

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第9期

Vol.34 No.9

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

利用PUF被动采样技术研究长三角城市群大气中多环芳烃的时空分布及来源	张利飞, 杨文龙, 董亮, 史双昕, 周丽, 张秀蓝, 李玲玲, 钮珊, 黄业茹 (3339)
FTIR对大气颗粒物PM _{2.5} 中硝酸盐的定量分析	刘娜, 魏秀丽, 高闯光, 徐亮, 焦洋, 李胜, 童晶晶, 程已阳 (3347)
福建茫荡山地区春季大气O ₃ 、HONO、HCHO、H ₂ O ₂ 对·OH的贡献率研究	刘昊, 王会祥 (3352)
水体类固醇雌激素污染现状研究进展	都韶婷, 金崇伟, 刘越 (3358)
嘉兴市地表水中兽用抗生素的污染现状调查	闫幸, 余卫娟, 兰亚琼, 李立, 吕升, 叶朝霞, 张永明, 刘锐, 陈吕军 (3368)
上海食用鱼中短链氯化石蜡的污染特征	姜国, 陈来国, 何秋生, 孟祥周, 封永斌, 黄玉妹, 唐才明 (3374)
水体环境内毒素活性的鲎法定量检测及影响因素研究	张灿, 刘文君, 张明露, 田芳, 孙雯, 钱令嘉, 战锐 (3381)
四环素类抗生素对淡水绿藻的毒性作用	徐冬梅, 王艳花, 饶桂维 (3386)
光照对东海典型赤潮藻生长及硝酸还原酶活性的影响	李鸿妹, 石晓勇, 丁雁雁, 唐洪杰 (3391)
围隔实验中浒苔在不同营养盐条件下的生长比较	庞秋婷, 李凤, 刘湘庆, 王江涛 (3398)
长江口及邻近海域浮游植物色素分布与群落结构特征	赖俊翔, 俞志明, 宋秀贤, 韩笑天, 曹西华, 袁涌铨 (3405)
长江中下游湖泊超微型真核藻类遗传多样性研究	李胜男, 史小丽, 谢微微, 龚伊, 孔繁翔 (3416)
峡谷型水源水库的氮、磷季节变化及其来源分析	黄廷林, 秦昌海, 李璇 (3423)
九龙江河流-库区系统沉积物磷特征及其生态学意义	鲁婷, 陈能汪, 陈朱虹, 王龙剑, 吴杰忠 (3430)
氮在高含沙水向人工浅水湖泊补水期间的变化规律	陈友媛, 申宇, 杨世迎 (3437)
石灰石和黄铁矿-石灰石人工湿地净化河水的研究	张菁, 李睿华, 李杰, 胡俊松, 孙茜茜 (3445)
杭州湾潮滩湿地3种优势植物碳氮磷储量特征研究	邵学新, 李文华, 吴明, 杨文英, 蒋科毅, 叶小齐 (3451)
滇池优势挺水植物茭草和芦苇降解过程中DOM释放特征研究	谢理, 杨浩, 渠晓霞, 朱元荣, 鄢元波, 张明礼, 吴丰昌 (3458)
自来水处理工艺对溶解相中全氟化合物残留的影响	张鸿, 陈清武, 王鑫璇, 柴之芳, 沈金灿, 杨波, 刘国卿 (3467)
J市饮用水氯消毒副产物分析及其健康风险评价	李晓玲, 刘锐, 兰亚琼, 余素林, 文晓刚, 陈吕军, 张永明 (3474)
水中硫酸根及溶解氧质量浓度变化对管垢金属元素释放的影响	吴永丽, 石宝友, 孙慧芳, 张枝焕, 顾军农, 王东升 (3480)
重金属捕集剂对水中微量Hg(II)的处理研究	胡运俊, 盛田田, 薛晓芹, 谭丽莎, 徐新华 (3486)
聚合氯化铁-聚(环氧氯丙烷-二甲胺)复合絮凝剂在模拟水处理中的混凝特性研究	刘新新, 杨忠莲, 高宝玉, 王燕, 岳钦艳, 李倩 (3493)
镁铝复合脱色絮凝剂的微观结构形态及絮凝机制	桑义敏, 常雪红, 车越, 谷庆宝 (3502)
钴掺杂铁酸铋活化过硫酸盐降解水中四溴双酚A的研究	欧阳磊, 丁耀彬, 朱丽华, 唐和清, 廖海星 (3507)
以海泡石为载体的双金属多相类芬顿催化剂的制备及表征	宿程远, 李伟光, 刘兴哲, 王恺尧, 王勇 (3513)
氧化还原介体调控亚硝酸盐反硝化特性研究	赵丽君, 马志远, 郭延凯, 席振华, 杜海峰, 刘晓宇, 郭建博 (3520)
缓释碳源滤池用于二级出水的深度脱氮	唐蕾, 李彭, 左剑恶, 袁琳, 李再兴 (3526)
微膨胀对好氧颗粒污泥脱氮过程中N ₂ O产生量的研究	陈丽丽, 高大文 (3532)
Fenton试剂与CPAM联合调理对污泥脱水效果的影响研究	马俊伟, 刘杰伟, 曹芮, 岳东北, 王洪涛 (3538)
高效厌氧氨氧化颗粒污泥的动力学特性	唐崇俭, 熊蕾, 王云燕, 郑平 (3544)
内蒙古温带草原氮沉降的观测研究	张菊, 康荣华, 赵斌, 黄永梅, 叶芝祥, 段雷 (3552)
湘中矿区不同用地类型面源Cd输出负荷的原位实验研究	刘孝利, 曾昭霞, 陈喆, 铁柏清, 陈求稳, 叶长城 (3557)
蠡湖沉积物重金属形态及稳定性研究	王书航, 王雯雯, 姜霞, 宋倩文 (3562)
密云县境内潮河流域土壤重金属分析评价	于洋, 高宏超, 马俊花, 李迎霞, 莫雁, 孔彦鸿 (3572)
西北干旱区黄河沿岸典型工业带表土磁性特征及其环境意义	许淑婧, 张英, 余晔, 王博, 夏敦胜 (3578)
复合稳定剂对砷污染土壤的稳定研究	王浩, 潘利祥, 张翔宇, 李萌, 宋宝华 (3587)
湖南下水湾铅锌尾矿库优势植物重金属含量及富集特征	何东, 邱波, 彭尽晖, 彭亮, 胡凌雪, 胡瑶 (3595)
安太堡露天矿复垦地不同人工植被恢复下的土壤酶活性和肥力比较	王翔, 李晋川, 岳建英, 周小梅, 郭春燕, 卢宁, 王宇宏, 杨生权 (3601)
三苯基锡的微生物降解及其对降解菌的影响	叶锦韶, 田云, 尹华, 彭辉, 黄捷, 麻榆佳 (3607)
二氯甲烷降解菌Methylobacterium rhodesianum H13的分离鉴定及降解特性研究	刘洪霞, 朱润晔, 欧阳杜娟, 庄庆丰, 陈东之, 陈建孟 (3613)
引物选择对污泥微生物多样性分析的影响	徐爱玲, 吴等等, 宋志文, 任杰, 夏岩, 董珊珊, 刘梦 (3620)
钙铝类水滑石衍生复合氧化物的SO ₂ 储存性能研究	曹琳, 王海林, 解强 (3627)
基于转运站满负荷的北京市新东西城区生活垃圾物流优化方案研究	袁京, 李国学, 张红玉, 罗一鸣 (3633)
重金属污染土壤治理与生态修复论坛会议论文	
多证据分析技术在地表重金属污染评价中的应用研究	姜林, 钟茂生, 朱笑盈, 姚珏君, 夏天翔, 刘辉 (3641)
我国城市不同功能区地表灰尘重金属分布及来源	李晓燕, 刘艳青 (3648)
黄河下游滩区开封段土壤重金属分布特征及其潜在风险评价	张鹏岩, 秦明周, 闫江虹, 胡长慧, 赵亚平 (3654)
青岛北站规划区原场地表层土壤重金属污染研究	朱磊, 贾永刚, 潘玉英 (3663)
某铅蓄电池厂土壤中铅的含量分布特征及生态风险	郑立保, 陈卫平, 焦文涛, 黄锦楼, 魏福祥 (3669)
某铅冶炼厂对周边土壤质量和人体健康的影响	周小勇, 雷梅, 杨军, 周广东, 郭广慧, 陈同斌, 万小铭, 梁琪, 乔鹏伟 (3675)
某铅蓄电池厂表土不同粒径中铅分布规律研究	岳希, 孙体昌, 黄锦楼 (3679)
原位生物稳定固化技术在铬污染场地治理中的应用研究	张建荣, 李娟, 许伟 (3684)
淋洗剂对多金属污染尾矿土壤的修复效应及技术研究	朱光旭, 郭庆军, 杨俊兴, 张晗芝, 魏荣菲, 王春雨, Marc Peters (3690)
铅蓄电池厂污染土壤中重金属铅的清洗及形态变化分析	任贝, 黄锦楼, 苗明升 (3697)
超声波辅助化学萃取对某工业场地铅污染土壤修复效果研究	王鑫杰, 黄锦楼, 刘志强, 岳希 (3704)
摩擦清洗修复铅污染土壤的参数优化及清洗效率评价	杨雯, 黄锦楼, 彭会清, 李思拓 (3709)
土壤重金属钝化修复剂生物炭对镉的吸附特性研究	郭文娟, 梁学峰, 林大松, 徐应明, 王林, 孙约兵, 秦旭 (3716)
无机稳定剂对重金属污染土壤的化学稳定修复研究	曹梦华, 祝玺, 刘黄诚, 王琳玲, 陈静 (3722)
《环境科学》征稿简则(3404) 《环境科学》征订启事(3444) 信息(3492, 3551, 3696, 3715)	

