不同种污泥胞外聚合物的提取方法与组成特征

张念琦¹,钱飞跃^{1,2*},王晓祎¹,刘郭洵¹,王 琰¹,王建芳^{1,2,3} (1. 苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏苏州 215009; 2. 江苏高校水处理技术与材料协同创新中心,江苏苏州 215009; 3. 苏州科技大学天平学院,江苏苏州 215009)

摘要 针对废水生物处理系统中各类污泥的功能与结构特点,比较了常用胞外聚合物(EPS)提取方法的效能优劣,并从反应器溶解氧条件、微生物营养类型和污泥空间形态等方面对不同种污泥的 EPS 组成特征进行了分析,重点强调了 EPS 组分在培养全自养脱氮颗粒污泥等特殊微生物聚集体中的重要作用。

关键词 胞外聚合物;提取方法;污泥类型;蛋白质;聚多糖

中图分类号 X703.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)24-013-04

Extraction Method and Structural Characteristics of Extracellular Polymeric Substances in Different Sludge Samples

ZHANG Nian-qi¹, QIAN Fei-yue^{1,2*}, WANG Xiao-yi¹ et al (1. College of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou, Jiangsu 215009; 2. Jiangsu High Education Collaborative Innovation Center of Water Treatment Technology and Material, Suzhou, Jiangsu 215009)

Abstract According to the functional and structural characteristics of sludge in wastewater biological treatment systems, the performance comparison among the extraction methods of extracellular polymeric substances (EPS) were conducted in this research. The EPS composition of different sludge samples were also analyzed, based on dissolved oxygen level in reactors, microbe nutritional types and spatial structure etc. In addition, the important role of EPS component on cultivation of some microbial aggregates, such as completely autotrophic nitrogen removal granular sludge, was emphasized.

Key words Extracellular polymeric substances; Extraction method; Sludge type; Protein; Polysaccharide

胞外聚合物是分布于细胞表面及周边的重要结构性物质,通常包括蛋白质(PN)、聚多糖(PS)、腐殖质(HA)和核酸(DNA)等多种高分子化合物,其主要来源于细胞的营养摄取、生长代谢和自溶衰减等过程^[1-2]。在废水生物处理系统中,EPS 的组成分布不仅会直接影响污泥的形态结构与功能活性,还能在外界环境发生变化时发挥响应作用^[3-6]。例如,EPS 的分泌和积累是促进菌胶团、生物膜及颗粒污泥形成的重要条件。当污泥进入内源呼吸阶段时,作为储备性碳源与能源的 EPS 组分会逐渐减少。当环境中生存竞争日趋激烈时,EPS 组分的增多将有助于抑制对手生长和抵挡外界压力^[7-8]。

为探究 EPS 组分在微生物聚集体中发挥的独特功能,有必要针对污泥样品特点,选择相适宜的 EPS 提取方法。以往该领域的报道通常只针对某一类或某几类污泥,从未对不同提取方法的优缺点和适用范围作出系统阐述^[3-5]。鉴于此,笔者介绍了常用的 EPS 提取方法及其效能,并依据反应器内溶解氧条件(好氧与厌氧)、微生物营养类型(自养与异养)和污泥空间形态(絮状与颗粒)等条件,总结了不同种污泥EPS 的组成特征,以期为建立 EPS 组分与污泥性能之间的响应关系提供参考。

1 常用的 EPS 提取方法

根据提取的难易程度,EPS 通常可分为细胞壁周边的紧密型(tightly-bound EPS)、细胞间隙的松散型(loosely-bound

基金项目 国家自然科学基金项目(51308367);江苏省高校自然科学 研究基金项目(15KJB610013);江苏省大学生创新创业训练 计划项目(201510332049X);江苏高校优势学科建设工程 项目

