

# 中国东海及南海近海 4 采样点 海水可培养细菌的多样性研究

卢靖雯<sup>1</sup>, 张心齐<sup>2</sup>, 杜丽丽<sup>1</sup>, 杨志坚<sup>3</sup>, 吴 敏<sup>2</sup>, 卢龙斗<sup>1\*</sup>

(1. 河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007; 2. 浙江大学 生命科学院, 浙江 杭州 310058;

3. 浙江大学 舟山海洋研究中心, 浙江 舟山 316021)

**摘 要:**采用不同的培养方法从中国东海和南海近海水样中分离得到 105 株细菌,探讨了不同海区可培养细菌的物种多样性和群落组成特点. 16S rDNA 序列分析结果表明,东海分离菌株分属于 2 个细菌门的 14 个种,南海分离菌株分属于 3 个细菌门的 19 个种. 其中,东海分离菌株中  $\alpha$ -变形菌占 33.3%,  $\gamma$ -变形菌占 57.2%, 厚壁菌门细菌占 9.5%. 南海分离菌株中  $\alpha$ -变形菌占 41.9%,  $\gamma$ -变形菌占 35.5%, 拟杆菌门细菌占 17.7%, 厚壁菌门细菌占 4.8%. 东海和南海样品的分离菌株在种属水平上的多样性差异明显,后者的多样性指数高于前者.

**关 键 词:**细菌; 可培养; 多样性

中图分类号: Q 938

文献标志码: A

文章编号: 1008-9497(2012)04-443-07

LU Jing-wen<sup>1</sup>, ZHANG Xin-qi<sup>2</sup>, DU Li-li<sup>1</sup>, YANG Zhi-jian<sup>3</sup>, WU Min<sup>2</sup>, LU Long-dou<sup>1</sup> (1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxian 453007, Henan Province, China; 2. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. Zhoushan Research Center of Oceanography, Zhejiang University, Zhoushan 316021, Zhejiang Province, China)

**Bacterial isolation and diversity analysis of four seawater sampling sites of the East China Sea and the South China Sea.**  
Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2012, 39(3): 443-449

**Abstract:** A total of 105 strains were obtained from four sampling sites of the East China Sea and the South China Sea. Bacterial diversity and characteristics of bacteria communities were investigated. According to 16S rRNA gene sequences alignment, strains isolated from the East China Sea belong to 2 phyla and 14 species and strains isolated from the South China Sea belong to 3 phyla and 19 species. Strains isolated from the East China Sea were composed by  $\gamma$ -proteobacteria (57.2%),  $\alpha$ -proteobacteria (33.3%) and Firmicutes (9.5%). Strains isolated from the South China Sea composed by  $\gamma$ -proteobacteria (35.5%),  $\alpha$ -proteobacteria (41.9%), Bacteroidetes (17.7%) and Firmicutes (4.8%). Composition of isolated strains in genus and species level of the East China Sea and the South China Sea were significantly different. Microbial diversity of strains from the East China Sea was higher than that of the South China Sea.

**Key Words:** bacteria; cultivation; diversity

我国东海和南海面积广阔,水文环境各异,微生物类群多样性高,不同海域微生物群落结构差异显著.近年来我国科研人员对东海和南海微生物的调查包括宋志刚等<sup>[1]</sup>对分离自东海的 58 株单菌 16S rRNA 基因扩增产物进行限制性片段长度多态性分

析(ARDRA)、霍颖异等<sup>[2]</sup>对浙江苍南大渔湾沉积物微生物多样性分析、黄备等<sup>[3]</sup>用 API 细菌鉴定系统对浙江沿海微生物的调查、FENG 等<sup>[4]</sup>用非培养方法对长江口和东南沿海微生物进行调查、王鹏等<sup>[5]</sup>对南海北部陆坡深水区沉积物细菌多样性分析

收稿日期: 2011-02-23.

基金项目: 舟山市科技计划项目(市校合作科技专项资金项目,编号 10323).

作者简介: 卢靖雯(1984-),女,硕士生,主要从事微生物资源开发研究.

\* 通信作者, E-mail: lld5910@yahoo.com.