长江中下游湖泊超微型真核藻类遗传多样性研究

李胜男^{1,2}, 史小丽¹, 谢薇薇¹, 龚伊¹, 孔繁翔^{1*}

(1. 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 用流式分选结合末端限制性片段长度多态性的方法对长江中下游 30 个湖泊中超微型真核藻类的遗传多样性进行了研究, 以了解不同环境条件下超微型真核藻类多样性的分布规律及其影响的主要因子。长江中下游湖泊大都已富营养化, 但超微藻的群落组成差异仍然很大, T-RFLP 分析共发现 197 个 T-RFs, 有 45% 的 T-RFs (89 个) 仅在不到 3 个湖泊中检测到, 聚类分析中各湖相似度均低于 80%。中营养水平湖泊中多样性指数较高, 总氮浓度与超微型真核藻类群落结构显著相关 ($P = 0.006$), CCA 分析中, 第一轴与第二轴共解释了 10.0% 的超微型真核藻类群落组成的变化。本研究表明, 湖泊中超微型真核藻类群落组成的环境异质性明显, 其多样性与湖泊营养水平密切相关, 此外其它非生物因素对其群落组成也可能存在重要影响。

关键词: 超微型真核藻类; 湖泊; T-RFLP; 流式细胞仪; 多样性

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)09-3416-07

Genetic Diversity of Picoeukaryotic Phytoplankton in the Lakes Along the Middle-lower Reaches of the Yangtze River

