Sediment contains the solid materials eroded, transported and deposited by different mechanisms; therefore the physical and chemical natures of sediment are strongly affected by the surrounding environments. Covered by water body, sediment is a special habitat for microbes, such as the existence of high pressure, low input of sunlight and low concentration of oxygen, etc. Diverse microorganisms live in sediment and they play important roles in the natural biochemical cycles and in the material exchanges between the water body and sediment. In contrast, the changes of water quality, such as water pollution and eutrophication, also alternate the microbial community in the sediment. Study of the microbial diversity is an important way to evaluate the water quality and to retrace the pollutant history of the water body. The study of sediment microbes is coming to the foundation of the research of biogeochemical cycles and will attract more and more attention in future. Detection and possession of the microbial species and their genomes have enlarged the cognitive scope for the microbes, and have provided novel bioresource for the technological application. In this review, the general characteristics of the sediment inhabit are described and methodology in the studies of microbial resources in sediment is summarized in the sections of (1) culture-independent methods to study the microbial diversity and distribution in sediment; (2) culture-dependent methods to study the microbial diversity in sediment; (3) the biochemical analyses to reveal the relationships among the microbial community and sediment features; and (4) the methods to explore the sediment

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670071)

收稿日期:2006-05-29;修订日期:2006-12-15

作者简介:屈建航(1976~),女,河南南阳人,博士生,主要从事环境微生物学研究。E-mail:qjh_bata@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail:hlyuan@cau.edu.cn

Foundation item The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30670071)

Received date 2006-05-29; **Accepted date** 2006-12-15

Biography QU Jian-Hang, Ph. D. candidate, mainly engaged in environmental microbiology. E-mail:qjh_bata@163.com

microbes as potential bioresource in production of novel antibiotics and enzymes.

Key Words microbes ; diversity ; resource ; sediment ; biogeochemistry

沉积物是集化学物质和微生物于一体的特殊生态环境^[1]。沉积物既是污染源,更是一个污染汇^[2]。作为污染源,主要体现在由于沉积物与上覆水之间的交换作用,沉积物的污染能够再次成为水体污染的潜在来源,并通过水体扩散危及人类生存环境。而作为污染汇,据报道,目前全球河流、水库、湖泊、海洋沉积物污染严重,部分区域的沉积物中重金属如 Hg、Cd、Zn 等含量严重超标,而且随着工业化的高速发展,这种状况已不仅发生在发达国家,还扩展到许多发展中国家^[3]。因此,沉积物的研究越来越受到重视,它已不仅属于地质科学研究内容,更是环境科学研究的一个重要方面。

我国政府对环境污染的治理非常重视,但我国湖泊、水库、海洋等水体污染严重^[4]。当前污染水体的治理除了控制外源污染外,减少沉积物中内源污染物的释放也是主要途径。微生物作为地球物质循环的主要推动力,在水-沉积物物质循环作用如磷的循环中,起着重要作用^[5],所以沉积物中微生物的研究具有重要的现实意义。

本文就沉积物中微生物的多样性、微生物物种及其基因资源等方面的研究方法和进展进行了阐述,以期开发沉积物中的微生物资源,进而为水体的综合治理提供部分依据。

1 沉积物的生境特点

沉积物由于上覆水的覆盖,生境条件比较特殊,如深海沉积物具有高压(每下降 10m 增加 1 个大气压)、黑暗、有机物含量低、盐度高等特征^[5]。不同水体系统中,由于进化历史、物质汇入及沉积的方式和来源不同,沉积物的物理和化学条件很大程度上受到周围环境的影响。不同水体的沉积物一般具有自身特异性,其物质成分和丰度也具有不同的垂直分布特征。

相对于自然沉积环境,由于人类活动的影响,一些近海、湖泊、水库污染比较严重,使这类水体的沉积物生境更加特殊。如富营养化的官厅水库,沉积物中重金属和有机农药(DDD、六六六等)污染严重,磷含量较高。而南海东岛湖泊由于曾经栖息大量海鸟,之后又受到人为作用的干扰,所以沉积物有明显分层,中间有海鸟粪土沉积层^[6]。