及李涛等<sup>[6]</sup>对南海西沙海槽表层沉积物微生物多样性调查等,这些研究初步表明我国东海和南海具有丰富的微生物资源,但对我国东海和南海可培养微生物多样性的比较分析尚缺少相关研究报道。

本研究从中国东海和南海近海采集样品,通过分离培养的方法调查可培养细菌多样性,分析了不同海域样品细菌的组成结构特点,为我国海洋微生物资源的深入研究提供基础数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

样品 Za1 和 Za3 取自中国东海表层海水(取样深度为 0~0.5 m),地理坐标分别为(122°28'31"E, 29°33'10"N)和(122°36'44"E, 29°30'55"N),采样时间为 2010 年 4 月;样品 NH3 和 NH9 取自中国南海表层海水,地理坐标分别为(115°54'43"E, 18°26'38"N)和(116°59'9"E, 19°35'57"N),采样时间为 2009 年 6 月。采样点位置如图 1 所示。样品采集后放入 4℃ 冰箱保存,运抵实验室后及时进行菌株分离。

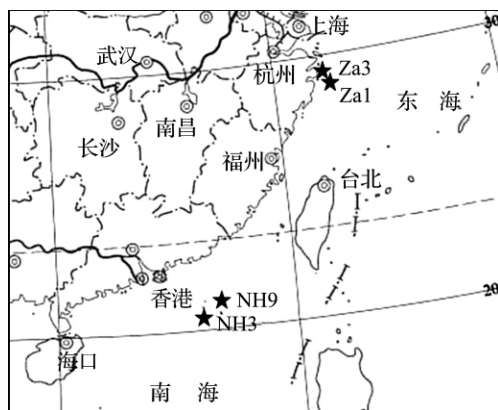


图 1 中国东海和南海采样点分布

Fig. 1 Sampling sites of the East China Sea and the South China Sea

#### 1.1.2 培养基

培养基组成( $L^{-1}$ ): Ferric citrate 0.044 mg, NaCl 25.40 g,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  5.80 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  6.64 g,  $CaCl_2$  1.11 g, KCl 0.55 g,  $NaHCO_3$  0.16 g, KBr 0.08 g, Bacto peptone 0.25 g, Bacto casein hydrolysate 0.25 g,  $SrCl_2 \cdot 6H_2O$  57.00 mg,  $H_3BO_3$  22.00 mg,  $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$  30.00 mg, NaF 2.40 mg,  $NH_4NO_3$  1.20 mg,  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$  8.07 mg, biotin 2.00 mg, folic acid 2.00 mg, pyridoxine hydrochloride 10.00 mg, thiamine hydrochloride  $\cdot 2H_2O$  5.00 mg, riboflavin 5.00 mg, nicotinic acid 5.00 mg, D-Ca-par-

tothenate 5.00 mg, vitamin  $B_{12}$  0.10 mg, p-amino-benzoic acid 5.00 mg, thiocetic acid 5.00 mg, 10 mL 有机碳源混合液母液,加去离子水至 1 000 mL。

有机碳源混合液母液组成:葡萄糖、核糖、果糖、麦芽糖、纤维二糖、海藻糖、棉子糖、天冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、琥珀酸钠、柠檬酸钠和乙酸钾,各组分质量浓度均为  $1 g \cdot L^{-1}$ 。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌株分离纯化

采用海水样品梯度稀释和营养成分梯度稀释 2 种方式培养。

海水样品用灭菌海水稀释,稀释倍数为  $10^0$ ,  $10^1$  和  $10^2$ 。取 0.5 mL 稀释后的样品涂布于培养基平板,25℃ 光照培养。

营养成分按照稀释 1, 2, 5, 10 倍的量配置成液体培养基,加入海水样品后 25℃ 光照培养。适当培养后,取 0.2 mL 菌液适当稀释后涂布平板,25℃ 光照培养。

待菌落长出后,挑取单菌落反复划线纯化直至获得纯菌。

#### 1.2.2 基因组 DNA 提取和 16S rRNA 基因序列扩增

以无菌去离子水制备适当浓度的菌悬液,沸水浴 30 min 后立即冰浴,获取 DNA 模板。16S rRNA 基因的 PCR 扩增采用细菌通用引物 Forward 8-27 (5'-AGAGTTTGTACCTGGCTCAG-3') 和 Reversal 1 512-1 492 (5'-ACGGHTACCTTGTTACGACTT-3')。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 55℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 75 s, 33 个循环, 72℃ 后延伸 10 min。

#### 1.2.3 细菌多样性分析

以 16S rRNA 基因序列相似性小于等于 98% 作为种的划分标准<sup>[7]</sup>,采用 Shannon 多样性指数 (Shannon index,  $H'$ )、Margalef 丰富度指数 (Margalef index,  $D_{Mg}$ )、Shannon 均匀度指数 (Shannon evenness,  $E$ ) 和 Berger-Parker 优势度指数 (Berger-Parker dominance index,  $d$ ) 衡量细菌多样性<sup>[8]</sup>。