LI Sheng-nan^{1,2}, SHI Xiao-li¹, XIE Wei-wei¹, GONG Yi¹, KONG Fan-xiang¹

(1. State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The genetic diversity of picoeukaryotic phytoplankton in the 30 lakes along the middle-lower reaches of the Yangtze River was studied using flow cytometry combined with terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP). The objectives of this study were to confirm the variance in the genetic diversity of picoeukaryotic phytoplankton among the lakes and to reveal its main affecting factors. Though the lakes investigated tended to or already were eutrophic, T-RFLP profiles of 18S rRNA gene fragments from picoeukaryotic phytoplankton showed high diversity. There were altogether 197 T-RFs detected from the lakes that we investigated, with 89 of them obtained in less than 3 lakes. Cluster analysis indicated their similarity was lower than 80%. Shannon-wiener diversity index showed that mesotrophic lakes contained more diverse picoeukaryotic phytoplankton community than eutrophic lakes. The canonical correspondence analysis revealed that the concentration of the total nitrogen had the most important impact on the picoeukaryotic phytoplankton communities ($P = 0.006$). The results showed that the genetic diversity of picoeukaryotic phytoplankton in the lakes were of great environmental heterogeneity and closely related to the trophic status. Two CCA axes can only explain 10.0% of the total variance in picoeukaryotic phytoplankton composition, suggesting that the evolution of picoeukaryotic phytoplankton was probably connected to the top-down manipulation as well.

Key words: picoeukaryotic phytoplankton; lakes; terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP); flow cytometry; diversity

超微型浮游植物, 简称超微藻, 是指粒径小于 5 μm 微型浮游植物, 在水生生态系统的物质循环和能量流动中起着重要作用^[1]。随着微食物环 (the microbial loop) 的提出^[2], 近年来人们对超微藻的研究越来越多。超微型真核藻作为超微藻的重要组成部分, 虽然数量上相对于原核类较少, 但是由于其具有较大的比生长速率, 因而也是重要的初级生产者^[3]。超微型真核藻的多样性随水体营养程度的增加而降低, 而且某些种群只存在于富营养或寡营养水体中, 因此超微型真核藻的群落组成可作为水体营养状态的判断依据^[4]。

超微型真核藻的多样性极其复杂, 加之其个体

微小、形态相似, 无法用传统的显微观察法辨别, 直到近 10 年来随着分子生物学技术的应用, 人们对超微型真核藻的多样性才有了进一步的认识。T-RFLP 技术相对于其它分子生物学技术 (DGGE、SSCP、RFLP 等) 具有较高的重复性, 且分辨率高、易于实现自动化^[5,6], 尤其适合于分析多个环境样品的微生物群落。

在目前关于超微型浮游生物的研究中, 专门针

收稿日期: 2012-12-19; 修订日期: 2013-03-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270507, 31070420); 中国科学院国际合作项目 (KZZD-EW-TZ-08-01)

作者简介: 李胜男 (1989 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为湖泊生物生态, E-mail: shengnan1989812@126.com

* 通讯联系人, E-mail: fxxkong@niglas.ac.cn

对超微型浮游植物的研究还较少,这是由于直接对过滤到膜上的超微型浮游生物进行 PCR 扩增后的条带以异养序列为主^[7],但是这与其它方法,如荧光原位杂交得到的结果不同^[8,9],因此不利于光合自养超微藻多样性的研究. 本研究利用流式细胞术对样品分选后再进行 PCR 扩增,不仅减少了异养模板的竞争,大大提高了超微藻序列的比例,而且直接将超微型原核藻和真核藻区分开来,能更好地揭示超微藻的多样性^[10,11].

长江中下游地区是我国淡水湖泊比较集中的地区,受人类影响较大,对这些湖泊中超微型真核藻多样性的调查可比较分析超微型真核藻的分布规律及其主要影响因子,加深对淡水超微藻的认识,以期为进一步研究超微藻的湖泊生态学功能提供参考.

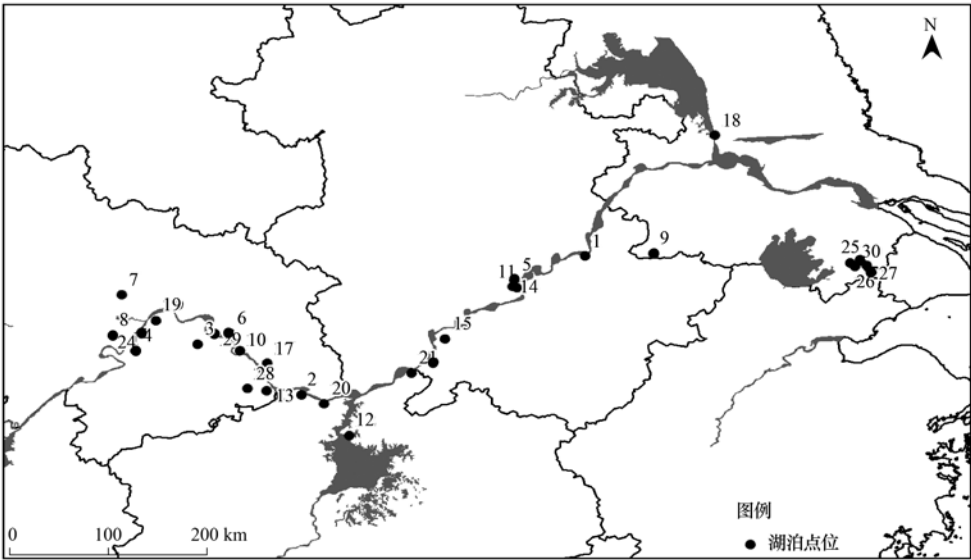


图1 采样湖泊分布示意

Fig. 1 Investigated lakes along the middle-lower reaches of the Yangtze River

1.2 流式分选

样品解冻后用 300 目的筛绢过滤,利用 FACS Vantage SE 流式细胞仪(Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)进行分选. 淡水生境中的超微藻主要包括聚球藻和超微型真核藻,由于这两种不同类群的超微藻具有不同的色素组成:真核超微藻含叶绿素(Chl-a)、聚球藻含藻胆蛋白(藻红素或藻蓝素)^[14],它们所发出的荧光不同,结合散射光(SSC和FSC)鉴定大小,通过流式细胞检测就可将它们区分开来. 流式细胞仪的基本配置如表1所示. 分选约15万个细胞,添加180 μL 细胞溶解液后,保存于-20℃,用于DNA的提取.