作者简介 张念琦(1994 -),女,河南焦作人,本科生,专业:环境工程。 *通讯作者,讲师,博士,从事水污染控制化学研究。

收稿日期 2016-06-13

EPS)和悬浮液中的可溶型(Soluble EPS)三大类^[9-10]。从相对含量上看,遵循紧密型>松散型>可溶型。由于反应器运行条件和污泥结构形态的巨大差异,目前,EPS 的提取过程尚没有统一标准,较常用的方法如表 1 所示,其优选依据是在有效抑制细胞质溶出的前提下,尽可能多地提取 EPS组分。

EPS 的提取方法可分为物理法和化学法。一般认为,化学法的提取效率要高于物理法,但前者对细胞结构的破坏程度更大,提取液中 DNA 等胞内物质含量和胞浆酶(G6PDH)活性均更高^[6,9]。有研究表明,预先使用甲醛或甲酰胺处理污泥样品,可对细胞起到缓冲和固定作用,后续加入 NaOH将使带负电的 EPS 组分脱稳并溶出^[11-12,15]。该操作的广谱性和可靠性要优于酸碱法和加热法,但也存在外加试剂残留、干扰组分分析的弊端,如引起荧光峰红移等。尽管都利用了组分间的络合效应,但 EDTA 法对蛋白质和腐殖酸的直接提取效率较低,而阳离子交换树脂(CER)法通过争夺络合态 Ca²⁺和 Mg²⁺等金属离子,可实现 EPS 组分的自然释放,后者通常适用于处理絮状污泥^[5,9,11]。此外,受制于颗粒污泥的内部传质,采用单位功率(J/mL)优化后的超声波法可显著提高后续工序对 EPS 的提取效率^[14-15]。

2 不同种污泥的 EPS 组成特征

从反应器内溶解氧条件、微生物营养类型和污泥空间形态 3 个方面,对文献报道中不同污泥的 EPS 组成情况(表 2) 进行归类分析。

尽管 EPS 组分与提取方法、负荷条件和泥龄(SRT)长短等密切相关,但好氧微生物的增殖速率(μ)远大于厌氧菌,因此,在表 2 中好氧污泥的 EPS 总量普遍更高,厌氧污泥中含有更多的腐殖酸类物质。当活性污泥由好氧转至厌氧环境时,由于脂类载体的流失,EPS 中的蛋白质含量会有所降低,