#### 1.2.4 基于 16S rRNA 基因的系统发育分析

通过 Blastn 和 EzTaxon server 2.1<sup>[9]</sup> 对各菌株的 16S rRNA 基因序列进行相似性比对。使用软件 Clustal X 1.81 对菌株 16S rRNA 基因序列及其在 GenBank 数据库中的近源序列进行多序列比对分析。在此基础上,采用软件 Mega 4.0 中的“Kimura 2-parameter”模型计算进化距离,使用 Neighbor-joining 方法构建系统发育树。

## 2 结 果

### 2.1 菌株分离和系统发育分析

从中国东南近海海水样品中共分离获得细菌 105 株,其中东海样品分离菌株 43 株,南海样品分离菌株 62 株. 16S rRNA 基因序列的相似性分析结果表明,东海分离菌株代表了 2 个门,3 个纲,6 个目,8 个科,13 个属的 14 个细菌种,南海分离菌株代表了 3 个门,5 个纲,12 个目,12 个科,14 个属的 19 个细菌种(见表 1、2).

表 1 东海样品分离菌株的分布

Table 1 Distribution of strains isolated from the East China Sea

| 类群            | 相似物种                                                      | 菌株数 | 相似性        |
|---------------|-----------------------------------------------------------|-----|------------|
| 厚壁菌门          | <i>Bacillus stratosphericus</i> 41KF2a <sup>T</sup>       | 4   | 99.8~100   |
|               | <i>Loktanella rosea</i> Fg36 <sup>T</sup>                 | 4   | 98.9~99.2  |
|               | <i>Loktanella vestfoldensis</i> LMG 22003 <sup>T</sup>    | 4   | 99.6~99.7  |
| $\alpha$ -变形菌 | <i>Phaeobacter caeruleus</i> CCUG 55859 <sup>T</sup>      | 1   | 96.749     |
|               | <i>Ruegeria scottomollicae</i> LMG 24367 <sup>T</sup>     | 1   | 97.419     |
|               | <i>Sulfitobacter mediterraneus</i> DSM 12244 <sup>T</sup> | 3   | 97.4~97.7  |
| $\gamma$ -变形菌 | <i>Tateyamaria pelophila</i> SAM4 <sup>T</sup>            | 1   | 96.835     |
|               | <i>Aestuariibacter halophilus</i> JC2043 <sup>T</sup>     | 2   | 95.3~96.1  |
|               | <i>Alcanivorax dieselolei</i> B-5 <sup>T</sup>            | 3   | 99.8~100   |
|               | <i>Alteromonas stellipolaris</i> LMG 21861 <sup>T</sup>   | 1   | 99.633     |
|               | <i>Amphritea atlantica</i> M41 <sup>T</sup>               | 1   | 100        |
|               | <i>Pseudoalteromonas marina</i> Mano4 <sup>T</sup>        | 14  | 99.832~100 |
|               | <i>Pseudomonas koreensis</i> Ps 9-14 <sup>T</sup>         | 2   | 99.65      |
|               | <i>Sinobacter flavus</i> CW-KD 4 <sup>T</sup>             | 1   | 93.675     |

