

研究报告

## 碳源对活性污泥微生物细胞膜特性和群落结构影响

马思佳<sup>1</sup> 顾卓江<sup>2</sup> 丁丽丽<sup>1\*</sup> 任洪强<sup>1\*</sup>

(1. 污染控制与资源化研究国家重点实验室 南京大学环境学院 江苏南京 210023)

(2. 海正药业(杭州)有限公司 浙江杭州 311404)

**摘要:**【目的】揭示碳源对活性污泥微生物细胞膜特性(磷脂脂肪酸组成和流动性)以及群落结构的影响规律。【方法】采用原子力显微镜、磷脂脂肪酸(PLFA)、荧光漂白恢复(FRAP)和 MiSeq 分析技术, 考察以葡萄糖、乙酸钠、蛋白胨、葡萄糖:蛋白胨(1:1)和乙酸钠:蛋白胨(1:1)为基质的序批式活性污泥(SBR)反应器中, 活性污泥微生物表面粘附力、细胞膜 PLFA 组成和流动性及群落结构的差异。【结果】含有蛋白胨为碳源时相比于葡萄糖和乙酸钠为单一碳源, 细胞膜磷脂流动性增加, 且 18:1ω9c、15:0iso 和 17:0iso 的含量提高了 53.1%–354.7%、135.6%–407.9% 和 88.1%–264.3%; 同时其微生物表面粘附力和群落多样性均增大。优势菌群对碳源的响应呈现出不一致的规律: 葡萄糖和乙酸钠为单一碳源时其优势菌门分别为放线菌门和变形菌门, *Nakamurella* 和 *Flavobacterium* 分别为其优势菌属, 群落多样性指数分别为 3.65 和 4.25; 蛋白胨为碳源时促进了 *Candidatus Saccharibacteria* 门的累积, 群落多样性指数在 4.96–5.09。【结论】主成分分析(PCA)表明, 含有蛋白胨为碳源时微生物细胞膜 PLFA 组成具有相似性; 元余分析(RDA)表明, 不同碳源驯化出不同的微生物群落, 进而也对细胞膜磷脂组成产生了影响。

**关键词:** 活性污泥, 碳源, 磷脂脂肪酸(PLFA), 细胞膜磷脂流动性, 微生物群落

## Effects of carbon sources on cell membrane properties and microbial community of activated sludge

MA Si-Jia<sup>1</sup> GU Zhuo-Jiang<sup>2</sup> DING Li-Li<sup>1\*</sup> REN Hong-Qiang<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210023, China)

(2. Hisun Pharmaceutical Company Limited, Hangzhou, Zhejiang 311404, China)

**Abstract:** [Objective] The purpose of this study was to investigate the effects of carbon sources on cell membrane properties (phospholipid fatty acids composition and fluidity) and microbial community of activated sludge. [Methods] Atomic force microscopy (AFM), phospholipid fatty

**Foundation item:** National High-Tech R&D Program of China (863 Program) (No. 2012AA063407); Key Technologies R&D Program of China (No. 2014BAC08B04)

\*Corresponding authors: E-mail: DING Li-Li: dinglili@nju.edu.cn; REN Hong-Qiang: hqren@nju.edu.cn

Received: March 14, 2016; Accepted: September 07, 2016; Published online ([www.cnki.net](http://www.cnki.net)): December 19, 2016

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划) (No. 2012AA063407); 国家科技支撑计划项目(No. 2014BAC08B04)

\*通讯作者: E-mail : dinglili@nju.edu.cn ; 任洪强 : hqren@nju.edu.cn

收稿日期: 2016-03-14; 接受日期: 2016-09-07; 优先数字出版日期([www.cnki.net](http://www.cnki.net)): 2016-12-19

acids (PLFA) and fluorescence recovery after photobleaching (FRAP), and MiSeq analysis technology were used to investigate the effects of the different substrates, glucose, sodium acetate, peptone, glucose:peptone (1:1), sodium acetate:peptone (1:1), on the differences of microbial surface adhesion force, PLFA composition and fluidity, and microbial community in five Sequencing Batch Reactors (SBRs). [Results] The involvement of peptone led to an increase of cell membrane phospholipid fluidity, PLFA composition present a consistency with the content of 18:1 $\omega$ 9c, 15:0iso and 17:0iso increased 53.1%–354.7%, 135.6%–407.9% and 88.1%–264.3%, respectively. The dominant phylum response to carbon sources present inconsistent rules: with glucose and sodium acetate as solo substrate, the dominant phylum were Actinobacteria and Proteobacteria, and the dominant genus were *Nakamurella* and *Flavobacterium*, diversity index were 3.65 and 4.25, respectively. At the appearance of peptone, the content of *Candidatus Saccharibacteria* increased obviously, and the diversity index was in the range of 4.96–5.09. [Conclusion] Principal component analysis (PCA) indicated that the involvement of peptone led to similar PLFA composition. Redundancy analysis (RDA) suggested that carbon sources changed the microbial community, which further influenced the composition of PLFA.

**Keywords:** Activated sludge, Carbon source, PLFA, Cell membrane phospholipid fluidity, Microbial community

碳源作为活性污泥微生物新陈代谢活动的主要能量来源，对活性污泥系统污染物去除(除碳<sup>[1]</sup>、脱氮除磷<sup>[2-4]</sup>)和污泥性能(沉降性能<sup>[1]</sup>、絮凝性能和吸附性能<sup>[5]</sup>等)有着重要的影响。目前，关于外界条件(碳源<sup>[1-3]</sup>、温度<sup>[6]</sup>、溶解氧<sup>[7]</sup>等)对活性污泥性能的影响研究多是从微生物胞外聚合物(组成、含量、官能团)和胞内聚合物的角度展开，对于活性污泥微生物细胞膜特征(磷脂组成和流动性)的研究较少，且主要集中在低温<sup>[8]</sup>方面。

微生物细胞膜磷脂组成和流动性的不同会造成微生物物质运输过程及细胞向外界环境排放的大分子物质(蛋白质等)含量和种类的差异<sup>[9-10]</sup>。磷脂脂肪酸(PLFA)为甲基化活性污泥中提取磷脂后得到的脂肪酸产物。脂肪酸通常的命名格式为  $X:Y\omega Z(c/t)$ ，其中， $X$  为总碳数， $Y$  表示双键数， $\omega$  表示甲基末端， $Z$  是距离甲基的距离， $c$  表示顺式， $t$  表示反式，其他字符如  $a$  和  $i$  分别表示支链的反异构和异构， $10Me$  表示一个甲基团在距分子末端第 10 个碳原子上，环丙烷脂肪酸用  $cy$  表示<sup>[11]</sup>。不饱和脂肪酸和支链脂肪酸相比于饱和脂肪酸具有更低的相变温度，因此能够增加微生物的细胞膜流动性<sup>[9]</sup>。Fang 等<sup>[12]</sup>的研究发现， $0.01\text{ mg/L}$  的  $C_{60}$  纳米粒子会造成 *Bacillus subtilis* 细胞膜支链脂肪酸的显

著增加，而  $0.75\text{ mg/L}$  时则会促进不饱和脂肪酸含量的增加，两者的增加均提高了其细胞膜流动性。已有研究表明，不同碳源(甲苯<sup>[13]</sup>、甲醇和乙醇<sup>[14]</sup>等)条件下，单一细菌(*Pseudomonas putida* 和 *Escherichia coli* K-12 等)细胞膜会形成特殊的 PLFA 组成改变其流动性以适应外界碳源的改变。活性污泥微生物是由细菌(主体部分)、放线菌、真菌、原生动物、后生动物等组成，不同碳源条件下其细胞膜 PLFA 组成和流动性如何变化鲜有报道。