1.3 分选样品 DNA 的提取及 PCR 扩增

1 材料与方法

1.1 样品的采集和处理

于2012年4月对30个长江中下游湖泊(图1)进行了采样. 将采好的水样用多聚甲醛固定,终浓度0.2%^[12],液氮速冻后保存于-80℃超低温冰箱中. 水体理化参数按照标准方法进行测定^[13],主要包括物理参数:水温(*t*)、水深、透明度(SD)、电导率(TDS)、浊度和总悬浮颗粒(TSS);化学参数:pH、溶解氧(DO)、总氮(TN)、溶解性总氮(DTN)、铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、亚硝态氮(NO₂⁻-N)、总磷(TP)、溶解性总磷(DTP)、磷酸根(PO₄³⁻-P)、叶绿素a(Chl-a)、溶解有机碳(DOC)及高锰酸盐指数(COD),共19个参数.

表1 FACS Vantage SE 流式细胞仪基本配置

Table 1 Configuration of the FACS Vantage SE flow cytometry				
激发波长 /nm	检测通道	检测波长 /nm	颜色	检测色素
488	FL1	530/30	绿色	
	FL2	585/40	黄色	藻红素
	FL3	670LP	红色	叶绿素
640	FL4	675/25	红色	藻蓝素

利用 DNeasy blood and tissue (Qiagen) 试剂盒,提取分选后超微型真核藻的总 DNA,用于目标片段的扩增. 采用真核藻类 18S rRNA 通用引物对 Euk1f: 5'-CTGTTGATCCTGCCAG-3' (在其 5'端用 Cy5 染料标记) 和 Euk 516r: 5'-ACCAGACTTGCCTCC-3',片段长度约 560 bp^[15]. PCR 反应体积为

25 μL , 体系组成为: 12.5 μL *Taq* Premix-Blue 2X(上海博彩), 3 ~ 5 μL 提取的 DNA 模版, 前后引物各 0.1 μL (20 $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 无菌去离子水补充至 25 μL . 扩增反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$, 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$, 50 s, 57 $^{\circ}\text{C}$, 50 s, 72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 循环 30 次; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min. 扩增完成后用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增效果, 对于 PCR 条带较弱样品进行基因组扩增^[16]. 结果显示扩增的 18S rRNA 基因序列为单一条带, 长度约为 600 bp, 表明扩增产物特异性较好, 能用于进一步的分析.

1.4 酶切纯化及 T-RFLP 分析

PCR 产物用绿豆核酸酶 (Mung bean nuclease, Takara) 水解单链 DNA 以消除 T-RFLP 过程中可能出现的假峰^[17], 30 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 35 min. 酶切后的产物用 PCR 纯化试剂盒 (Axygen) 进行纯化.

用限制性内切酶 *Msp* I (TaKaRa) 对绿豆酶切纯化后的产物进行酶切消化, 37 $^{\circ}\text{C}$ 酶切 3 h. 酶切后的产物用 PCR 纯化试剂盒 (Axygen) 进行二次纯化. 然后上样至 CEQTM 8000 遗传分析系统 (Beckman-Coulter Inc., USA) 进行 T-RFLP 分析.

选取 T-RFLP 图谱中片段大小在 60 ~ 600 bp 间, 并且检测峰面积超过 100 个荧光单位的峰作为有效峰进行后续数据处理. 为减少上样量的差异, 过滤掉样品中相对峰面积 (relative abundance, R_a) 低于 1% 的峰, 同时为减少不同样品出峰时间的差异, 将大小相差小于 1 bp 的 T-RFs 归为一个 T-RF, 用剩下峰的 R_a 数据矩阵进行后续超微型真核藻群落结构分析.

1.5 基于 T-RFLP 图谱的超微型真核藻多样性分析

物种丰度 (richness): S 为图谱中显著峰的总数, 笔者粗略地认为每个峰对应一个不同的物种.

根据每个图谱中 T-RFs 数及其相对丰度^[18] (即相对峰面积) 计算 Shannon-Weiner (H') 多样性指数:

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

式中, P_i 表示相对峰面积, 即某个峰的峰面积占总峰面积的比例.

1.6 典型对应分析

采用 CANOCO 4.5 软件分析环境因子湖超微型真核藻类群落组成变化与环境因子的相关性^[19]. 用于统计分析的环境因子包括所监测的所有 19 个水体理化参数. 采用每个 T-RFs 的相对峰面积作为物种数据进入软件分析, 不再进行对数转化.

2 结果与分析

2.1 湖泊的理化特性

长江中下游湖泊大都为浅水湖泊, 所调查的湖泊中, 除龙窝湖水深 (7.1 m) 超过 6 m 外, 其它湖泊水深均小于 5 m, 平均水温 17.5 $^{\circ}\text{C}$, 最大温差不超过 5 $^{\circ}\text{C}$, pH 主要呈中性到弱碱性, 而其它理化性质, 差异明显, 变化梯度大, 如 SD (0.2 ~ 4.98 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、TN (0.53 ~ 6.36 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、DO (6.71 ~ 17.14 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、TN (0.011 ~ 0.306 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、TSS (3.19 ~ 59.75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、Chl-a (2.64 ~ 154.75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、COD (2.2 ~ 7.97 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、DOC (2.449 ~ 15.354 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 等. 对这些不同环境湖泊中超微型真核藻的多样性进行调查, 能更好地阐明其分布规律及主要影响因子.

利用综合营养状态指数法^[20] 选取 Chl-a、TN、TP、SD 和 COD 共 5 个参数, 对各湖的营养水平进行了划分 (表 2). 属于中营养状态的湖泊有 8 个, 轻度富营养的 13 个, 中度富营养的 9 个, 表明长江中下游湖泊由于受人类影响较大, 大多已成富营养化.