2 沉积物中的微生物多样性研究

沉积物中的微生物多样性对整个水体系统的状况有重要影响。微生物群落通过交互的代谢活动,影响沉积物 N、P 等营养元素的物质循环,这些物质能够通过生物体自身或者其他途径传递到水体,决定着水体的营养化状况,进而影响水质。另一方面,水质中的化学物质又可以通过自然沉降等途径传递到沉积物中,并作为营养物质提供给沉积物中的微生物,影响沉积物中微生物的种类和数量。所以沉积物中微生物多样性的研究能够帮助我们推测水体污染的状况和历史,提供对水体环境认识和治理的依据,这也是目前微生物分子生态理论研究的一个重要方面。

2.1 方法学进展

微生物多样性是整个地球生物多样性的的重要组成部分,其主要研究内容是生态系统中微生物的物种数量和丰度。由于传统的纯培养方法很难完全体现自然生境中原始的微生物群落特征,随着分子生物学技术的高速发展,形成了以遗传标记或者生物特征化合物为标记的不依赖于纯培养的分子生态学方法,并被广泛应用于海洋、淡水湖、沼泽等的沉积物中微生物多样性的研究。常用方法有:

16S rDNA 基因文库方法:在微生物研究中,16S rDNA 已经被广泛接受为一种“分子计时计”(molecular chronometers),所有原核微生物 16S rDNA 的 3'和 5'端均含有保守序列,可以用来设计引物,而中间可变序列区可以鉴定不同种类。该方法能够得到环境中整体微生物群落信息。ARDRA (applied ribosomal DNA restriction analysis)方法^[7]有助于减少文库中要测序的克隆数量,文库评估参数^[8]能够反映所建文库对实际样

品中微生物多样性的体现程度。

变性/温度梯度凝胶电泳 变性梯度凝胶电泳技术 (Denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)/温度梯度凝胶电泳技术 (Temperature gradient gel electrophoresis, TGGE)^[9]是基于 DNA 变性剂或温度线性梯度的凝胶电泳中,不同的 DNA 分子解链后电泳速率不同,具备不同的迁移位置,从而加以区分。该方法避开了 16S rDNA 基因文库费时、费力的缺点,而且能研究微生物群落的动态变化。但这种方法较多地依赖于电泳技术,存在一定误差,而且一般考察的是约 500 个碱基对以下的小基因片段,在系统发育分析中,能够得到的与系统进化相关的信息比较少。

荧光原位杂交技术 荧光原位杂交技术 (Fluorescence in situ hybridization, FISH)是通过荧光染料如生物素、地高辛、荧光素等对 DNA 进行标记,清楚并方便地观察样品中细菌的细胞数量和空间位置,可以通过不同的寡核酸探针同时对不同种类的细菌在细胞水平上进行原位的定性定量分析和空间位置识别^[10]。Holger 等^[11]综合使用 FISH、共焦激光扫描显微镜和数字图象分析技术,形成了一种检测环境样品中细胞浓度的半自动化方法。

另外,生物化学方法也被较多地应用于微生物多样性的研究:

磷脂脂肪酸图谱分析 磷脂是构成细胞膜的主要成分,只存在于活细胞中,所以磷脂脂肪酸图谱方法适合于对微生物群落的动态跟踪,但脂肪酸只具备属的特异性,所以该方法不能鉴定到种,另外,该方法需要大型仪器,检测费用较高^[12]。

生物酶活性检测方法 对沉积物等环境样品中生理类群的检测,可以通过检测样品或者样品悬浮液中各种生物酶活性来推测。Wobus 等^[1]在对 4 个不同营养化水库沉积物中的微生物多样性和功能进行鉴定时,分别测定了沉积物样品中酯酶、磷酸酯酶、葡糖苷酶和氨肽酶等活性,结果表明,胞外酶活性可以揭示出不同营养化水质的沉积物中微生物所具有的特异代谢模式。这种方法相对于用探针杂交检测某生理类群等分子生物学方法,具有简便、耗费小等优点,但是该方法的检测结果只能对生理类群的大概状况进行推测。

以上一些常用生态学方法的出现和完善大多只是在最近十几年时间,而且发展迅速,多数是由常规分子生物学方法或者其他生化方法加以改善并应用于环境样品而形成。目前,这些研究方法的建立和完善,以及在各种环境样品研究中的合理运用,仍然是沉积物微生物群落结构研究中涉及的一个热门话题。