碳源、环境条件<sup>[7]</sup>、操作条件<sup>[8]</sup>的不同均会导致微生物群落结构的差异。Ahmed 等<sup>[15]</sup>的研究表明，在以甲醇:乙酸钠:丙酸钠(6:3:1)为碳源的膜生物反应器中，促进了 BetaProteobacteria 含量的增多；Hagman 等<sup>[16]</sup>的研究发现，由乙酸钠和甲醇组成的混合碳源，相比于乙酸钠或甲醇为单一碳源时，*Azoarcus* 的含量有所增加。Illumina MiSeq 高通量测序方法具有更高的细菌 DNA 覆盖率和准确性，能够提供更完整和准确的微生物群落结构信息<sup>[17]</sup>。

本研究分别以 5 种碳源运行序批式活性污泥(SBR)反应器，考察其对活性污泥微生物表面粘附力、细胞膜 PLFA 组成与流动性和微生物群落结构的影响，为深入了解碳源对活性污泥系统微生物性能的影响及优化反应器运行效果提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 反应器运行方法:** 实验包括 5 个平行的 SBR 反应器, 分别以葡萄糖(反应器 A)、乙酸钠(反应器 B)、蛋白胨(反应器 C)、葡萄糖:蛋白胨(化学需要量 COD:COD=200:200) (反应器 D)和乙酸钠:蛋白胨(COD:COD=200:200)为碳源(反应器 E)。反应器有效容积为 2 L, 实验中进水为人工模拟废水, 进水 COD 为 400 mg/L, 此外每升废水包含 120 mg NH<sub>4</sub>Cl, 19 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 11 mg CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 和 0.6 mL 微量元素混合液, 其中每升微量元素混合液包含: 1.50 g FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.15 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.03 g CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.18 g KI, 0.12 g MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.06 g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.12 g ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.15 g CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 和 10.00 g EDTA。SBR 反应器运行周期为 12 h, 分别由进水(10 min)、反应(660 min)、静置(40 min)和排水(10 min)组成, 水力停留时间为 11 h, 污泥龄为 10 d, 溶解氧维持在 4.0–5.8 mg/L, 温度为 25±2 °C, 进水 pH 7.0±0.1。接种污泥取自南京某污水处理厂, 反应器污泥浓度为 3 000±100 mg/L。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** 试验中所用试剂均为分析纯级别, 南京化学试剂有限公司。离心机(Centrifuge5810R), 德国 Eppendorf 公司; 紫外分光光度计(UV-2540), 日本岛津公司; 水浴锅, 国华电器有限公司; FastDNA® SPIN Kit for Soil, 美国 Qbiogene 公司; 气相色谱(7890), 美国安捷伦公司; 原子力显微镜(Multimode 8), 德国 Bruker 公司; 激光共聚焦显微镜(FV1000), 日本 Olympus 公司; 纯化试剂盒, 美国 OMEGA Bio-tek 公司; MiSeq, 美国 Illumina 公司。

### 1.2 分析方法

**1.2.1 常规水质指标:** 按国标法<sup>[18]</sup>检测进出水 COD。反应器运行稳定后[COD 去除率高于 90%, 运行时间大于 3 个污泥停留时间(SRT)], 检测出水中蛋白质的含量, 蛋白采用 BCA 蛋白质测定试剂盒(生工)进行测定<sup>[19]</sup>, 并对水样进行三维荧光光谱

分析, 三维荧光检测方法根据 Huang 等<sup>[20]</sup>的报道。

**1.2.2 污泥表面粘附力分析:** 反应器运行稳定后, 分别取出活性污泥(第 40 天), 自然晾干 30 min, 然后进行原子力显微镜观察测定, 分别测定其粘附力, 其中每个样品选取 3 个不同区域进行测定, 每个区域读数 20 次<sup>[21]</sup>。

**1.2.3 细胞膜流动性能分析:** 细胞膜磷脂流动性能分析方法根据 Mullineaux 等<sup>[22]</sup>的报道, 在 1 μmol/L BODIPY-FL-C12 下培养 30 min, 经模拟废水洗脱未标记染料后的样品由激光共聚焦显微镜检测及分析。根据 Schwartz 等<sup>[23]</sup>的研究, 细胞膜磷脂运行分数( $M_f$ )采用公式  $M_f=(F_t-F_0)/(F_i-F_0)$  进行计算, 其中  $F_t$  代表恢复后的荧光强度,  $F_i$  漂白前荧光强度,  $F_0$  代表漂白完成后的荧光强度。

**1.2.4 细胞膜磷脂脂肪酸组成分析:** 取第 40 天的污泥进行磷脂脂肪酸组成分析, 提取方法根据 Zhou 等<sup>[11]</sup>的报道。经过提取和纯化的磷脂脂肪酸由气相色谱检测, 所得结果利用 MIDI Sherlock Microbial Identification System 软件进行分析。

**1.2.5 微生物群落结构检测:** 活性污泥微生物群落结构采用 16S rRNA 基因高通量测序(MiSeq, Illumina)进行检测。污泥样品 4 000 r/min 离心 5 min 后弃上清液。利用试剂盒进行 DNA 的提取, 提取后的 DNA 样品利用基于细菌 16S rRNA 基因 V1–V2 区通用引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 50 μL, 包括 10×ExTaq Buffer 5 μL, 25 μmol/L MgCl<sub>2</sub> 4 μL, 5 U/μL ExTaq DNA 聚合酶 0.25 μL, 20 μmol/L 正反向引物各 1 μL, 20 mg/L DNA 模板 2 μL, 加灭菌水至 50 μL。PCR 扩增条件为: 98 °C 5 min; 98 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 40 s, 20 个循环; 72 °C 10 min。经琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物后, 采用纯化试剂盒纯化后送至江苏中宜金大分析检测有限公司进行 MiSeq 测序。

### 1.3 数据统计与分析

常规水质指标的数据及绘图处理采用 Origin 7.5 软件, MiSeq 数据经 Sickle 及 Mothur 降噪后, 通过 RDP 分类处理, 将结果中相对丰度大于 0.2%

的属采用 R 语言安装包绘制 Heatmap。香农-威尔(Shannon-Wiener)多样性指数采用式(1)计算：

$$H = -\sum_{i=1}^s P_i \lg(P_i) \quad (1)$$

式中， $H$  为 Shannon-Wiener 指数， $s$  是每个样品中细菌种类的总数， $P_i$  为各细菌的百分比含量。微生物群落结构(属)和细胞膜磷脂组成与出水水质的相关性分析采用 Canoco 4.5 软件进行冗余(RDA)分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 反应器运行性能

不同碳源反应器进出水 COD 变化情况，见图 1A。所有反应器 COD 去除率在第 25 天时均高于 90%。第 40 天时，5 个反应器出水 COD 稳定在 18.9–25.6 mg/L。反应器运行稳定后，出水氨氮和蛋白浓度见图 1B (该结果是对第 30、35 和 40 天的出水进行采样，所测结果的平均值)。三维荧光检测结果及荧光峰强度见图 2 和表 1，出水中 SMP 的荧光峰主要分为 3 类：类蛋白峰 A (Ex/Em=280–285/305–310，Peak A)，类蛋白峰 B (Ex/Em=242–252/280–290，Peak B) 和类腐殖酸峰(Ex/Em=350–360/410–420，Peak C)<sup>[20]</sup>。

### 2.2 碳源对微生物表面粘附力的影响分析

图 3 为不同碳源反应器中活性污泥微生物原子力显微镜观察结果，可以看出不同碳源条件下微生物表面形貌存在较大的差异，含有蛋白胨为碳源时微生物表面形貌更为复杂。测试不同碳源反应器污泥粘附力发现，含有蛋白胨为碳源的条件下污泥粘附力均较大，分别为：蛋白胨(C， $38.7 \pm 3.6$  nN)>葡萄糖/蛋白胨(D， $37.9 \pm 2.8$  nN)>乙酸钠/蛋白胨(E， $25.7 \pm 3.9$  nN)>葡萄糖(A， $17.5 \pm 5.2$  nN)>乙酸钠(B， $16.4 \pm 6.4$  nN)。Li 等<sup>[24]</sup>的研究表明，微生物表面力学性能对其吸附有机物有着重要的影响。Pussak 等<sup>[25]</sup>在研究微生物表面受体与碳水化合物之间的吸附作用时发现，其粘附能(5 kJ)较小时不利于碳水化合物的吸附。