2.2 基于 T-RFLP 图谱的超微型真核藻多样性分析

2.2.1 超微型真核藻群落分布特征及多样性分析

在所调查的湖泊中, 虽然各湖环境条件不同, 但都发现了超微型真核藻的序列, 说明超微型真核藻在淡水湖泊中的分布非常广泛. 总共检测到 197 个 T-RFs, 望天湖和小麦湖的 T-RFs 最多 (55 个), 七里八里湖的 T-RFs 最少 (18 个) (表 3). 其中只有 13 个 T-RFs 片段 (62、63、66、68、75、90、91、101、116、118、175、223、381 bp) 在超过一半 (>15) 的湖泊中都有分布, 而 26% 的 T-RFs (52 个) 仅在一个湖中检测到, 19% 的 T-RFs (37 个) 只在 2 个湖中检测到. 3 种营养状态的湖泊包含一些特有序列.

各湖检测到的 T-RFs 数及香浓多样性指数如表 3 所示. 总体趋势上, 中营养状态湖泊的 T-RFs 数及多样性指数都相对富营养化湖泊的较高. 而富营养化湖泊中, 除部分湖泊 (如枫沙湖、猪婆湖、九罗湖) 的多样性指数较高外, 轻度和中度富营养化湖泊的多样性指数无明显区别. Lefranc 等^[4] 的研究也指出贫中营养水平湖泊中超微型真核浮游生物的遗传多样性水平最高, 这与本研究结果一致.

2.2.2 聚类分析

利用 PRIMER 5 对所有 30 个湖泊水样 PCR 产物的 T-RFLP 图谱进行聚类分析, 通过聚类分析的

表 2 湖泊营养状态评价结果

Table 2 Trophic states of the lakes

编号	湖名	透明度/m	TN/mg·L ⁻¹	TP/mg·L ⁻¹	Chl-a/mg·m ⁻³	COD/mg·L ⁻¹	营养状态指数	营养级别
1	龙窝湖	4.98	1.06	0.017	2.99	2.64	34	中营养状态
2	赤湖	0.75	1.54	0.011	7.50	2.44	42	中营养状态
3	三山湖	0.92	0.53	0.017	12.57	3.27	43	中营养状态
4	鲁湖	0.97	0.65	0.021	9.99	3.37	43	中营养状态
5	竹丝湖	0.43	1.29	0.027	3.99	2.20	44	中营养状态
6	望天湖	1.30	0.83	0.036	15.71	4.41	47	中营养状态
7	野猪湖	0.80	0.65	0.043	19.04	3.49	48	中营养状态
8	小麥湖	0.60	1.09	0.022	20.96	3.63	49	中营养状态
9	固城湖	0.60	1.30	0.041	9.68	4.13	50	轻度富营养
10	策湖	1.08	1.44	0.052	22.16	4.82	52	轻度富营养
11	陈瑶湖	0.38	1.48	0.038	14.90	4.74	54	轻度富营养
12	新妙湖	0.34	1.19	0.052	23.20	3.81	55	轻度富营养
13	猪婆湖	0.60	1.41	0.075	47.18	3.29	56	轻度富营养
14	枫沙湖	0.20	2.56	0.064	7.88	3.43	56	轻度富营养
15	升金湖	0.20	0.84	0.065	35.31	3.45	57	轻度富营养
16	黄泥湖	0.58	3.31	0.072	28.83	3.49	57	轻度富营养
17	赤东湖	0.73	1.32	0.060	71.19	4.92	57	轻度富营养
18	邵伯湖	0.25	1.00	0.081	24.11	4.49	58	轻度富营养
19	东湖	0.63	1.31	0.090	57.48	4.84	58	轻度富营养
20	七里八里	0.56	2.56	0.081	57.87	3.42	59	轻度富营养
21	太泊湖	0.28	3.41	0.069	27.57	3.21	59	轻度富营养
22	澄湖	0.42	3.75	0.083	37.81	4.11	61	中度富营养
23	青菱湖	0.55	1.53	0.138	57.54	6.19	62	中度富营养
24	黄家湖	0.50	1.85	0.098	96.36	6.57	63	中度富营养
25	九罗湖	0.56	3.70	0.138	68.89	5.10	64	中度富营养
26	长白荡	0.43	3.54	0.158	57.67	5.03	65	中度富营养
27	淀山湖	0.38	3.79	0.147	62.74	5.22	65	中度富营养
28	竹林塘	0.50	2.23	0.151	154.75	6.46	67	中度富营养
29	黄冈东	0.52	1.72	0.175	153.83	7.39	67	中度富营养
30	南星湖	0.40	3.76	0.215	111.34	6.65	69	中度富营养

表 3 基于 T-RFs 图谱的 34 湖中超微型真核藻的香浓多样性指数

Table 3 Shannon-Wiener index of picoeukaryotic phytoplankton calculated from T-RFs profiles of the 34 lakes

中营养湖泊	T-RF 数	香浓指数 H'	轻度富营养湖泊	T-RF 数	香浓指数 H'	中度富营养湖泊	T-RF 数	香浓指数 H'
三山湖	47	3.592	枫沙湖	47	3.563	九罗湖	41	3.351
竹丝湖	50	3.763	猪婆湖	48	3.397	竹林塘	33	3.157
望天湖	55	3.697	赤东湖	24	2.992	黄冈东	36	3.152
小麥湖	55	3.519	陈瑶湖	33	2.981	长白荡	40	2.975
鲁湖	46	3.469	固城湖	33	2.980	淀山湖	25	2.449
赤湖	34	3.050	策湖	36	2.908	澄湖	25	2.296
龙窝湖	26	2.906	东湖	25	2.815	青菱湖	29	2.938
野猪湖	26	2.800	黄泥湖	30	2.787	黄家湖	33	2.831
			太泊湖	28	2.758	南星湖	21	2.197
			新妙湖	30	2.757			
			邵伯湖	26	2.521			
			升金湖	21	2.257			
			七里八里	18	1.929			