表 1 常用 EPS 提取方法的效能比较

Table 1 Comparison of performance efficiency of EPS extraction methods

污泥类型 Sludge type	EPS 提取总量 Total extraction amount of EPS	细胞结构破坏程度 Damage degree of cellular structure	推荐方法 Recommended approach	参考文献 Reference
活性污泥 Activated sludge	甲醛 – NaOH 法 > EDTA 法 > 甲醛 – 超声波法 > CER 法	EDTA 法 > 甲醛 - NaOH 法 > CER 法 > 甲醛 - 超声法	甲醛 – NaOH 法	[11]
活性污泥 Activated sludge	NaOH 法 > 甲醛 - NaOH 法 > H ₂ SO ₄ 法 > CER 法 > 离心法	NaOH 法 > 甲醛 - NaOH 法 ≈ H ₂ SO ₄ 法 > CER 法 > 离心法	甲醛 – NaOH 法 或 H ₂ SO ₄ 法	[12]
活性污泥 Activated sludge	甲醛 – NaOH 法 > H_2SO_4 法 > CER 法 > 戊二醛法	甲醛 – NaOH 法 > CER 法 > H ₂ SO ₄ 法 > 戊二醛法	甲醛 – NaOH 法 或 H ₂ SO ₄ 法	[13]
活性污泥 Activated sludge	甲醛 - NaOH 法 > EDTA 法 > 加热 > 甲醛 - 超声法 > 超声法 > 甲醛法	甲醛 - NaOH 法 > EDTA 法 > 加热 > 甲醛 - 超声法 > 超声法 > 甲醛法	加热法	[10]
硝化生物膜与活性污泥 Nitrifying biofilm and activated sludge	超声波法 > EDTA 法 > NaOH 法 > CER 法	超声波法 > NaOH 法 > EDTA 法 > CER 法	EDTA 法	[5]
硝化污泥 Nitrifying activated sludge	氚核法 > NaOH 法 > 超声法 > H_2SO_4 法 > CER 法:	氚核法 > NaOH 法 > H_2SO_4 法 > 超 声法 > CER 法	超声法	[9]
Canon 颗粒污泥 Canon granular sludge(亚硝化-厌氧氨氧化全自养 脱氮)	超声法 > NaOH 法 > 氚核法 > CER 法 > $\rm H_2SO_4$ 法		超声法	[9]
活性污泥 Activated sludge	NaOH 法 > 氚核法 > 超声法 > CER 法 > H ₂ SO ₄ 法	氚核法 > NaOH 法 > H₂SO ₄ 法 > 超 声法 > CER 法	超声法	[9]
活性污泥、好氧颗粒污泥 Activated sludge, aerobic granular sludge	超声波 - 甲醛 - NaOH 法 > 甲醛 - NaOH 法≈甲醛 - NaOH - 超声波法 >加热法	超声波 – 甲醛 – NaOH 法≈甲醛 – NaOH – 超声波法 > 甲醛 – NaOH 法 ≈加热法	超声波 – 甲醛 – NaOH 法	[14]
厌氧颗粒污泥 Anaerobic granular sludge(处理造纸废水)	甲酰胺 - 加热法 > 甲酰胺 - NaOH 法 >超声波法 > CER 法 > EDTA 法	甲酰胺 - 加热法 > EDTA 法 ≈ CER 法 > 甲酰胺 - NaOH 法 > 超声波法	甲酰胺 – NaOH 法或超声波法	[15]
厌氧颗粒污泥 Anaerobic granular sludge(处理酒精蒸馏液)	甲酰胺 - 加热法 > CER 法 > 超声波 法 > 甲酰胺 - NaOH 法 > EDTA 法	甲酰胺 - 加热法 > 甲酰胺 - NaOH 法 > EDTA 法 > 超声波法 > CER 法	甲酰胺 - NaOH 法或超声波法	[15]

表 2 不同污泥样品中 EPS 的组成

Table 2 Chemical composition of EPS in different sludge samples

污泥类别	污泥形态 Sludge shape	污泥类型 Sludge type	EPS 提取方法 EPS extraction method	反应器功能 Reactor function	EPS 组成 EPS composition						
Sludge category					EPS mg/g VSS	PN %	PS %	HA %	DNA %	PN/PS	参考文献 Reference
Aerobic sludge	絮状	硝化污泥	EDTA 法	CSTR,处理无 机含氮配水, 实现全程硝化	137.5	63.4	9.1	26.4	1.1	7.0	[9]
		活性污泥	甲醛 – NaOH 法	CSTR,处理市 政污水	127.0	70.9	29.1	_	_	3.5	[16]
		活性污泥	甲醛 – NaOH 法	CSTR,处理市 政污水	232.0	55.3	28.6	_	16.0	1.9	[13]
	颗粒	Canon 颗 粒 汚泥	超声波法	SBR, 处 理 无 机含氮配水	285.1	84.9	6.0	7.6	1.5	14.1	[9]
		硝化颗粒污泥	甲醛 – NaOH 法	SBR, 处 理 无 机含氮配水	_	_	_	_	_	0.6~0	.8 [17]
		亚硝化颗粒污 泥	甲醛 – 热碱法	SBR, 处理无 机含氮配水	51.5	58.3	41.7	_	_	1.4	[16]
		异养颗粒污泥	超声波法	SBR,降解酚 类化合物	483.4	47.2	30.2	22.6	< 0.1	1.6	[7]
		异养颗粒污泥	加热离心法	SBR, 以葡萄糖为碳源	113.0 ~ 136.0	≈70	≈30	_	_	1.4~2	.0 [18]
		异养颗粒污泥	甲醛 – NaOH 法	SBR, 以乙酸钠为碳源	137.8	76.2	23.8	_	_	3.2	[19]
厌氧污泥 Anaerobic	絮状	活性污泥	加热法	CSTR,处理市 政污水	45.5	68.0	25.4	_	6.6	2.7	[10]
sludge		活性污泥	甲醛 – NaOH 法	CSTR,处理市 政污水	41.9	69.2	23.6	_	7.2	2.9	[12]
	颗粒	颗粒污泥	甲醛 – NaOH 法	UASB,处理酚醛废水	102.1	41.2	18.7	22.8	0.2	2.2	[11]
		颗粒污泥	甲醛 – NaOH 法	EGSB,处理酒精蒸馏液	112.7	64.5	8.1	26.2	1.2	7.7	[15]
			超声波法	III W MIK	194.5	50.2	18.7	29.2	1.9	2.7	