### 2.3 碳源对细胞膜 PLFA 组成和流动性的影响分析

反应器运行稳定后，采集活性污泥样品进行 PLFA 分析，所得结果见图 4A 和表 2。5 个反应器污泥支链脂肪酸和不饱和脂肪酸的总含量变化为：A (60.37%)>C (53.83%)>D (51.72%)>E (48.18%)>B (35.06%)。可以看出，含有蛋白胨为碳源的污泥其

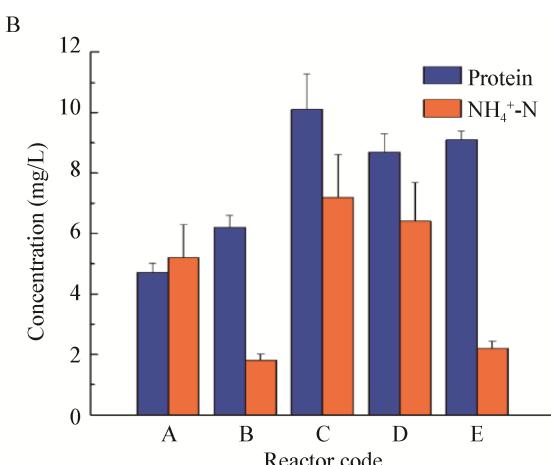
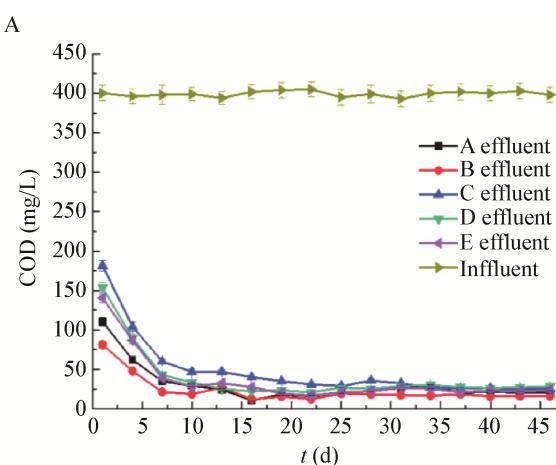


图 1 进出水 COD (A)、氨氮和蛋白质浓度(B)

Figure 1 Influent and effluent COD concentration (A), effluent  $\text{NH}_4^+$ -N and protein concentration (B)

注：A：葡萄糖；B：乙酸钠；C：蛋白胨；D：葡萄糖:蛋白胨(1:1)；E：乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

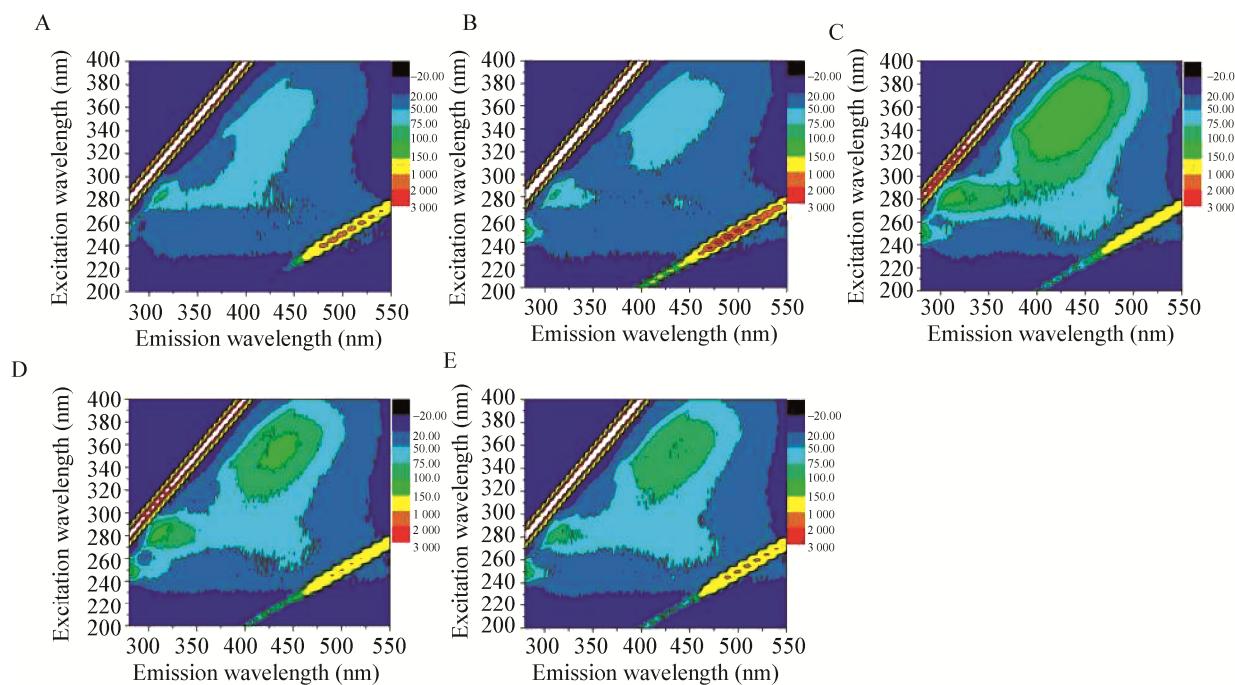


图 2 不同碳源反应器出水三维荧光光谱

Figure 2 EEM spectra of the effluent of reactors with different carbon sources

表 1 不同碳源反应器出水三维荧光峰强度

Table 1 Fluorescence intensity of effluent in reactors with different carbon sources by EEM

反应器编号 Reactor code	荧光峰 A Peak A	荧光峰 B Peak B	荧光峰 C Peak C
A	70.12	86.4	66.8
B	116.7	84.7	72.9
C	123.6	124.8	147.5
D	116.9	128.7	109.4
E	115.9	99.1	100.8

注: A: 葡萄糖; B: 乙酸钠; C: 蛋白胨; D: 葡萄糖:蛋白胨(1:1); E: 乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

支链脂肪酸和不饱和脂肪酸的含量较为相似。此外, 含有蛋白胨为碳源时, 18:1ω9c、15:0iso 和 17:0iso 的含量相比于乙酸钠和葡萄糖为单一碳源时, 分别提高了 53.1%–354.7%、135.6%–407.9% 和 88.1%–264.3%。

图 4B 为不同碳源活性污泥 PLFA 组成主成分分析结果。PC1 和 PC2 分别代表了 45.4% 和 33.4% 的差异, 结果主要分布在 3 个区域。含有蛋白胨为碳源的反应器微生物细胞膜 PLFA 组成具有一定的相似性, 且主要以 C17 和 C18 为主; 另外两个区域

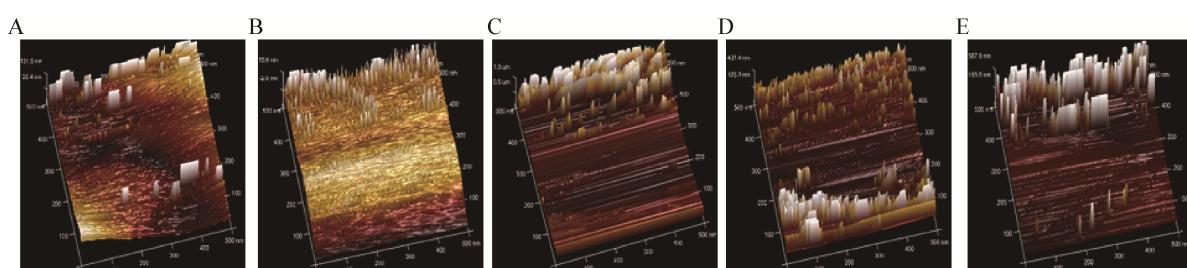


图 3 第 40 天活性污泥表面 AFM 检测图

Figure 3 Cell surface images of activated sludge microbe using AFM at 40<sup>th</sup> day