结果判断不同湖泊中超微型真核藻类群落结构的相似程度,得到结果如图 2 所示. 各湖主要聚为 3 类,但相似度最高不超过 80 %,表明不同环境条件下超

微藻的群落结构组成差异很大,说明真核超微藻的多样性具有环境特异性. 总体水平上,营养水平相近的湖泊聚为一类,相似度相对较高,例如龙窝湖、

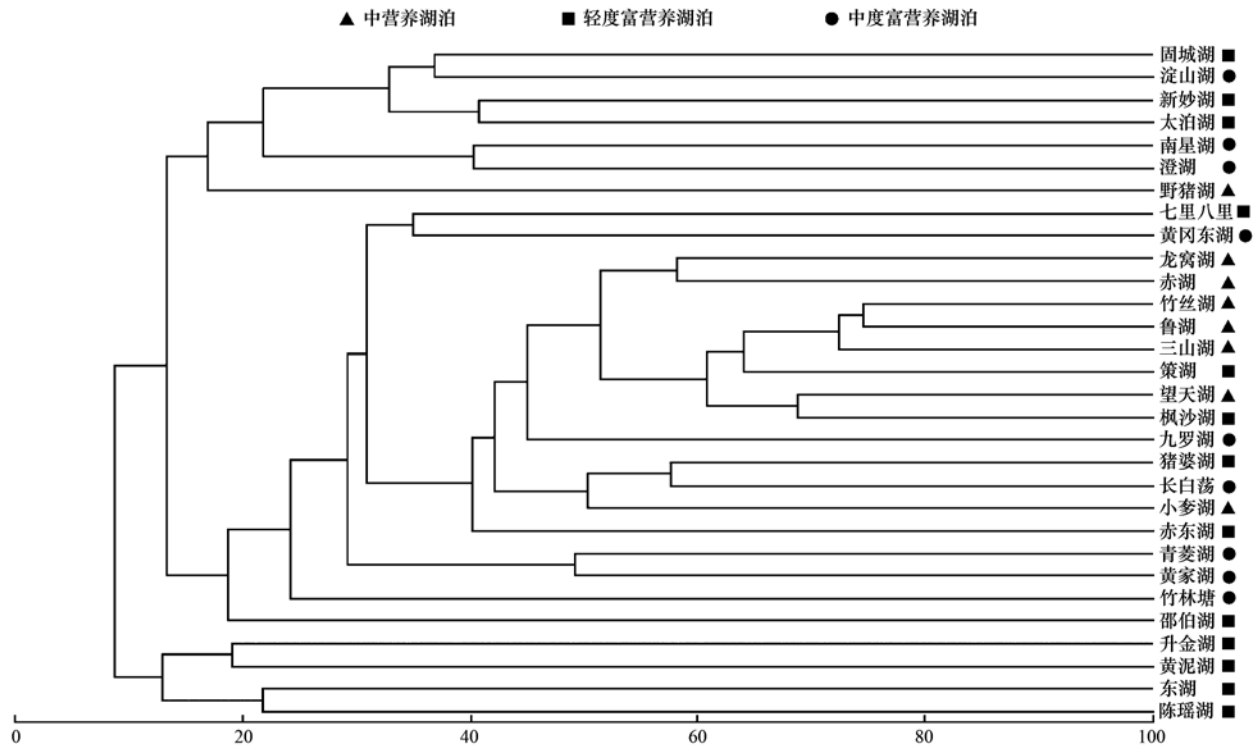


图 2 湖泊的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of the lakes

赤湖、竹丝湖、鲁湖、三山湖、策湖、望天湖和枫沙湖聚为一类,除策湖和枫沙湖属于轻度富营养水平外,其它湖泊都属于中营养水平.

2.3 环境因子对超微藻分布的影响

先对物种数据进行有环境数据的趋势对应分析 (detrended correspondence analysis, DCA) (表 4),第一轴梯度最长为 4.602,解释了 10.7 % 的物种变化,其它 3 轴对物种变化的解释量相对少些. 由于 DCA 结果显示样品矩阵第一轴的梯度长度大于 4,因此本研究假定物种与环境间具有非线性的相关关系,选择典型对应分析 (canonical correspondence analysis, CCA) 来计算环境因子与超微型真核藻类群落组成变化的相关性. 直接将所有环境因子纳入进行的 CCA 分析,出现明显的弓形效应,通过环境因子预选,最终进入模型的环境因子包括 TN、TP、TDS、Chl-a、DOC、pH. 通过蒙特卡罗检验 (499 个非限制性筛选循环) 对计算结果的显著性进行检验,表明超微型真核藻类的群落结构组成与总氮浓度显著相关 ($P = 0.006$). 第一轴与第二轴与 DOC 的特征值分别为 0.316 和 0.228,这两轴共解释了 10.0 % 的超微型真核藻类群落组成的变化,考虑到物种数量的巨大,这种解释水平已经很高.

表 4 超微型真核藻类群落的 DCA 分析结果

Table 4 Results of DCA analysis on picoeukaryotic phytoplankton community

排序轴序号	1	2	3	4
特征值	0.586	0.440	0.250	0.164
梯度长度	4.602	3.747	2.544	2.443
物种和环境因子排序轴相关系数	0.823	0.766	0.771	0.605
物种数据累计百分比	10.7	18.7	23.2	26.2
物种和环境因子关系累计百分比	10.8	18.4	0	0

3 讨论

通过流式分选后再进行 PCR 扩增,扩增结果条带单一特异性好,大大减少了异养模版的竞争,结合 T-RFLP 方法重复性强、分辨率高和可自动化的特点,应用于超微型真核藻类群落结构的研究,效率高,准确性强. 虽然根据 T-RFs 长度与已有数据库进行对比有可能直接对图谱中的单个物种进行鉴定^[5],但目前这方面关于超微型真核藻类的研究还很少,数据库也不成熟,因此运用 T-RFLP 无法直接对物种进行明确定性,需要通过克隆建库及测序鉴定每个 T-RF 对应的种类.