2.2 沉积物中微生物群落研究现状

沉积物微生物多样性的研究,是微生物分子生态学研究中的一个重要内容。分子生态学研究方法的不断发展为其提供了有力手段,但由于每种方法各有利弊,目前对沉积物中微生物多样性的考察一般需要综合运用其中的几种方法,已经有应用不同方法综合研究多种类型沉积物的报道。Ravenschlag 等^[13]使用特异探针杂交和 16S rDNA 文库 ARDRA 方法,鉴定了连续低温海洋沉积物的细菌多样性,表明在只有 2.6℃左右的海洋沉积物中仍然存在高度多样性的细菌群落。Bowman^[14]于 2003 年使用 16S rDNA 文库方法,研究了南极大陆架不同深度沉积物中原核生物的多样性,得出沉积物中微生物物种丰度随着沉积物深度增加而下降的结论,而且鉴定出大部分生物类型在海洋沉积物中具有普遍存在性。Buhring 等^[15]于 2005 年运用 FISH 和脂肪酸分析方法,对通透性沙土沉积物中的微生物群落结构进行了研究,表明硫酸盐还原菌群在有氧海洋沉积物中也具有很重要的作用,并且证明,脂肪酸这种生物标记 (biomarker) 和 FISH 方法的综合运用能够有效地探测沉积物中微生物的群落结构。Chan^[16]等使用 DGGE 方法研究了人工酸性沼泽湖中产甲烷古菌的群落特征,表明其中产甲烷古菌类群的多样性有限,而且其多样性高低与产甲烷速率成正相关。Wobus 等^[1]综合使用 FISH、16S rDNA 克隆文库和胞外酶测定的方法,考察了不同营养化程度的水库沉积物中的微生物多样性,得出 β -变形杆菌更多地存在于营养化程度较高的水库沉积物中,而 γ -变形杆菌则与之相反,且胞外酶测定结果显示,不同营养化的水库沉积物有其特异的代谢模式。使用 16S rDNA 文库方法鉴定了官厅水库不同深度沉积物的细菌群落分布特征,结果显示,不同深度沉积物中微生物的多样性有显著差异,且其多样性分布与沉积物的理化特征分布呈现明显的相关性^[17]。

由此可见,目前沉积物中微生物多样性的研究,一方面体现在研究方法上的创新和完善,另一方面更重要的是对各种生境沉积物中微生物多样性的鉴定研究。结果显示沉积物中微生物多样性丰富,并且蕴藏特殊的功能类群。

3 沉积物中微生物的分离

尽管目前分子生态学方法越来越多地用于研究微生物群落结构,并可以鉴定出前所未有的微生物多样性。但是,这种鉴定手段只能达到对微生物群落结构的整体认识,并不能够获得微生物物种,而且鉴定出的微生物可能大部分是未培养(uncultured)种属^[17]。据报道目前环境样品中可分离培养的微生物只能达到实际生境中所有微生物总量的0.001%~15%,沉积物中只有0.25%^[18],仍有13个区系的细菌只知道基因序列^[19]。沉积物中含有丰富的微生物物种资源,从沉积物中进行微生物的分离成为沉积物中微生物研究的另一个更具挑战性的课题。