注: A: 葡萄糖; B: 乙酸钠; C: 蛋白胨; D: 葡萄糖:蛋白胨(1:1); E: 乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

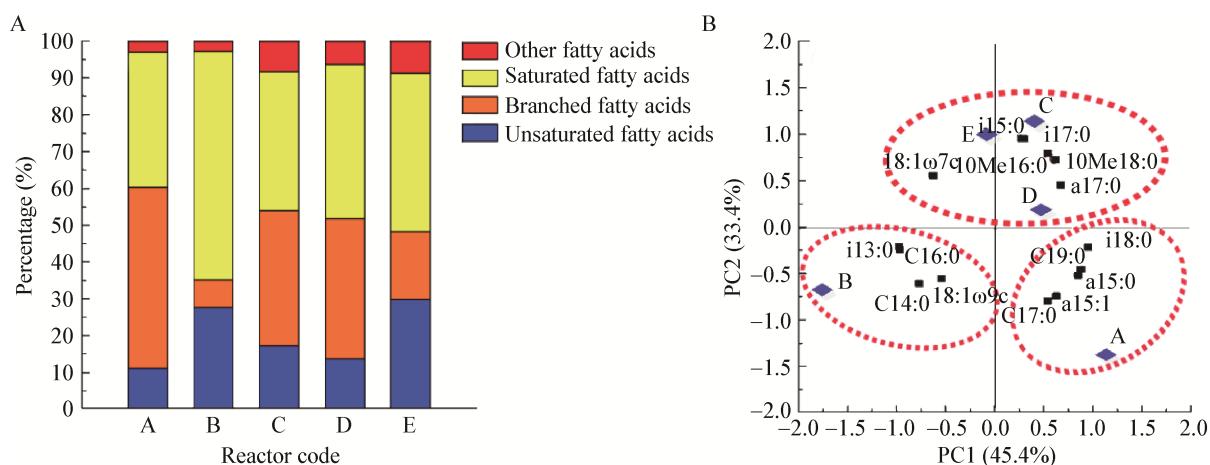


图 4 活性污泥 PLFA 组成(A)和 PCA 分析(B)

Figure 4 PLFA profiles (A) and PCA analysis (B) of activated sludge

注：A：葡萄糖；B：乙酸钠；C：蛋白胨；D：葡萄糖:蛋白胨(1:1)；E：乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

分别代表了以乙酸钠和葡萄糖为单一碳源的反应器，其 PLFA 组成分别以 C13–C16 和 C15 为主。Fang 等<sup>[13]</sup>的研究发现，以甲苯为碳源时会促使 *Pseudomonas putida* 细胞膜不饱和脂肪酸含量的降低；Ingram<sup>[14]</sup>的研究表明，当以甲醇和乙醇为碳源时会增加 *Escherichia coli* K-12 细胞膜 18:1ω7c 和 18:1ω9c 的含量，但会降低 C16:0 和 16:1ω7c 的含量。上述结果说明，不同碳源对活性污泥微生物细胞膜 PLFA 组成造成了重要影响。

图 5 为不同碳源活性污泥微生物细胞膜磷脂 BODIPY-FL-C12 标记后，漂白前、漂白后、漂白后 1 min 和 11 min 时的激光共聚焦显微镜观察结果，表 3 为不同时间点所选区域的微生物细胞膜磷脂荧光强度变化结果。各个反应器活性污泥微生物细胞膜磷脂运动分数  $M_f$  分别为 D (67.3%)>E (65.4%)>C (49.4%)>A (47.9%)>B (36.7%)。含有蛋白胨为碳源时，微生物细胞膜磷脂流动性均较大，而以葡萄糖为碳源的细胞膜流动性(表 3)较低，与其 PLFA 组成中高不饱和脂肪酸和支链脂肪酸的总含量(60.37%)呈现不一致。这可能是由于细胞膜磷脂流动性不仅仅决定于其磷脂组成，膜蛋白的种类及与磷脂间的相互作用会对磷脂流动性造成影响<sup>[10]</sup>，这方面仍需

进一步的研究。Niu 等<sup>[8]</sup>的研究发现，低温下微生物可以通过增加细胞膜流动性以增强对有机物运输能力。本文发现含有蛋白胨为碳源时，微生物细胞膜流动性相比于葡萄糖和乙酸钠为碳源时较高。蛋白胨为蛋白质经水解后得到的一种由胨、肽和氨基酸等组成的混合物<sup>[26]</sup>，相比于葡萄糖和乙酸钠，含有蛋白胨为碳源的反应器底物组成更为复杂。蛋白胨中氨基酸进入细胞为协助扩散或主动运输，其他组分进入细胞需经过胞吞作用或经胞外蛋白酶分解为氨基酸，微生物对蛋白胨的利用过程更为复杂，因此微生物需增加其细胞膜磷脂流动性以维持良好的物质运输，且混合碳源下该机制得到了进一步的加强。

#### 2.4 碳源对微生物群落结构的影响分析

通过 16S rRNA 基因高通量测序技术对活性污泥微生物群落结构进行分析，结果如表 4 和图 6 所示。不同碳源条件下，5 个样品的序列数在 22 091–122 658 个，OTU 数在 1 272–3 390 个，Good's coverage 在 97.22%–98.90%。活性污泥微生物群落主要由变形菌门、放线菌门和拟杆菌门等组成，这与 Yadav 等<sup>[27]</sup>的报道一致，但其相对丰度具有较大的差别。以葡萄糖和乙酸钠为单一碳源时，其优

磷脂脂肪酸 PLFA	A	B	C	D	E
12:00	0.69	3.00	1.87	2.75	2.06
13:0iso	0.05	0.39	0.07	0.07	0.16
13:0anteiso	0.06	0.70	0.04	0.04	ND
13:00	0.11	ND	0.04	0.07	0.03
14:0iso	3.82	0.73	0.98	1.74	0.80
15:1iso G	0.23	0.17	0.51	0.22	0.50
15:0anteiso A	2.04	0.22	0.05	0.27	ND
15:0iso	1.80	1.26	6.40	4.24	5.66
15:0anteiso	30.47	1.98	11.01	17.89	4.49
16:1iso H	0.09	ND	0.24	0.17	0.26
16:0anteiso	0.05	ND	0.14	0.12	0.17
15:0iso 3OH	0.06	0.18	0.10	0.15	0.08
15:0 2OH	0.07	ND	0.13	0.14	0.12
16:0iso	9.11	0.67	9.75	7.52	2.98
16:0 10methyl	0.56	0.36	1.99	1.40	2.01
16:0 2OH	0.20	ND	0.13	0.21	0.12
16:1ω7c	2.73	16.31	5.83	3.26	11.55
16:1ω5c	0.35	0.51	0.54	0.31	0.76
16:00	19.30	33.24	19.52	21.36	23.48
17:00	5.16	0.51	0.42	1.43	0.53
17:0iso	0.84	0.56	2.04	1.94	1.58
17:0cy	ND	ND	ND	ND	0.95
17:0anteiso	1.97	0.22	4.48	2.61	1.05
17:1ω8c	0.75	0.18	0.41	0.70	0.31
17:0iso 3OH	0.34	0.41	0.62	0.84	0.57
17:0 2OH	0.12	0.36	0.21	0.40	0.27
17:0 10methyl	0.18	ND	0.76	0.44	0.18
18:0iso	0.57	0.17	0.43	0.38	0.29
18:2ω6,9c	0.29	0.40	1.34	ND	1.90
18:1ω9c	0.96	0.64	1.97	2.91	1.47
18:1ω7c	3.25	9.70	7.28	5.02	14.61
18:00	9.88	22.64	14.9	15.02	15.98
18:0 10methyl	0.84	0.44	1.47	1.02	1.01
19:0anteiso	0.12	ND	0.36	0.34	0.42
19:0iso	0.09	0.27	0.21	0.22	0.13
19:1ω7c	0.43	0.19	0.11	0.45	0.09
19:0cyω8c	0.26	0.64	0.52	0.85	0.73
19:00	0.31	ND	0.11	0.16	0.07
20:4ω6,9,12c	0.29	0.57	1.1	0.32	1.12
20:00	0.15	0.30	0.23	0.24	0.21
20:1ω9c	ND	ND	ND	0.31	ND