注:CSTR. 连续搅拌釜反应器;SBR. 序批次反应器;UASB. 上流式厌氧污泥床;EGSB. 厌氧膨胀颗粒污泥床。

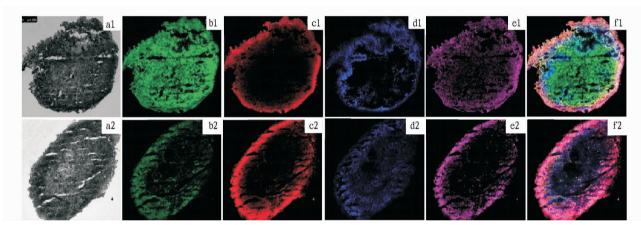
Note: CSTR was continuous stirred tank reactor; SBR was sequence batch reactor; UASB was upflow anaerobic sludge blanket digestion; EGSB was anaerobic expanded granular sludge bed.

厌氧/好氧条件下的 EPS 比值为 0.59 ~ 0.91 [13,20]。对于好氧颗粒污泥而言,设置较高的曝气速率 (2.0 ~ 6.0 L/min),可提供充足的 DO 和水力剪切条件,明显增强微生物活性 (SOUR 值)和污泥表面疏水性,有效促进 EPS(尤其是 PN 和 PS)的分泌,有利于维持密实的颗粒结构和光滑的泥相界面 [21]。然而,在低营养条件下的过度曝气又会导致较强的内源呼吸作用,使 EPS 中可用作能源的聚多糖含量明显减少 [22]。

除了决定环境中生长的微生物类型以外,营养基质也是影响污泥中 EPS 组成的重要因素。在有机物充足的条件下,EPS 中蛋白质的累积与异养菌活性的增强存在一定正相关^[20]。由表 2 可知,硝化污泥的 EPS 总量明显低于异养菌占主导的情形。借助现代分子生物学技术容易发现,Pseudomonas、Zoogloea 和 Flavobacteria 等异养菌是生物聚集体中EPS 的主要来源,相比之下,μ值较低的自养菌(如硝化细菌)很难独立完成自固定过程^[17,23]。尽管使用无机含氮废水也能实现活性污泥的颗粒化,但进水氨氮浓度最终需达到700~1000 mg/L,反应器启动时间通常在50 d以上^[24-25]。通过选取合适的进水碳、氮负荷,可以优化污泥中异养菌与

自养菌的种群结构,借助前者更强的 EPS 分泌能力,加速颗粒化过程^[26]。Wu 等^[17]发现,将进水 COD/NH₄⁺ - N 控制在1~2,在15~20 d 即可获得密实的硝化颗粒污泥,EPS 中高比例的聚多糖能有效固定生长周期较长、附着能力较差的硝化细菌。