表 2 南海样品分离菌株的分布

Table 2 Distribution of strains isolated from the South China Sea

| 类群            | 相似物种                                                                      | 菌株数 | 相似性       |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------|-----|-----------|
| 厚壁菌门          | <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i> BGSC 3A28 <sup>T</sup> | 2   | 100       |
|               | <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> NCIB 3610 <sup>T</sup>    | 1   | 99.82     |
| 拟杆菌门          | <i>Cellulophaga lytica</i> ATCC 23178 <sup>T</sup>                        | 2   | 99.1      |
|               | <i>Maribacter dokdonensis</i> DSW-8 <sup>T</sup>                          | 7   | 99.8      |
|               | <i>Marivirga tractuosa</i> NBRC 15989 <sup>T</sup>                        | 1   | 98.797    |
|               | <i>Muricauda lutimaris</i> SMK-108 <sup>T</sup>                           | 1   | 99.808    |
| $\alpha$ -变形菌 | <i>Aurantimonas corallicida</i> WP1 <sup>T</sup>                          | 3   | 100       |
|               | <i>Erythrobacter citreus</i> RE35F/1 <sup>T</sup>                         | 12  | 100       |
|               | <i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10 <sup>T</sup>                       | 1   | 99.844    |
|               | <i>Sulfitobacter dubius</i> KMM 3554 <sup>T</sup>                         | 6   | 99.3~99.7 |
|               | <i>Thalassospira tepidiphila</i> 1-1B <sup>T</sup>                        | 4   | 100       |
|               | <i>Alcanivorax venustensis</i> ISO4 <sup>T</sup>                          | 1   | 100       |
| $\gamma$ -变形菌 | <i>Halomonas meridiana</i> DSM 5425 <sup>T</sup>                          | 1   | 99.465    |
|               | <i>Idiomarina abyssalis</i> KMM 227 <sup>T</sup>                          | 5   | 99.6~99.7 |
|               | <i>Idiomarina marina</i> PIM1 <sup>T</sup>                                | 2   | 98.854    |
|               | <i>Idiomarina ramblicola</i> R22 <sup>T</sup>                             | 2   | 99.83     |
|               | <i>Pseudoalteromonas marina</i> Mano4 <sup>T</sup>                        | 4   | 99.8      |
|               | <i>Pseudoalteromonas paragorgicola</i> KMM 3548 <sup>T</sup>              | 1   | 100       |
|               | <i>Pseudomonas pelagia</i> CL-AP6 <sup>T</sup>                            | 6   | 97.6~97.7 |

表 1 和表 2 分别显示了东海和南海分离菌株与 GenBank 数据库中已知的相近菌株间的系统发育关系,图 2 和图 3 分别显示了东海和南海菌株在系统发育上的分类地位.

### 2.2 系统发育多样性比较分析

从分离菌株的群落结构来看,在 2 个海域的表层海水中,变形菌均为优势菌群.在东海分离菌株中约占 90.5%,其中  $\alpha$ -变形菌占 33.3%, $\gamma$ -变形菌占 57.2%;在南海分离菌株中约占 77.4%,其中  $\alpha$ -变形菌占 41.9%, $\gamma$ -变形菌占 35.5%.厚壁菌门细菌在东海和南海分离菌株中所占的比例分别为 9.5%和 4.8%.东海样品中未分离得到拟杆菌门细菌,而其在南海分离菌株中所占比例为 17.7%.从种属水平的分布来看,东海和南海分离菌株间的差别明显,除 *Bacillus*、*Sulfitobacter*、*Alcanivorax*、*Pseudoalteromonas*、*Pseudomonas* 属在 2 个海区均有发现外,其他各属在 2 个海域都没有同时出现.

从多样性指数来看,南海分离菌株的 Shannon 多样性指数 ( $H'$ )、Margalef 丰富度指数 ( $D_{Mg}$ ) 和 Shannon 均匀度指数 ( $E$ ) 均高于东海分离菌株,而东海分离菌株的 Berger-Parker 优势度指数 ( $d$ ) 相对较高(见表 3).

表 3 微生物多样性测定和丰富度模型

Table 3 Diversity measurement and abundance model of isolated bacteria

| 多样性指数                   | 计算公式                             | 东海   | 南海   |
|-------------------------|----------------------------------|------|------|
| Shannon 多样性指数 $H'$      | $H' = -\sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$ | 2.21 | 2.63 |
| Margalef 丰富度指数 $D_{Mg}$ | $D_{Mg} = \frac{(S-1)}{\ln N}$   | 3.46 | 4.36 |
| Shannon 均匀度指数 $E$       | $E = \frac{H'}{\ln S}$           | 0.84 | 0.89 |
| Berger-Parker 优势度指数 $d$ | $d = \frac{n_{\max}}{N}$         | 0.33 | 0.19 |

## 3 讨 论

分离培养是微生物学一项传统但不可或缺的探究,虽然近年来非培养手段不断发展并在微生物多样性调查中得到广泛应用,但纯培养仍然是对微生物生理特性和生态功能进行深入分析的基础,因此菌株的分离纯化一直受到微生物学家的高度重视<sup>[10,11]</sup>.在微生物培养过程中,个别种类的微生物由于数量占优势或生长速度较快等原因,在培养初期大量生长,“淹没”了那些数量较少、生长速度较慢的物种,而高浓度的营养物质对一些微生物具有毒性,样品稀释和营养成分稀释是解决这些问题的有效方法,本文同时采用这 2 种方法以提高可培养微生物的多样性,这 2 种方法获得微生物的多样性指数相比较则相差不大.