势菌门分别为放线菌门(Actionbacteria, 62.94%)和变形菌门(Proteobacteria, 56.18%)，含有蛋白胨为碳源的反应器，Candidatus Saccharibacteria 门的含量得到了提升。此外，对比不同反应器可知，存在乙酸钠为碳源的条件下，促进了 Beta 变形菌和拟杆菌门含量的上升，而葡萄糖和蛋白胨则主要促进了放线菌门的累积。此外，以乙酸钠:蛋白胨(1:1)为碳源时，未分类菌门(Unclassified)占到了 27.3%，相比于其他碳源条件下占比(3.6%–10%)具有显著的提升。活性污泥法中短(<5 d)、中(10–15 d)和长(>20 d)污泥龄分别用于 COD 去除、硝化反硝化脱氮和除磷，本研究选用中等的污泥龄(10 d)。污泥龄是影响微生物群落结构的重要因素，刘娜<sup>[28]</sup>采用 DGGE 法分析污泥龄对 SBR 系统处理模拟废水微生物群落结构的影响时，发现污泥龄在 20–30 d 时 DGGE 指纹图谱中所得的条带数最多，即微生物种类最为丰富。关于不同碳源条件下污泥龄的变化对微生物群落结构的影响需进一步地研究。

如图 7 所示，在属水平上，各反应器污泥微生物群落结构差异较大。葡萄糖为碳源时，优势菌属主要包括 *Nakamurella* (54.33%) 和 *Micropruina* (17.59%)，这是由于葡萄糖是一种简单且易被微生物利用的糖类，而 *Nakamurella* 和 *Micropruina* 能在细胞内储存大量的糖类聚合物<sup>[29–30]</sup>，进而成为优势菌。*Nakamurella* 和 *Micropruina* 的细胞膜 PLFA 主要由支链脂肪酸组成<sup>[30–31]</sup>，这与 PLFA 结果相吻合。乙酸钠为碳源时，*Dechloromonas* 和 *Flavobacterium* 的含量分别增加到 27.46% 和 40.35%，成为优势菌，这与 Xin 等<sup>[32]</sup>的研究结果相符合；并且出现了该反应器所特有的菌属 *Arenimonas* (6.35%) 和 *Paracoccus* (1.7%)，*Paracoccus* 是一类常见的反硝化菌。蛋白胨为碳源时，*Microbacterium*、*Subdivision3\_genera\_incertae\_sedis* 和 *Sphingomonas* 的含量分别为 18.67%、16.61% 和 12.73%，成为优势菌。已有文献报道，*Microbacterium* 和 *Sphingomonas* 在处理结构复杂有机物方面具有突出的贡献<sup>[33–34]</sup>。反应器 D

和 E 中, *Saccharibacteria\_genera\_incertae\_sedis* 的含量分别骤然增加至 26.75% (D) 和 15.54% (E)。根据 Aira 等<sup>[35]</sup>的报道, 在以组成复杂的牛粪为底物的土壤微生物中 *Saccharibacteria\_genera\_incertae\_sedis* 得到了累积。可能是由于反应器 D 和 E 的碳

源组成相比于 A、B 和 C 的组成更为复杂, 造成了 *Saccharibacteria\_genera\_incertae\_sedis* 的累积。如表 4 所示, 含有蛋白胨为碳源时微生物群落多样性指数均较大(4.96–5.09)。相比于葡萄糖和乙酸钠, 含有蛋白胨为碳源的反应器底物组成更为复杂, 且

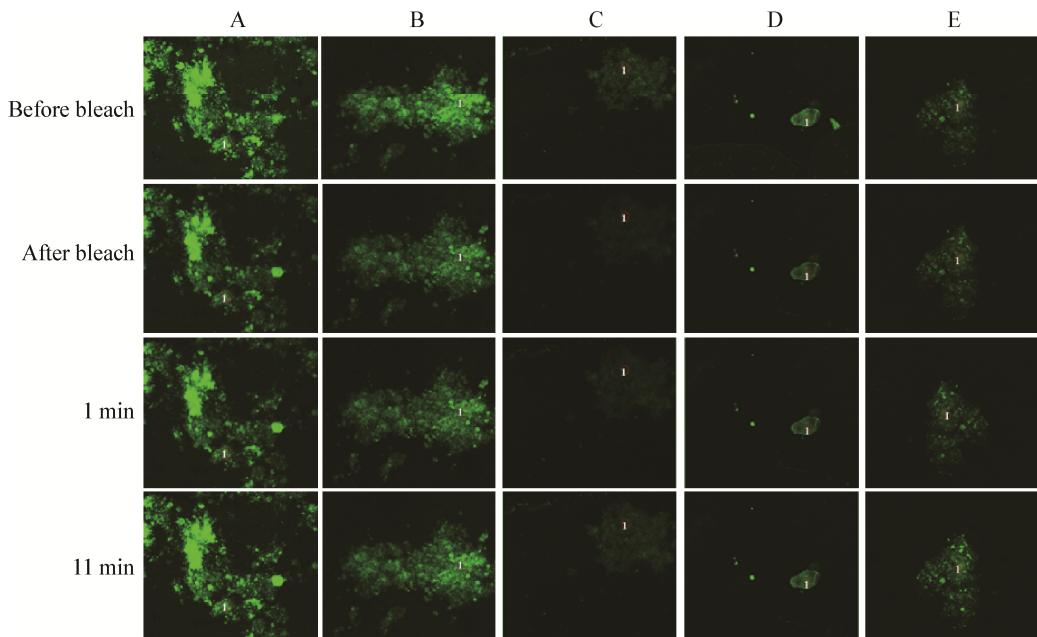


图 5 细胞膜流动性激光共聚焦显微镜观察图

Figure 5 The LSCM images of activated sludge with different carbon sources

注: A: 葡萄糖; B: 乙酸钠; C: 蛋白胨; D: 葡萄糖:蛋白胨(1:1); E: 乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

表 3 污泥样品激光共聚焦显微镜漂白区域荧光强度变化及运动分数

Table 3 Fluorescence intensity of selected area changes with LSCM and  $M_f$  of activated sludge

反应器编号 Reactor code	A	B	C	D	E
Before bleach	774.0	3 061.7	2 463.1	1 785.6	1 876.2
After bleach	372.3	1 964.9	1 531.1	1 082.8	1 041.6
1 min	409.6	1 982.5	1 588.5	1 120.8	1 117.5
3 min	436.1	2 050.1	1 663.3	1 190.7	1 305.3
5 min	484.6	2 121.4	1 727.4	1 334.2	1 398.2
7 min	537.8	2 287.6	1 815.6	1 394.4	1 471.4
9 min	559.2	2 309.1	1 913.7	1 486.6	1 521.8
11 min	564.9	2 367.3	1 991.7	1 556.3	1 587.7
$M_f$	47.9%	36.7%	49.4%	67.3%	65.4%

注: A: 葡萄糖; B: 乙酸钠; C: 蛋白胨; D: 葡萄糖:蛋白胨(1:1); E: 乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

表 4 活性污泥样品高通量测序结果 Table 4 High-through-put sequencing results of activated sludge samples				
反应器编号 Reactor code	序列数 Sequence number	OTU	Good's coverage (%)	香农威爾指数 Shannon-Wiener index
A	22 091	1 272	97.22	3.65
B	72 620	2 616	98.42	4.25
C	58 907	2 268	98.29	4.96
D	36 970	1 953	97.64	5.09
E	122 658	3 390	98.90	4.99