3.1 分离方法的改进

分离方法直接影响得到的微生物数量和种类。研究报道,几种适合于环境样品微生物分离的方法有:使用寡营养成分、非传统的营养源和信号分子、添加植物多聚糖等聚合物作为能源、添加过氧化氢酶或者丙酮酸盐(或酯)去除 H_2O_2 、使用背景细菌来帮助目的菌的生长、选择合适的固体培养基凝固剂、长时间培养等。在营养源方面,对环境样品中的微生物,如果立即在实验室的培养基条件下生长,会出现“富营养致死效应”,寡营养成分^[20]的使用能够减少细胞死亡率。以多聚物为能源的原理也是缓解对这种富营养的不适应,因为多聚物必须被逐步降解到一定程度时才能被微生物所利用^[21]。在这种情况下,一般要培养11~12周。另外,由于沉积物中氧含量比较低,在分离时也需要维持较低的氧浓度,培养时加入过氧化氢酶或者丙酮酸盐(或酯)能够去除培养时多余的 H_2O_2 ^[22]。Tamaki^[18]在2005年对比了16S rDNA文库方法和分离培养方法得出的沉积物中的微生物多样性,结果表明使用凝固剂结冻胶(gellan gum)能够分离到更多的微生物,减少分离培养和分子生物学方法鉴定出的微生物多样性的差别。对沉积物中微生物的分离培养,培养条件的微小改善便能提高可培养比率,但目前可培养率比较高的也只有15%左右,仍有很大的开发空间。分散生长室法(diffusion growth chamber)^[23]是比较适合于沉积物中微生物分离的方法,主要原理是利用原始生境材料作为培养基,保证微生物群落的营养要求和群落间相互作用的存在,从而得到了较高的分离效率。

3.2 沉积物中微生物新种的获得

分离方法的改进能够培养出许多未培养的菌种,开拓人类对微生物的认知范围,并丰富现有的微生物物种资源。土壤与沉积物具有相似的生境特点,Sait等^[21]使用多聚化合物和延长培养时间的方法对牧场土壤中微生物进行分离,结果分离到31个新种,分别属于酸杆菌亚门、 α -变形杆菌纲的新目和新科、放线细菌新科、 γ -变形杆菌纲的新目和红色杆菌亚纲。相对于常规土壤,沉积物生境更加特殊,其中可能蕴藏更多的新种资源。微生物新种或者特殊功能菌的获得是目前沉积物中微生物物种资源研究的另一个重要方面。

4 沉积物中天然基因资源的开发

对沉积物中天然基因资源的开发,除了获得其16S rDNA基因序列进行微生物多样性的鉴定之外,功能基因的获得和应用,也是目前沉积物中微生物资源研究的重要方面。宏基因组文库方法是最近发展并应用起来的环境样品中总基因组的研究方法。这一概念最早出现于1998年,当时为描述土壤中总体细菌的混合总基因组,目的是揭示土壤细菌总基因组特点,并从中发现新药^[24]。宏基因组文库方法是一种不依赖于培养的基因组分析技术,直接从环境样品中提取总DNA,克隆于cosmid、fosmid或者BAC载体上,构建基因文库,并筛选目的克隆。宏基因组方法被用来从环境中发现新基因、分析微生物多样性和活性、鉴定特殊微生物或其生物合成途径、进行生物酶、新药的合成等^[25]。

宏基因组方法作为一种比较新颖的研究手段,被较多地应用在土壤样品中,并发现了一些新的酶编码基因和一些新的抗生素等。目前该方法也被逐渐应用于沉积物。Gabor等^[26]从其构建的海洋沉积物宏基因组文库中,筛选到多个产生酰胺酶的克隆,其中一个能够产生新型的青霉素酰胺酶,为 β -内酰胺抗生素的高效

生产提供了条件;Breitbart 等^[27]使用宏基因组文库方法对海洋沉积物中病毒多样性进行了分析,发现 3/4 的病毒基因序列与已知的病毒基因序列不同,且数学统计结果显示,1kg 沉积物中含有大约 10^4 种病毒基因型,表明海洋沉积物是一个很大的尚未开发的天然病毒库。目前四氢甲烷蛋白相关的 C1 转移反应仍不清楚,Kalyuzhnaya 等^[28]在研究可培养菌的部分相关基因基础上,用宏基因组方法,发现沉积物中有多种微生物表达这些相关基因,促进碳循环,这些微生物远远不同于现有已知的细菌和古菌。结果表明,沉积物中宏基因组研究不仅是对基础微生物学的丰富,也是开发生物技术资源的有效途径,而且仍有相当大的可开发空间。