目前对超微型真核藻多样性的调查多集中在海洋中,对淡水中超微型真核藻的研究相对较少,并且大都只是集中研究了某个湖泊中超微型真核藻的多样性,很少有对大范围空间尺度上的多个湖泊进行

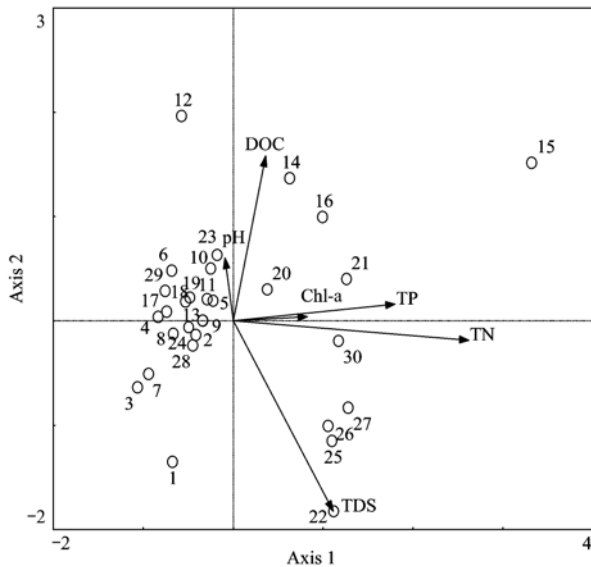


图3 超微型真核藻类群落与其影响因子的 CCA 分析

Fig. 3 Sample-environmental variables biplot of Correspondence canonical analysis (CCA) with environmental variables selected by the forward selection procedure

系统比较研究. 而由于长江中下游湖泊受人类影响较大, 营养状态营养水平都相对较高, 因此本研究缺乏贫营养湖泊超微型真核藻类多样性的数据. Richards 等^[21]利用 18S rRNA 基因测序对一个贫营养淡水湖中超微型真核生物的多样性进行了调查, 发现至少有 5 个进化簇中包含来自于截然不同的生态环境的淡水序列, 说明许多超微型真核生物的谱系都分布广泛. 而本研究中 45 % 的 T-RFs 只在 1 个或 2 个湖泊中有检测到, 表明在这些营养水平较高淡水生境中, 只有少部分种类的超微真核藻分布非常广泛, 而大部分的超微型真核藻只分布在特定的生境当中. 此外, 3 种营养水平的湖泊都包含一些特有种, 可以对这些种进行鉴定, 作为水体营养状态的判别依据.

DCA 分析中, 四轴与环境因子的相关系数都较高, 这说明整个物种的变化并不只是受一种环境梯度的影响, 而是多种环境因子共同影响的结果. Callieri 也指出湖泊类型、光照、营养条件和生物捕食等都对超微藻的生长和分布有影响^[1]. CCA 分析结果表明, 在众多影响因子中, TN 是这些湖泊中超微型真核藻类群落组成最重要的影响因子. 已有许多研究都表明湖泊中超微型真核浮游生物群落组与水体的营养水平密切相关^[4, 22, 23], 焦念志^[14]指出生长在南海的超微型真核自养生物普遍存在氮限制作用. 赵璧影等^[24]对南京 8 湖超微型真核浮游生物的研究表明其群落组成与 Chl-a 浓度显著相关,

Chen 等^[25]发现太湖不同湖区微型真核浮游生物的多样性与总磷浓度显著相关. 本研究中总氮与 Chl-a 和总磷浓度都呈显著相关 ($P < 0.05$), 它们都可以表征湖泊的营养水平. 而多样性的研究结果也表明中营养水平湖泊中的超微型真核藻多样性指数最高.

两个 CCA 轴共解释了 10.0 % 的物种变化, 表明除水体理化因子外, 生物因素 (如捕食) 对超微型真核藻类的组成也具有重要作用. Lepère 等^[22]对微型真核浮游生物群落的演替与调节因子进行了调查, 浮游动物的捕食对真核群落的调控作用较大; N、P 浓度在表层也会对其产生一定影响. 异养 (包括混合营养) 微型鞭毛虫和小纤毛虫是超微型浮游植物最重要的捕食者^[26, 27], *Daphnia* 能影响包括纤毛虫到细菌和超微型藻类在内的整个微食物网^[28].

4 结论

长江中下游湖泊由于受人类影响较大, 大多已成富营养化. 尽管如此, 湖泊中超微型真核藻的群落组成差异仍然很大, 表明超微型真核藻类群落结构的环境特异性强, 其中中营养水平湖泊中超微型真核藻类的遗传多样性最高. 统计分析结果表明, 总氮浓度与超微型真核藻类群落结构显著相关.

致谢: 感谢赵旭辉、姜广甲、苏曦、余丽在论文写作及实验中给予的支持与帮助.

参考文献:

- [1] Callieri C. Picophytoplankton in freshwater ecosystems: the importance of small-sized phototrophs [J]. *Freshwater Reviews*, 2007, **1**(1): 1-28.
- [2] Azam F, Fenchel T, Field J G, *et al.* The ecological role of water-column microbes in the sea [J]. *Marine Ecology-Progress Series*, 1983, **10**(3): 257-263.
- [3] Li W K W. Primary production of prochlorophytes, cyanobacteria, and eucaryotic ultraphytoplankton: Measurements from flow cytometric sorting [J]. *Limnology and Oceanography*, 1994, **39**(1): 169-175.
- [4] Lefranc M, Thenot A, Lepere U, *et al.* Genetic diversity of small eukaryotes in lakes differing by their trophic status [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(10): 5935-5942.
- [5] Osborn A M, Moore E R B, Timmis K N. An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics [J]. *Environmental Microbiology*, 2000, **2**(1): 39-50.
- [6] 余素林, 吴晓磊, 钱易. 环境微生物群落分析的 T-RFLP 技术及其优化措施 [J]. *应用与环境生物学报*, 2006, **12**(6): 861-868.