经胞外蛋白酶的水解含有较多有机氮类以及微生物可利用的氨基酸<sup>[36]</sup>，有机氮组分的微生物降解、吸收、利用等均使其多样性得到了增加。蛋白胨也含有一些维生素和糖类，能够提供更多种类的微生物生长代谢所需要的因子。底物为葡萄糖:蛋白胨(1:1)和乙酸钠:蛋白胨(1:1)时，底物中既包括易被微生物利用的碳源同时也提供了较多种类的微生物生长代谢所需要的因子。张斌等<sup>[37]</sup>的研究表明，进水中相对丰富的底物(综合污水相比于洗浴污水)组成可使 MBR 系统中微生物群落多样性得到增加。此外，细菌单个基因组内经常有 16S rRNA 基

因的多样性，利用不同区域的序列进行分子生态学研究会造成不同程度的多样性高估。Sun 等<sup>[38]</sup>的研究指出，V4-V5 区域显示了最低的高估程度(约为 3.0%)，而 V6 区域的高估程度最高(约为 13%)。本研究中采用 V1-V2 区，这可能会导致所得结果的物种多样性的高估。

## 2.5 群落结构与磷脂组成和出水水质的相关性分析

分析微生物群落结构的变化，可以解释不同碳源影响 PLFA 组成和出水水质的原因，本文采用 RDA 分析，结果如图 8 所示。RDA1 和 RDA2 分别可以代表 49.8% 和 32.1% 的总差异。COD 去除率与 *Thauera* 和 *Dechloromonas* 显著正相关( $P<0.05$ )；Peak A 与 *Nakamurella*、*Micropruina* 显著负相关和 *Sphingopyxis*、*Arthrobacter* 显著正相关( $P<0.05$ )；Peak B 与 *Pelomonas* 显著正相关( $P<0.05$ )；Peak C 与 *Sphingomonas*、*Microbacterium* 和 *Arthrobacter* 显著正相关 ( $P<0.05$ )。饱和脂肪酸(SFA)与 *Flavobacterium* 显著正相关( $P<0.05$ )；反式异构脂肪酸(AFA)与 *Nakamurella* 和 *Micropruina* 显著正相

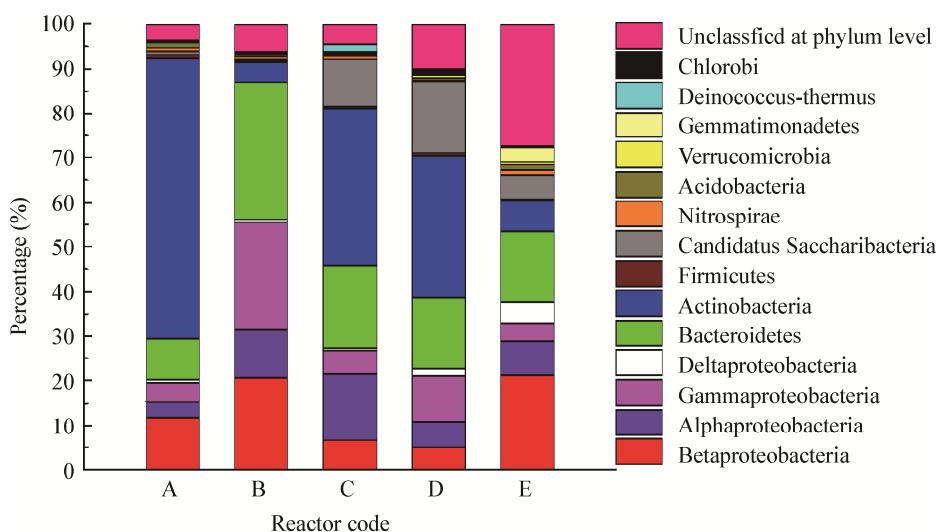


图 6 第 40 天微生物群落结构(门级别和变形菌纲)

Figure 6 Abundances of different phyla and the classes in Proteobacteria of microorganisms at the 40<sup>th</sup> day

注：A：葡萄糖；B：乙酸钠；C：蛋白胨；D：葡萄糖:蛋白胨(1:1)；E：乙酸钠:蛋白胨(1:1)。

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

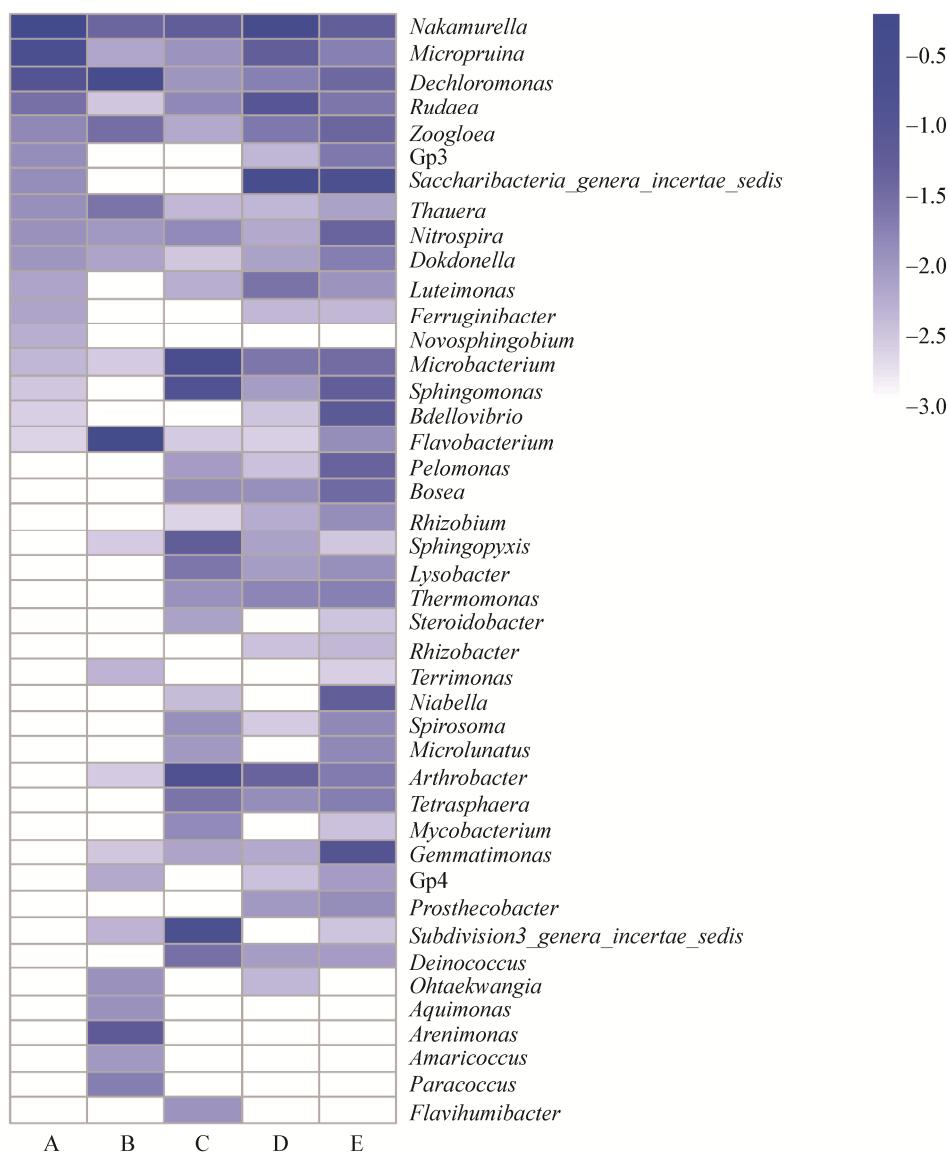


图 7 活性污泥微生物属水平群落结构热图

Figure 7 Heat map of genera of activated sludge microorganisms

注 : A : 葡萄糖 ; B : 乙酸钠 ; C : 蛋白胨 ; D : 葡萄糖:蛋白胨(1:1) ; E : 乙酸钠:蛋白胨(1:1).

Note: A: Glucose; B: Sodium acetate; C: Peptone; D: Glucose:peptone (1:1); E: Sodium acetate:peptone (1:1).