5 沉积物中微生物的生物地球化学作用研究

沉积物是水体系统重要的内源污染源,在外源污染得到控制的情况下,如果不治理内源污染,水质仍可能继续恶化。微生物是沉积物和水体之间物质循环的主要推动力,所以沉积物中微生物的生物地球化学作用也是该领域研究的热点之一。研究者已经认识到沉积物-水的物质循环不只是单纯的地球化学作用,生物层的参与非常重要^[29]。但是对沉积物中的生物地球化学机理尤其是微生物的生物地球化学作用的系统研究还很薄弱。以引起富营养化的限制性因素磷的物质循环为例,研究者尝试用藻-菌生物膜体系抑制富营养化,取得了较好效果^[30],孙晓杭等^[31]使用添加和不添加抑菌剂的方法模拟微生物作用对沉积物中磷释放的影响,研究表明,好氧环境中微生物有助于磷的积聚,而厌氧环境中微生物强化了磷的释放。但目前对于沉积物中微生物影响磷循环的详细机理仍不清楚。

6 总结

作为地球生态环境的重要组成部分,由于上覆水的存在及外源物质的渗入等,沉积物的生态条件特殊,蕴藏了丰富的微生物多样性和资源。现代生物技术的发展为这一研究领域提供了有力手段,但仍有很大的可开发空间。该领域的研究不仅涉及微生物学,也与地球化学密切相关,属于生物地球化学这一交叉学科的内容,必将引起研究者越来越多的关注。

References :

- [1] Wobus A, Bleul C, Maassen S, *et al.* Microbial diversity and functional characterization of sediments from reservoirs of different trophic state. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 46 : 331 – 347.
- [2] Deng H G, Chen Z L, Zhang X Z. Development and research on phosphorus in sediment. *Guangzhou Environmental Sciences*, 2004, 19 (1) : 8 – 10.
- [3] Li R W. Contamination of sediments and environmental sedimentology. *Advance in Earth Sciences*, 1998, 13 (4) : 398 – 402.
- [4] Sun X H, Zhang Y, Zhang B L, *et al.* Microbial effects on phosphorus release in TAIHU lake sediments. *Environmental Chemistry*, 2006, 25 (1) : 24 – 27.
- [5] Chen X L, Zhang Y Z, Gao P J. Progress in deep-sea microbiology. *Marine Sciences*, 2004, 28 (1) : 61 – 66.
- [6] Liu X D, Sun L G, Zhao S P, *et al.* Eco-environmental information recorded in the lake sediments of the Dongdao Island, South China Sea. *Quaternary Sciences*, 2005, 25 (5) : 574 – 584.
- [7] Heyndrickx M, Vauterin L, Kersters K, *et al.* Applicability of combined amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) patterns in bacterial phylogeny and taxonomy. *Journal of Microbiological Methods*, 1996, 26 : 247 – 259.
- [8] Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments : what 16S rDNA libraries can tell us. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47 : 161 – 177.
- [9] Muyzer G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 1999, 2 : 317 – 322.
- [10] Zhang Y, Ruan X H. Molecular biological techniques and their application to analysis of microorganism in environmental samples. *Journal of Hehai University (Natural Sciences)*, 2005, 33 (3) : 241 – 245.
- [11] Holger D, Niels B R, Schleifer K H, *et al.* Cultivation-independent, semiautomatic determination of absolute bacterial cell numbers in environmental samples by fluorescence in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67 (12) : 5810 – 5818.
- [12] Zhang H X, Wang X Y, Qi H Y. Development in research methods of microbial ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23 (5) : 988 – 995.
- [13] Ravenschlag K, Sahn K, Pernthaler J, *et al.* High bacterial diversity in permanently cold marine sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65 (9) : 3982 – 3989.
- [14] Bowman J P, McCuaig R D. Biodiversity, community structural shifts, and biogeography of prokaryotes within Antarctic continental shelf sediment.

Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69 : 2463 – 2483.