出于维持空间结构稳定的需要,颗粒污泥中紧密型 EPS 的含量要明显高于絮状污泥^[5,9]。在大多数情况下,以易降解有机物为生长基质时,颗粒污泥 EPS 中强疏水性的蛋白质要多于亲水性的聚多糖,PN/PS 比值在 1~6^[27]。但在实际废水的处理过程中,两者的比值可能出现颠倒。例如,Ni等^[28]利用中试规模的 SBR 反应器,以 COD 仅为 170 mg/L 的低浓度市政污水为基质培养好氧颗粒污泥,运行 300 d 后平均粒径稳定在 0.2~0.8 mm,其 EPS 的 PN/PS 比值仅为 0.4~0.5。比较特别的是,由 EPS 与微生物共同构成的层状空间结构是 Canon 颗粒污泥实现全自养脱氮功能的重要原因。其中,分布于颗粒表面的氨氧化菌可获得充足的 DO,通过完成亚硝化步骤为内部的厌氧氨氧化菌提供生长基质,而后者在被大量 EPS 包裹的情况下,才能在严格厌氧的环境中逐渐富集^[9]。

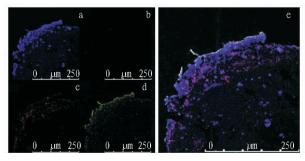


注:a. 对比图;b. 蛋白质(蓝色);c. α - 聚多糖(红色);d. β - 聚多糖(蓝色);e. 脂类(粉色);f. b - e 合成图。

Note: a. Contrast figure: b. Proteins (green): c. α-polysaccharides (red): d. β-polysaccharides (blue): e. Lipids (pink): f. b - e. Composite image.

图 1 厌氧颗粒污泥接触纳米 ZnO 颗粒前后胞外聚合物的 FISH-CLSM 视图

Fig. 1 FISH-CLSM images of the EPS of anaerobic granule sludge with or without the exposure of nano-scale ZnO particles



注:a. 所有细菌(蓝色);b. 亚硝酸盐氧化菌(绿色);c. 氨氧化菌(红色);d. 异养菌(黄色);e. 合成图。

Note; a. All bacteria (blue); b. Nitrite oxidizing bacteria (green); c. Ammonia oxidizing bacteria (red); d; Heterotrophic bacteria (yellow); e. Merge image.

图 2 好氧颗粒污泥中功能菌与 EPS 的 FISH - CLSM 视图 Fig. 2 FISH-CLSM images of the EPS of aerobic granule sludge

作为传统"先提取、后测定"研究方法的重要补充,利用 荧光原位杂交 - 激光共聚焦扫描显微镜(FISH - CLSM)技术,可以更加直观地表征功能菌与 EPS 组分的空间分布情况,为建立污泥结构与性能之间的响应关系提供了研究平台^[7,29]。Mu等^[8]借助 FISH - CLSM 技术,比较了厌氧颗粒污泥在接触纳米 ZnO 颗粒前后,EPS 组分分布的变化情况(图1)。图2 给出了好氧颗粒污泥中各类功能菌与主要 EPS 组分的相对位置^[30]。

3 结论与展望

综上所述,在常用的 EPS 提取方法中,甲醛 - NaOH 法能在有效保护细胞结构的同时获得较高的提取效率,因而被普遍推荐。但对于颗粒污泥而言,设置超声波预处理工序是值得借鉴的。作为对传统方法的补充,FISH - CLSM 技术的应用能更好地反映微生物与 EPS 组分的空间分布与潜在联

系,已成为今后研究 EPS 相关功能的重要手段。

实际上,不同种污泥的 EPS 组成特征与反应器运行条件、微生物类型和污泥空间形态等条件都密切相关,很难做出准确概括。但可以明确的是,EPS 是微生物聚集体自适应外界环境变化的自然产物。EPS 的大量分泌在维持污泥结构稳定、改善界面物化特性的同时,有助于截留生长周期较长的自养微生物,实现不同功能菌的分层分布,这对于培养全自养脱氮颗粒污泥至关重要。当前,随着生物处理技术的快速发展,有必要以污泥性能和结构为出发点,建立 EPS 类型分布与微生物种群结构之间的响应关系,探明特定功能菌分泌 EPS 的调控机理,以期为工艺操作的优化提供理论支撑。