关 ( $P<0.05$ ) ; 异构脂肪酸 (IFA) 与 *Thauera*、*Dechloromonas* 以及 *Flavobacterium* 显著负相关 ( $P<0.05$ )。这些菌属随着碳源的不同, 其含量均发生了较大的变化(图 6)。且已有研究表明, *Nakamurella* 和 *Micropruina* 在以葡萄糖为碳源时

成为优势菌<sup>[27-28]</sup>; 乙酸钠为碳源时 *Dechloromonas* 和 *Flavobacterium* 得到了显著增加<sup>[30]</sup>。综上可以看出, 不同碳源驯化出不同的微生物群落, 进而对微生物细胞膜 PLFA 组成产生了影响, 两者的变化是影响出水水质的重要原因。

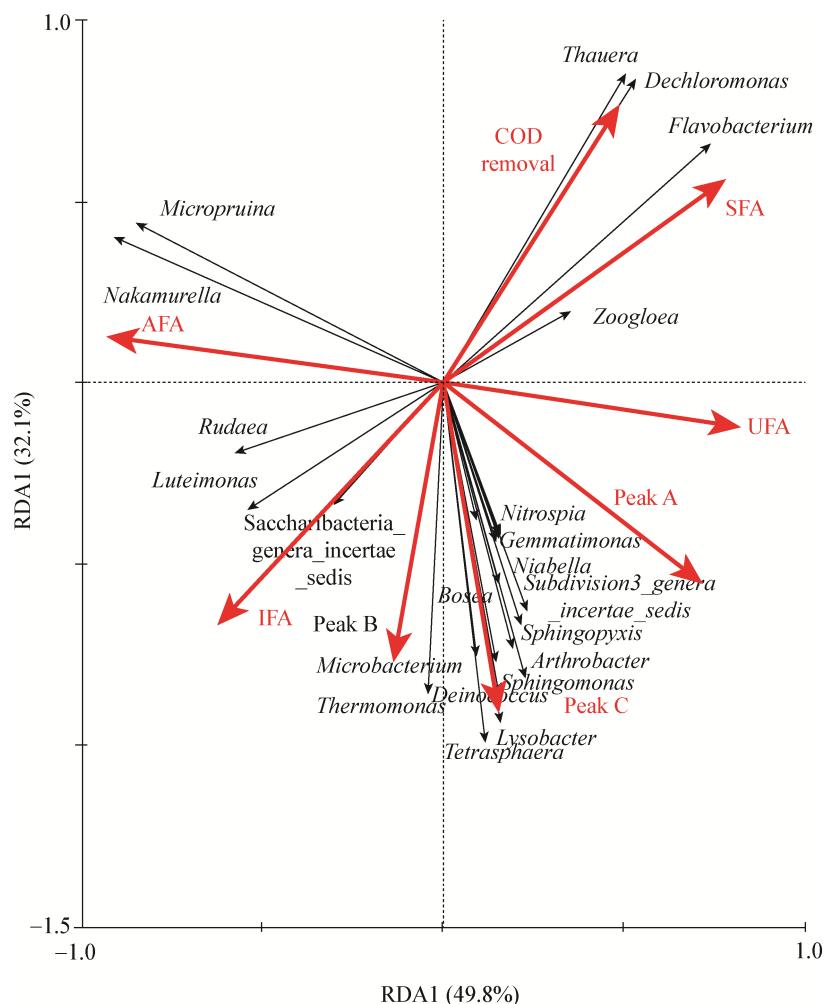


图 8 RDA 分析微生物群落与膜磷脂和出水水质关系

Figure 8 RDA analysis of microbial community in relation to phospholipid and effluent quality

注 : SFA、UFA、AFA、IFA : 饱和、不饱和、反式异构和异构脂肪酸 ; Peak A、Peak B、Peak C : 类芳香族蛋白峰、类微生物产物蛋白峰、类腐殖酸峰。

Note: SFA, UFA, AFA and IFA represent saturated, unsaturated, anteiso and iso fatty acid; Peak A, B and C represent the fluorescence intensity of aromatic protein-like, souble microbial products-like and humic acid-like substance, respectively.

### 3 结论

(1) 微生物表面粘附力方面 , 含有蛋白胨为碳源时活性污泥表面粘附力得到了增大 , 且以蛋白胨为单一碳源时污泥粘附力最大 , 为  $38.7 \pm 3.6$  nN。

(2) 细胞膜 PLFA 组成和流动性方面 , 含有蛋白胨为碳源时污泥支链脂肪酸和不饱和脂肪酸的总含量较为相似 , 细胞膜磷脂流动性得到了增强。葡萄糖促进了 15:0anteiso 的增多 , 乙酸钠促进了 16:1ω7c 的增多。PCA 分析结果显示 , 含有蛋白胨

为碳源的反应器细胞膜 PLFA 组成表现出相似性。

(3) 微生物群落结构方面 , 蛋白胨的出现增加了活性污泥微生物群落结构多样性。葡萄糖和乙酸钠为单一碳源时其优势菌门分别为放线菌门和变形菌门 , 含有蛋白胨为碳源时促进了 Candidatus Saccharibacteria 门的累积。