- [15] Buhning S I, Elvert M, Witte U. The microbial community structure of different permeable sandy sediments characterized by the investigation of bacterial fatty acids and fluorescence in situ hybridization. Environmental Microbiology, 2005, 7 (2) : 281 – 293.
- [16] Chan O C, Wolf M, Hepperle D, et al. Methanogenic archaeal community in the sediment of an artificially partitioned acidic bog lake. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42 : 119 – 129.
- [17] Qu J H, Yuan H L, Huang H Z, et al. Depth-related distribution of bacterial community in sediments of eutrophic Guanting reservoir. Science in China, Ser D Earth Science, 2005, 35 (supl) : 233 – 240.
- [18] Tamaki H, Sekiguchi Y, Hanada S, et al. Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71 (4) : 2162 – 2169.
- [19] Hugenholtz P, Goebel B M, Pace N R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. Journal of Bacteriology, 1998, 180 : 4765 – 4774.
- [20] Connon S A, Giovannoni S J. High-throughput methods for culturing microorganisms in very-low-nutrient media yield diverse new marine isolates. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68 : 3878 – 3885.
- [21] Sait M, Hugenholtz P, Janssen P H. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. Environmental Microbiology, 2002, 4 (11) : 654 – 666.
- [22] Bogosian G, Aardema N D, Bourneuf E V, et al. Recovery of hydrogen peroxide-sensitive culturable cells of *Vibrio vulnificus* gives the appearance of resuscitation from a viable but nonculturable state. Journal of Bacteriology, 2000, 182 : 5070 – 5075.
- [23] Kaeberlein T, Lewis K, Epstein S S. Isolating “uncultivable” microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. Science, 2002, 296 : 1127 – 1129.
- [24] Steele H L, Streit W R. Metagenomics : advances in ecology and biotechnology. FEMS Microbiology Letters, 2005, 247 : 105 – 111.
- [25] Streit W R, Schmitz R A. Metagenomics-the key to the uncultured microbes. Current Opinion in Microbiology, 2004, 7 : 492 – 498.
- [26] Gabor E M, Vries E J, Janssen D B. Construction, characterization, and use of small-insert gene banks of DNA isolated from soil and enrichment cultures for the recovery of novel amidases. Environmental Microbiology, 2004, 6 (9) : 948 – 958.
- [27] Breitbart M, Felts B, Kelley S, et al. Diversity and population structure of a near-shore marine-sediment viral community. Proceedings of the Royal Society of London (Series B, Biological Sciences), 2004, 271 (1539) : 565 – 574.
- [28] Kalyuzhnaya M G, Bowerman S, Nercessian O, et al. Highly divergent genes for methanopterin-linked C_1 transfer reactions in Lake Washington, assessed via metagenomic analysis and mRNA detection. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71 : 8846 – 8854.
- [29] Sondergaard M, Jensen J P, Jeppesen E. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. Hydrobiologia, 2003, 506 – 509 : 135 – 145.
- [30] Wu R H, Fang T, Qiu C Q, et al. Method of algae-bacterium biofilm to improve the water quality in eutrophic waters. Environmental Science, 2005, 26 (1) : 84 – 89.

参考文献 :

- [2] 邓焕广, 陈振楼, 张兴正. 沉积物中磷的研究进展. 广州环境科学, 2004, 19 (1) : 8 ~ 10.
- [3] 李任伟. 沉积物污染和环境沉积学. 地球科学进展, 1998, 13 (4) : 398 ~ 402.
- [4] 孙晓杭, 张昱, 张斌亮, 等. 微生物作用对太湖沉积物磷释放影响的模拟实验研究. 环境化学, 2006, 25 (1) : 24 ~ 27.
- [5] 陈秀兰, 张玉忠, 高培基. 深海微生物研究进展. 海洋科学, 2004, 28 (1) : 61 ~ 66.
- [6] 刘晓东, 孙立广, 赵三平, 等. 南海东岛湖泊沉积物中的生态环境记录. 第四纪研究, 2005, 25 (5) : 574 ~ 584.
- [10] 张瑛, 阮晓红. 分子生物学技术及其在环境样品微生物分析中的应用. 河海大学学报 (自然科学版), 2005, 33 (3) : 241 ~ 245.
- [12] 张洪勋, 王晓谊, 齐鸿雁. 微生物生态学研究方法进展. 生态学报, 2003, 23 (5) : 988 ~ 995.
- [17] 屈建航, 袁红莉, 黄怀曾, 等. 官厅水库沉积物中细菌群落纵向分布特征. 中国科学 D 辑 地球科学, 2005, 35 (增刊 1) : 233 ~ 240.
- [30] 吴永红, 方涛, 丘昌强, 等. 藻-菌生物膜法改善富营养化水体水质的效果. 环境科学, 2005, 26 (1) : 84 ~ 89.