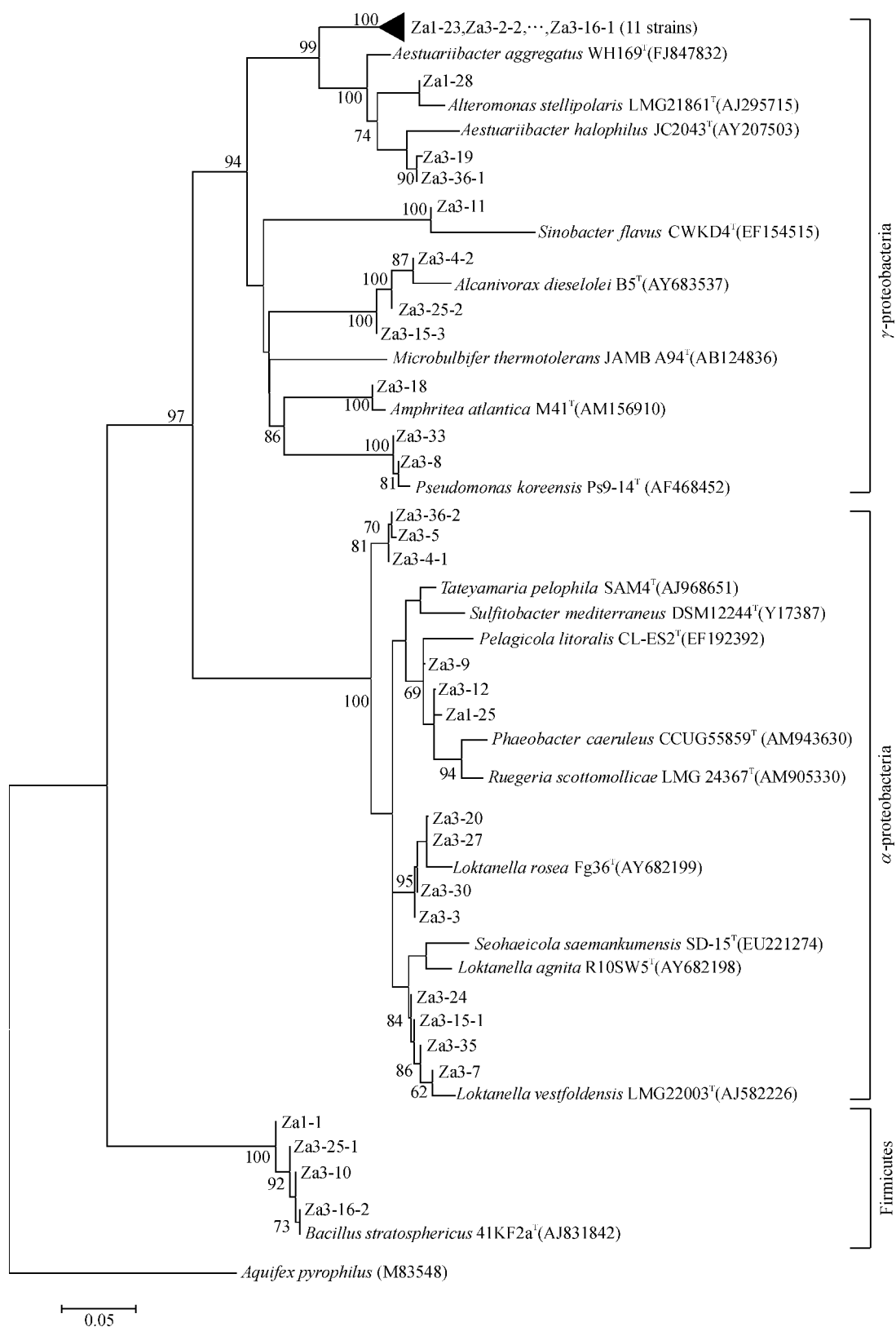


图 2 东海样品分离菌株系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of bacteria isolated from the East China Sea