(4) 不同碳源会导致微生物合成 PLFA 的差异 , 进而影响细胞膜 PLFA 组成 ; 此外 , 碳源的不同改变了微生物群落结构 , 也对微生物细胞膜

PLFA 组成产生了影响。

## 参 考 文 献

- [1] Yang X, Peng YZ, Song JC, et al. Effect of influent carbohydrates with different molecule-size on sludge settleability[J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(2): 448-456 (in Chinese)  
杨雄, 彭永臻, 宋姬晨, 等. 进水中碳水化合物分子大小对污泥沉降性能的影响[J]. 中国环境科学, 2015, 35(2): 448-456
- [2] Wu CY, Peng YZ, Peng Y, et al. Influence of carbon source on biological nutrient removal in A<sup>2</sup>O process[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(3): 798-802 (in Chinese)  
吴昌永, 彭永臻, 彭轶, 等. 碳源类型对 A<sup>2</sup>O 系统脱氮除磷的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(3): 798-802
- [3] Guerrero J, Guisasola A, Baeza JA. The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal[J]. *Water Research*, 2011, 45(16): 4793-4802
- [4] Lopez-Vazquez CM, Oehmen A, Hooijmans CM, et al. Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature[J]. *Water Research*, 2009, 43(2): 450-462
- [5] Liu X. A comparative study of extracellular polymeric substance of activated sludge and biofilm, and their effects on sludge characteristics[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Fudan University, 2009 (in Chinese)  
刘翔. 活性污泥和生物膜的胞外聚合物性质及其对污泥性能影响的比较研究[D]. 上海: 复旦大学博士学位论文, 2009
- [6] Liao BQ, Lin HJ, Langevin SP, et al. Effects of temperature and dissolved oxygen on sludge properties and their role in bioflocculation and settling[J]. *Water Research*, 2011, 45(2): 509-520
- [7] Carvalheira M, Oehmen A, Carvalho G, et al. The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms[J]. *Water Research*, 2014, 66: 296-307
- [8] Niu C, Geng JJ, Ren HQ, et al. The strengthening effect of a static magnetic field on activated sludge activity at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 150: 156-162
- [9] Ramos JL, Duque E, Gallegos MT, et al. Mechanisms of solvent tolerance in Gram-negative bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2002, 56: 743-768
- [10] Nenninger A, Mastroianni G, Robson A, et al. Independent mobility of proteins and lipids in the plasma membrane of *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 92(5): 1142-1153
- [11] Zhou LN, Su RH, Ma SJ, et al. Effects of nitrite, nitrate and ammonia nitrogen on anaerobic microbial community characterized by using phospholipid fatty acid PLFA method[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(2): 499-505 (in Chinese)  
周莉娜, 苏润华, 马思佳, 等. 基于 PLFA 法分析亚硝氮、硝氮和氨氮对厌氧微生物细菌群落的影响[J]. 环境科学学报, 2016, 36(2): 499-505
- [12] Fang JS, Lyon DY, Wiesner MR, et al. Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(7): 2636-2642
- [13] Fang JS, Lovanh N, Alvarez PJJ. The use of isotopic and lipid analysis techniques linking toluene degradation to specific microorganisms: applications and limitations[J]. *Water Research*, 2004, 38(10): 2529-2536
- [14] Ingram LO. Adaptation of membrane lipids to alcohols[J]. *Journal of Bacteriology*, 1976, 125(2): 670-678
- [15] Ahmed Z, Lim BR, Cho J, et al. Biological nitrogen and phosphorus removal and changes in microbial community structure in a membrane bioreactor: effect of different carbon sources[J]. *Water Research*, 2008, 42(1/2): 198-210
- [16] Hagman M, Nielsen JL, Nielsen PH, et al. Mixed carbon sources for nitrate reduction in activated sludge-identification of bacteria and process activity studies[J]. *Water Research*, 2008, 42(6/7): 1539-1546
- [17] Wang TX, Ma XY, Wang MM, et al. A comparative study of microbial community compositions in thermophilic and mesophilic sludge anaerobic digestion systems[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(1): 26-35 (in Chinese)  
王腾旭, 马星宇, 王萌萌, 等. 中高温污泥厌氧消化系统中微生物群落比较[J]. 微生物学通报, 2016, 43(1): 26-35
- [18] Ministry of Environment Protection of China. Standard Methods for the Examinations of Water and Wastewater[M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002 (in Chinese)  
国家环境保护局. 水和废水监测分析方法[M]. 第 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002
- [19] Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254
- [20] Huang H, Ren HQ, Ding LL, et al. Aging biofilm from a full-scale moving bed biofilm reactor: characterization and enzymatic treatment study[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 154: 122-130
- [21] Zhu Y, Zhang Y, Ren HQ, et al. Physicochemical characteristics and microbial community evolution of biofilms during the start-up period in a moving bed biofilm reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 180: 345-351
- [22] Mullineaux CW, Nenninger A, Ray N, et al. Diffusion of green fluorescent protein in three cell environments in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(10): 3442-3448
- [23] Schwartz JL, Snapp E, Kenworthy A. Studying protein dynamics in living cells[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2001, 2: 444-456
- [24] Li YY, Wang X, Hayden AO, et al. Universal quantifier derived from AFM analysis links cellular mechanical properties and cell-surface integration forces with microbial deposition and transport behavior[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(3): 1769-1778
- [25] Pussak D, Ponader D, Mosca S, et al. Specific adhesion of carbohydrate hydrogel particles in competition with multivalent inhibitors evaluated by AFM[J]. *Langmuir*, 2014, 30(21): 6142-6150
- [26] Liu DH. Polypeptide distribution of bone peptone and its influence of fermentation[D]. Harbin: Master's Thesis of Heilongjiang University, 2011 (in Chinese)  
刘定杭. 牛骨蛋白胨中多肽分布及对工业菌株发酵的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学硕士学位论文, 2011
- [27] Yadav TC, Khardenavis AA, Kapley A. Shifts in microbial community in response to dissolved oxygen levels in activated sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 165: 257-264
- [28] Liu N. The effects of SRT on the characteristics of the biochemical treatment system[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University, 2013 (in Chinese)  
刘娜. SRT 对生化处理系统运行特性的影响[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2013
- [29] Begum SA, Batista JR. Microbial selection on enhanced biological phosphorus removal systems fed exclusively with glucose[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(5): 2181-2193
- [30] Tice H, Mayilraj S, Sims D, et al. Complete genome sequence of *Nakamurella multipartita* type strain (Y-104<sup>T</sup>)[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2010, 2(2): 168-175
- [31] Shintani T, Liu WT, Hanada S, et al. *Micropruina glycogenica* gen. nov., sp. nov., a new Gram-positive glycogen-accumulating bacterium isolated from activated sludge[J]. *International Journal*

- of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50(1): 201-207
- [32] Xin XD, He JG, Wang YF, et al. Role of aeration intensity on performance and microbial community profiles in a sequencing batch reaction kettle (SBRK) for wastewater nutrients rapid removal[J]. Bioresource Technology, 2016, 201: 140-147
- [33] Mulla SI, Hu A, Wang YW, et al. Degradation of triclocarban by a triclosan-degrading *Sphingomonas* sp. strain YL-JM2C[J]. Chemosphere, 2016, 144: 292-296
- [34] Pérez MC, Álvarez-Hornos FJ, Engesser KH, et al. Removal of 2-butoxyethanol gaseous emissions by biotrickling filtration packed with polyurethane foam[J]. New Biotechnology, 2016, 33(2): 263-272
- [35] Aira M, Olcina J, Pérez-Losada M, et al. Characterization of the bacterial communities of casts from *Eisenia andrei* fed with different substrates[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 98: 103-111
- [36] Liu Z, Yang SB, Song XM, et al. Effect on microbial growth and activity of amino acid nutrition[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2010(5): 13-15 (in Chinese)  
刘政, 杨绍斌, 宋小美, 等. 氨基酸类营养对微生物生长及活性的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2010(5): 13-15
- [37] Zhang B, Sun BS, Liu HN, et al. Comparison of microbial community structure in MBRs treating different wastewater[J]. Environmental Science, 2008, 29(10): 2944-2949 (in Chinese)  
张斌, 孙宝盛, 刘慧娜, 等. 处理不同废水 MBR 系统中微生物群落结构的比较[J]. 环境科学, 2008, 29(10): 2944-2949
- [38] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intrageneric heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 5962-5969

## 2017 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-1)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
1	第三届国际休克与脓毒症高峰论坛	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	3月 10-12 日	1800	广东 广州	张庆红 010-66867382
2	深海微生物前沿高层论坛	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	3月	30	厦门或 济南	张玉忠
3	酿造科学与技术发展学术研讨会	中国微生物学会酿造分会	3月	50	北京	高洁
4	第五届全国人畜共患病学术研讨会通知	中国微生物学会主办,兽医微生物学专业委员会、人兽共患病学专业委员会承办	4月 21-24 日	600	江苏 南京	杨海花 王旭 010-64807200
5	第二届全国医学微生物学与免疫学青年论坛	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	4月 21-23 日	150	四川 成都	胡启文
6	第二届中国临床微生物学检测技术培训及分析研讨会议	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	4-5 月	200	陕西 西安	李秀娥
7	第一届中国临床微生物学结核病基础、检验与临床高峰论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	5月 12-14 日	200	陕西 西安	马越云
8	2017 年生物安全学术研讨会	中国微生物学会微生物生物安全专业委员会	5月	100	江苏 南京	贾晓娟 010-64806013
9	中国人兽共患病研究新技术培训	中国微生物学会人兽共患病病原学专业委员会	5月 13-15 日	150	江苏 泰州	蒋毅 010-58900779
10	中国临床微生物学感染免疫论坛及第四届四川省临床微生物学术交流会	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	5月下旬	80	四川 简阳	刘诗颖
11	第八届传染病防控基础研究与应用技术论坛	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	6月中旬	900	青海 西宁	吕相征 010-85158365
12	中俄双边病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	6月	300	俄罗斯	吴莹
13	第十六届微生物学教学和科研及成果产业化研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	7月中下旬	200	广东 广州	陆勇军 luyj@mail.sysu.edu.cn
14	第十二届全国病毒学学术年会	中国微生物学会病毒学专业委员会	7月或 8 月	500	云南 昆明	吴莹
15	第六届工业企业微生物安全控制技术与实践研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	8月	200	北京	姚粟 胡育骄
16	全国酶工程学术研讨会	中国微生物学会酶工程专业委员会	8月	300	武汉	欧阳浩森 010-64807420
17	病原真菌研究动态高峰研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	8月	30	北京	刘伟 010-83573056
18	医学真菌学培训班	中国微生物学会真菌学专业委员会	8月	100	北京	万喆 010-83573056
19	新疫苗研究讨论会	中国微生物学会生物制品专业委员会	8月	50	北京	毛群颖