参考文献

- [1] 张丽丽,姜理英,方芳,等. 好氧颗粒污泥胞外聚合物的提取与成分分析[J]. 环境工程学报,2007,1(4):127-130.
- [2] ADAV S S, LEE D J, SHOW K Y, et al. Aerobic granular sludge; Recent advances [J]. Biotechnology advances, 2008, 26(5):411-423.
- [3] YANG S F, LI X Y. Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on the characteristics of activated sludge under non-steady-state conditions [J]. Process biochemistry, 2009, 44(1):91-96.
- [4] 陈寰,李天宏,周顺桂. 好氧颗粒污泥中胞外聚合物的提取、组成及空间分布研究进展[J]. 四川环境,2008,27(5):75-78.
- [5] LIANG Z W, LI W H, YANG S Y, et al. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sluge [J]. Chemosphere, 2010, 81 (5): 626-632.
- [6] SHENG G P, YU H Q, LI X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems; A review [J]. Biotechnology advances, 2010, 28(6):882 –894.
- [7] ADAV S S, LEE D J, LAI J Y. Aerobic granules with inhibitiory strains and role of extracellular polymeric substances [J]. Journal of hazardous materials, 2010, 174(1/2/3):424-428.
- [8] MU H,ZHENG X,CHEN Y G,et al. Response of anaerobic granular sludge to a shock load of zinc oxide nanoparticles during biological wastewater treatment [J]. Environ Sci technol, 2012, 46(11):5997-6003.
- [9] PELLICER-NACHER C, DOMINGO-FELEZ C, MUTLU A G, et al. Critical assessment of extracellular polymeric substances extraction methods from mixed culture biomass [J]. Water research, 2013,47 (15):5564 – 5574.
- [10] 周俊,周立祥,黄焕忠. 污泥胞外聚合物的提取方法及其对污泥脱水性能的影响[J]. 环境科学,2013,34(7):2752-2757.
- [11] LIU H, FANG H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. Journal of biotechnology, 2002, 95(3):249 –256.
- [12] 邹小玲,许柯,丁丽丽,等.不同状态下的同一污泥胞外聚合物提取方法研究[J].环境工程学报,2010,4(2):436-440.
- [13] 罗曦,雷中方,张振亚,等. 好氧/ 厌氧污泥胞外聚合物(EPS)的提取方

法研究[J]. 环境科学学报,2005,54(12):1624-1629.