重复次数为 1 000 次, 小于 60% 的置信度未在树上显示

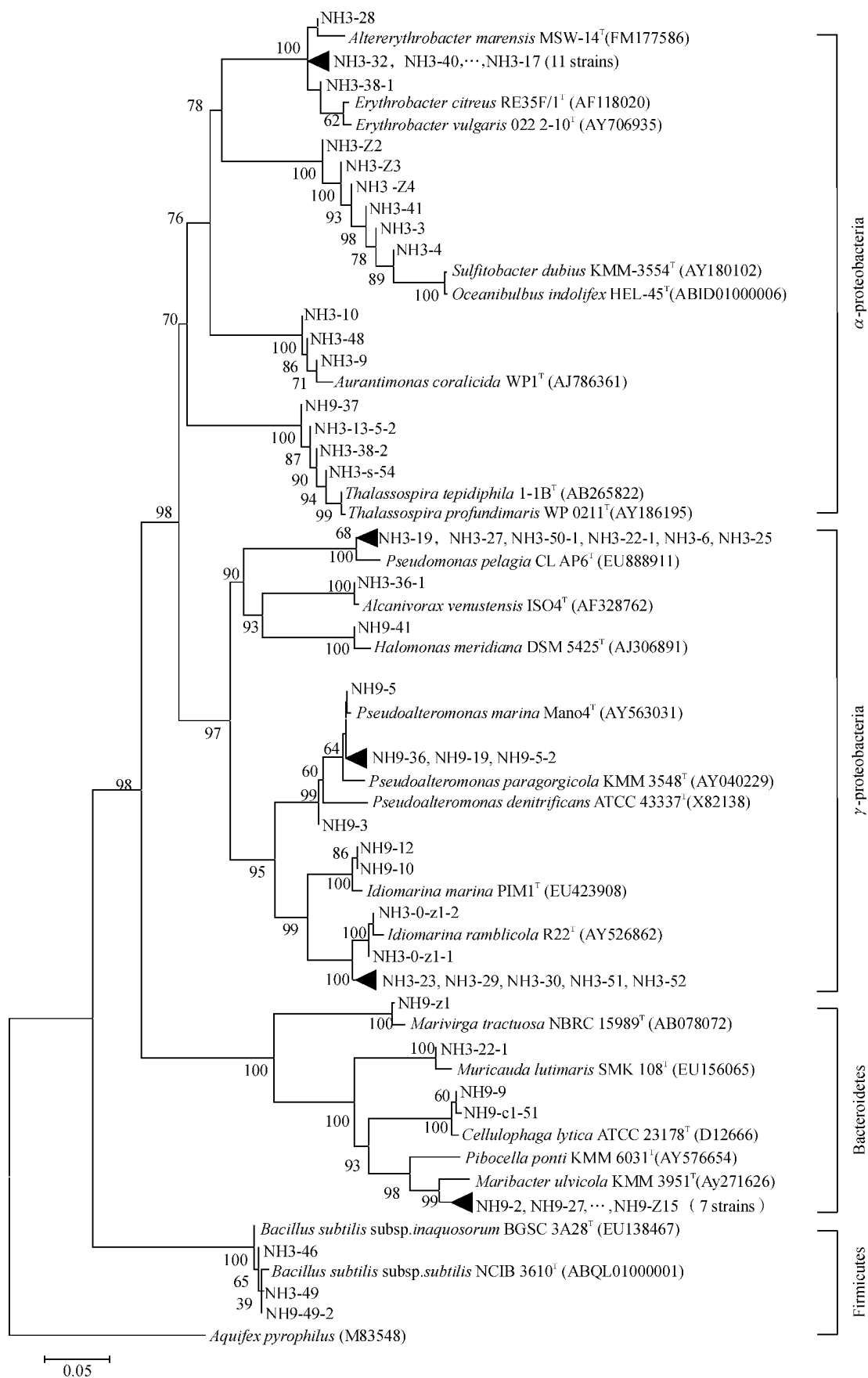


图 3 南海样品分离菌株系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of bacteria isolated from the South China Sea

重复次数为 1 000 次, 小于 60% 的置信度未在树上显示

根据国内外学者的研究结果<sup>[12-17]</sup>,变形菌、芽孢杆菌和拟杆菌等构成了近海水域最主要的微生物类群,这与本文的实验结果相一致.同时,本文的研究结果也显示出我国近海微生物类群与其他海域的不同特点,如 LLOBET-BROSSA 等<sup>[13]</sup>用 FISH 方法研究 Wadden 海湾微生物群落结构时发现拟杆菌和硫酸盐还原菌是主要的微生物类群,URAKA-WA 等<sup>[14]</sup>用 ARDRA 和 RFLP 方法研究日本海湾微生物多样性时,发现主要的微生物类群为  $\gamma$ -变形菌和革兰氏阳性菌,没有发现  $\alpha$ -变形菌.在本文的研究中, $\alpha$ -变形菌门微生物是最主要的微生物类群, $\gamma$ -变形菌也占有很大比例,拟杆菌门和厚壁菌门微生物则占比较低.

东海和南海取样点在水温、水质和其他生物学因素上有显著不同,Za1 和 Za3 取样点距离大陆架较近,与舟山群岛距离仅数十 km,海水水质受陆源物质影响较大,而 NH3 和 NH9 取样点则距陆地数百 km,受陆源物质影响相对较小,这些生存环境的差异是东海和南海分离细菌在类群组成上有明显差异的原因之一.本研究共获得 22 个细菌属的菌株,其中在 2 个海区样品中同时存在的仅有 *Bacillus*、*Sulfitobacter*、*Alcanivorax*、*Pseudoalteromonas*、*Pseudomonas* 5 个属,这 5 个属的微生物在自然界中的分布非常广泛,适应能力强且在实验室中的可培养化概率较高.另外,拟杆菌门细菌在南海样品中共分离得到 11 株,而在东海样品中则未发现,这一结果与之前的研究报道一致,如在霍颖异等<sup>[2]</sup>对浙江苍南近海沉积物微生物多样性的研究中,通过可培养和非培养的方法均未发现拟杆菌门微生物的存在,这种现象产生的原因有待进一步调查.从多样性指数来看,南海站点微生物类群 Shannon 多样性指数( $H'$ )和 Margalef 丰富度指数( $D_{Mg}$ )均高于东海分离菌株,这可能是由于 Za1 和 Za3 取样点距离大陆较近,水质污染相对严重,营养物质丰富,优势微生物类群大量繁殖,导致水体微生物多样性下降,在远离大陆的南海站点,海水相对贫瘠,有利于各种低丰度的微生物正常生长.取样点 Za1 和 Za3 之间,以及 NH3 和 NH9 之间由于间隔距离较近,环境差异较小,因此,分离得到的细菌类群组成也较为相近.此外,本研究未分离获得  $\delta$ -变形菌和  $\epsilon$ -变形菌,这与这 2 类微生物在海水中的生物量和生长特性有关.

海洋微生物多样性研究不仅有利于丰富我国微生物资源,而且对于研究微生物在海洋生态系统中的作用、了解人类活动和环境破坏对海洋微生物群

落的影响都有指导作用,采用新的思路和理念提高微生物可培养性,并对微生物的代谢和功能进行研究是未来发展的重要方向.

#### 参考文献(References):

- [1] 宋志刚,许强芝,鲁心安,等.中国东海海洋微生物种群多样性初步研究[J].微生物学通报,2006,33(1):63—67.  
SONG Zhi-gang, XU Qiang-zhi, LU Xin-an, et al. A primary study on population biodiversity of marine microorganisms from East China Sea[J]. *Microbiology*, 2006,33(1):63—67.
- [2] 霍颖异,许学伟,王春生,等.浙江苍南近海沉积物细菌物种多样性[J].生态学报,2008,28(10):5166—5172.  
HUO Ying-yi, XU Xue-wei, WANG Chun-sheng, et al. Bacterial diversity of the sediment from Cangnan Large Fishing Bay[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008,28(10):5166—5172.
- [3] 黄备,闵怀,唐静亮,等.浙江沿海海洋微生物群落的研究[J].中国环境监测,2009,25(2):44—47.  
HUANG Bei, MIN Huai, TANG Jing-liang, et al. Study of the microorganism community in Zhejiang offshore[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2009,25(2):44—47.
- [4] FENG Bi-wei, LI Xiao-ran, WANG Jin-hui, et al. Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009,70(2):236—248.
- [5] 王鹏,李涛.南海北部陆坡深水区沉积物细菌多样性调查[J].海洋科学,2008,32(4):36—39.  
WANG Peng, LI Tao. Phylogenetic analysis of bacterial community in deep sea sediment from northern slope of the South China Sea[J]. *Marine Sciences*, 2008,32(4):36—39.
- [6] 李涛,王鹏,汪品先.南海西沙海槽表层沉积物微生物多样性[J].生态学报,2008,28(3):1166—1173.  
LI TAO, WANG Peng, WANG Pin-xian. Microbial diversity in surface sediments of the Xisha Trough, the South China Sea[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008,28(3):1166—1173.
- [7] REES H C, GRANT W D, JONES B E, et al. Diversity of Kenyan soda lake alkaliphiles assessed by molecular methods [J]. *Extremophiles*, 2004,8:63—71.
- [8] HILL T C J, WALSH K A, HARRIS J A. Using ecological diversity measures with bacterial communities [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003,43:1—11.
- [9] CHUN J, LEE J H, JUNG Y, et al. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes

- based on 16S ribosomal RNA gene sequences[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 2259—2261.
- [10] 田甜,李冬梅,戴世鲲,等. 海洋环境中难培养微生物的寡营养培养[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(7): 1031—1039.
- TIAN Tian, LI Dong-mei, DAI Shi-kun, et al. Culture methods of the oligotrophic marine microbes[J]. *Microbiology*, 2009, 36(7): 1031—1039.
- [11] ERICK C, JAMES M T. New tools for discovering and characterizing microbial diversity[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2008, 19(6): 544—549.
- [12] GRAY J P, HERWIG R P. Phylogenetic analysis of the bacterial communities in marine sediments[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, 62(11): 4049—4059.
- [13] LLOBET-BROSSA E, ROSSELLÓ-MORA R, AMANN R. Microbial community composition of Wadden Sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1998, 64(7): 2691—2696.
- [14] URAKAWA H, KITA-TSUKAMOTO K, OHWADA K. Microbial diversity in marine sediments from Sagami Bay and Tokyo Bay, Japan, as determined by 16S rRNA gene analysis[J]. *Microbiology*, 1999, 145: 3305—3315.
- [15] BALBINA N, MA MAR A F, CELIA M C, et al. Bacterial diversity, composition and dynamics in and around recreational coastal areas[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(8): 1913—1929.
- [16] 孙凤芹,汪保江,李光玉,等. 南海南沙海域沉积物中可培养微生物及其多样性分析[J]. *微生物学报*, 2008, 48(12): 1578—1587.
- SUN Feng-qin, WANG Bao-jiang, LI Guang-yu, et al. Diversity of bacteria isolated from the South China Sea sediment[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2008, 48(12): 1578—1587.
- [17] MITCHELL L S, HILARY G M, JULIE A H. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2006, 103(32): 12115—12120.

(上接第 427 页)

### 3 结 语

本文采用毛细管离子色谱测定爆炸残留物中的无机阴离子,消耗的试剂量少,绿色环保,并且解决了爆炸残留物样品量少的问题.结果表明,所使用的方法真实可靠,重现性良好,分析方法简单,可作为推断爆炸物类型的依据之一.

#### 参考文献(References):

- [1] LAHODA K G, COLLIN O L, MATHIS J A, et al. A survey of background levels of explosives and related compounds in the environment[J]. *J Forensic Sci*, 2008, 53: 802—806.
- [2] JOHNS C, SHELLIE R A, POTTER O G, et al. Identification of homemade inorganic explosives by ion chromatographic analysis of post-blast residues[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1182: 205—214.
- [3] KOLLA P. Trace analysis of salt based explosives by ion chromatography[J]. *Forensic Sci Int*, 1991, 50: 217—226.
- [4] KOLLA P. Gas chromatography, liquid chromatography and ion chromatography adapted to the trace analysis of explosives[J]. *J Chromatogr A*, 1994, 674: 309—318.
- [5] 陈承现,李仁勇,周革荣,等. 离子色谱法检测土制硝铵氯化炸药爆炸残留物中的氯酸根[J]. *刑事技术*, 2008, 3: 3—6.
- CHEN Cheng-xian, LI Ren-yong, ZHOU Ge-rong, et al. Determination of residuary chlorate in explosion dust by Ion Chromatography[J]. *Orensic Science and Technology*, 2008, 3: 3—6.
- [6] DOYLE J M, MILLER M L, MCCORD B R, et al. A multicomponent mobile phase for ion chromatography applied to the separation of anions from the residue of low explosives[J]. *Anal Chem*, 2000, 72: 2302—2307.
- [7] HARGADON K A, MCCORD B R. Explosive residue analysis by capillary electrophoresis and ion chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 1992, 602: 241—247.
- [8] HOPPER K G, LECLAIR L, MCCORD B R. A novel method for analysis of explosives residue by simultaneous detection of anions and cations via capillary zone electrophoresis[J]. *Talanta*, 2005, 67: 304—312.
- [9] BURNS D T, LEWIS R J, BRIDGES J. Systematic approach to the identification of water-gel explosives[J]. *Anal Chim Acta*, 1998, 375: 255—260.
- [10] BENDER E C. *Forensic Investigation of Explosions* [M]. London: Taylor and Francis Publisher, 1998: 343—388.