- [14] ADAV S S, LEE D J. Characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from phenol degrading aerobic granules [J]. Journal of the Taiwan institute of chemical engineers, 2011, 42(4):645-651.
- [15] ABZAC P D,BORDAS F,HULLEBUSCH E V, et al. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges: Comparison of chemical and physical extraction protocols[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 85(5); 1589 – 1599.
- [16] 王琰,钱飞跃,王建芳,等,亚硝化颗粒污泥中 EPS 提取方法与组成特性的比较研究[J].环境科学学报,2015,35(11):3515-3521.
- [17] WU L, PENG C Y, PENG Y Z, et al. Effect of wastewater COD/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift[J]. Journal of environmental sciences, 2012, 24(2):234-241.
- [18] GAO D W, LIU L, LIANG H, et al. Comparison of four enhancement strategies for aerobic granulation in sequencing batch reactors [J]. Journal of hazardous materials, 2011, 186(1):320 327.
- [19] 刘小朋,王建芳,钱飞跃,等. 提高有机负荷对好氧颗粒污泥形成与稳定过程的影响[J]. 环境科学,2015,36(9):3352 3357.
- [20] HOA P T, NAIR L, VISVANATHAN C. The effect of nutrients on extracellular polymeric substances production and its influence on sludge properties [J]. Water S A, 2003, 29(4):437 442.
- [21] SHOW K Y, LEE D J, TAY J H. Aerobic granulation: Advances and challenges [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 167(6):1622 1640.
- [22] ZHU L,LV M L,DAI X,et al. Role and significance of extracellular polymeric substances on the property of aerobic granule [J]. Bioresource technology, 2012, 107(2):46 54.
- [23] WAN C L, ZHANG Q L, LEE D J, et al. Long-term storage of aerobic granules in liquid media; Viable but non-culturable status [J]. Bioresour Technol, 2014, 166(8):464-470.
- [24] WEI D, XUE X D, YAN L G, et al. Effect of influent ammonium concentration on the shift of full nitritation to partial nitrification in a sequencing batch reactor at ambient temperature [J]. Chemical engineering journal, 2014, 235(1):19-26.
- [25] CHEN F Y, LIU Y Q, TAY J H, et al. Rapid formation of nitrifying granules treating high-strength ammonium wastewater in a sequencing batch reactor [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99 (10):4445 4452.
- [26] 刘文如,丁玲玲,王建芳,等. 低 C/N 的条件下亚硝化颗粒污泥的培养及成因分析[J]. 环境科学学报,2013,33(8);2226-2233.
- [27] ADAV S S, LEE D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. Journal of hazardous materials, 2008, 154 (1/2/3);1120-1126.
- [28] NI B J,XIE W M,LIU S G, et al. Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater [J]. Water research, 2009, 43(3):751-761.
- [29] VERAWATY M, PIJUAN M, YUAN Z, et al. Determining the mechanisms for aerobic granulation from mixed seed of floccular and crushed granules in activated sludge wastewater treatment [J]. Water research, 2012, 46 (3):761-771.
- [30] JEMAAT Z, SUAREZ-OJEDA M E, PEREZ J, et al. Partial nitritation and o-cresol removal with aerobic granular biomass in a continuous airlift reactor [J]. Water research, 2014, 48(1):354-362.

(上接第12页)

江一带划为自然生态保护小区;④加大爱鸟护鸟宣传教育, 提高市民自然保护意识。

参考文献

- [1] PAUCHARD A, AGUAYO M, LA PENA E. Multiple effects of urbanization on the biodiversity of developing countries: The case of a fast-growing metropolitan area (Concepción, Chile) [J]. Biological conservation, 2006, 127 (3):272 - 281.
- [2] 赵洪峰,雷富民. 鸟类用于环境监测的意义及研究进展[J]. 动物学杂志,2002,37(6):74-78.
- [3] 王强,吕宪国. 鸟类在湿地生态系统监测与评价中的应用[J]. 湿地科学,2007,5(3):274-281.

- [4] 宋轶, 刘秋, 廖莹, 等. 四川乐山市"三江"地区鸟类资源初步调查[J]. 西华师范大学学报(自然科学版), 2009, 30(2):141-148.
- [5] BEISSINGER S R,OSBORNE D R. Effects of urbanization on avian community organization [J]. Condor,1982,84:75 83.
- [6] ROSENBERG K V, TERRILL S B, ROSENGERG G H. Value of suburban habitats to desert riparian birds [J]. Wilson bulletin, 1987, 99;643 – 654.
- [7] 王舒, 童玉平, 王志杰, 等. 哈尔滨市城市化建设对鸟类群落的影响 [J]. 野生动物学报, 2015, 36(3): 295-302.
- [8] BLAIR R B. Land use and avian species diversity along an urban gradient [J]. Ecological applications, 1996,6(2):506-519.
- [9] CONNELL J H. Diversity in tropical rain forests and coral reefs [J]. Science, 1978, 199;1302 1310.
- [10] 陈水华,丁平,郑光美,等. 城市鸟类群落生态学研究展望[J]. 动物学研究,2000,21(2):165-169.