- [7] Moon-van der Staay S Y, Wachter R D, Vault D. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity[J]. *Nature*, 2001, **409**(6820): 607-610.
- [8] Not F, Latasa M, Marie D, *et al.* A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the western English channel[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(7): 4064-4072.
- [9] Masquelier S, Vault D. Distribution of micro-organisms along a transect in the South-East Pacific Ocean (BIOSOPE cruise) using epifluorescence microscopy[J]. *Biogeosciences*, 2008, **5**(2): 311-321.
- [10] Shi X L, Marie D, Jardillier L, *et al.* Groups without cultured representatives dominate eukaryotic picophytoplankton in the oligotrophic South East Pacific Ocean[J]. *PLoS ONE*, 2009, **4**(10): e7657.
- [11] Marie D, Shi X L, Rigaut-Jalabert F, *et al.* Use of flow cytometric sorting to better assess the diversity of small photosynthetic eukaryotes in the English Channel [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, **72**(2): 165-178.
- [12] Crosbie N D, Teubner K, Weisse T. Flow-cytometric mapping provides novel insights into the seasonal and vertical distributions of freshwater autotrophic picoplankton [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2003, **33**(1): 53-66.
- [13] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 143-245.
- [14] 焦念志. 海洋微生物生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2006. 150-153, 363-364.
- [15] Diez B, Pedros-Alio C, Marsh T L, *et al.* Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(7): 2942-2951.
- [16] Lepere C, Demura M, Kawachi M, *et al.* Whole-genome amplification (WGA) of marine photosynthetic eukaryote populations[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, **76**(3): 513-523.
- [17] Egert M, Friedrich M W. Formation of pseudo-terminal restriction fragments, a PCR-related bias affecting terminal restriction fragment length polymorphism analysis of microbial community structure [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(5): 2555-2562.
- [18] Boucher D, Jardillier L, Debroas D. Succession of bacterial community composition over two consecutive years in two aquatic systems: a natural lake and a lake-reservoir [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **55**(1): 79-97.
- [19] Lepš J, Šmilauer P. *Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO* [M]. New York: Cambridge University Press, 2003. 183-195.
- [20] 王鹤扬. 综合营养状态指数法在陶然亭湖富营养化评价中的应用[J]. *环境科学与管理*, 2012, **37**(9): 188-194.
- [21] Richards T A, Vepritskiy A A, Gouliamova D E, *et al.* The molecular diversity of freshwater picoeukaryotes from an oligotrophic lake reveals diverse, distinctive and globally dispersed lineages [J]. *Environmental Microbiology*, 2005, **7**(9): 1413-1425.
- [22] Lepère C, Boucher D, Jardillier L, *et al.* Succession and regulation factors of small eukaryote community composition in a Lacustrine ecosystem (Lake Pavin) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(4): 2971-2981.
- [23] Gaedke U, Seifried A, Adrian R. Biomass size spectra and plankton diversity in a shallow eutrophic lake[J]. *International Review of Hydrobiology*, 2004, **89**(1): 1-20.
- [24] 赵璧影, 陈美军, 孙颖, 等. 南京 8 个湖泊超微真核浮游生物遗传多样性的研究[J]. *环境科学*, 2010, **31**(5): 1293-1298.
- [25] Chen M J, Chen F Z, Yu Y, *et al.* Genetic diversity of eukaryotic microorganisms in lake Taihu, a large shallow subtropical lake in China[J]. *Microbial Ecology*, 2008, **56**(3): 572-583.
- [26] Christoffersen K. Variations of feeding activities of heterotrophic nanoflagellates on picoplankton [J]. *Marine Microbial Food Webs*, 1994, **8**(1-2): 111-123.
- [27] Šimek K, Bobkova J, Macek M, *et al.* Ciliate grazing on picoplankton in a eutrophic reservoir during the summer phytoplankton maximum: a study at the species and community level[J]. *Limnology and Oceanography*, 1995, **40**(6): 1077-1090.
- [28] Jürgens K. Impact of Daphnia on planktonic microbial food webs-a review[J]. *Marine Microbial Food Webs*, 1994, **8**(1-2): 295-324.

CONTENTS

PUF Passive Air Sampling of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Atmosphere of the Yangtze River Delta, China: Spatio-Temporal Distribution and Potential Sources	ZHANG Li-fei, YANG Wen-long, DONG Liang, <i>et al.</i> (3339)
Quantitative Analysis of Nitrate in Atmospheric Particulates PM _{2.5} with Fourier Transform Infrared Spectroscopy	LIU Na, WEI Xiu-li, GAO Min-guang, <i>et al.</i> (3347)
Study on Contribution Factor to Atmospheric ·OH by O ₃ , HONO, HCHO and H ₂ O ₂ in Spring at Mangdang Mountain, Fujian Province	LIU Hao, WANG Hui-xiang (3352)
A Review on Current Situations of Steroid Estrogen in the Water System	DU Shao-ting, JIN Chong-wei, LIU Yue (3358)
A Study on the Veterinary Antibiotics Contamination in Groundwater of Jiaxing	LÜ Xing, YU Wei-juan, LAN Ya-qiong, <i>et al.</i> (3368)
Contamination Characteristics of Short-Chain Chlorinated Paraffins in Edible Fish of Shanghai	JIANG Guo, CHEN Lai-guo, HE Qiu-sheng, <i>et al.</i> (3374)
Detection of Endotoxin Activity in Water Environment and Analysis of Influence Factors for TAL Assay	ZHANG Can, LIU Wen-jun, ZHANG Ming-lu, <i>et al.</i> (3381)
Cellular Response of Freshwater Green Algae to the Toxicity of Tetracycline Antibiotics	XU Dong-mei, WANG Yan-hua, RAO Gui-wei (3386)
Illumination's Effect on the Growth and Nitrate Reductase Activity of Typical Red-Tide Algae in the East China Sea	LI Hong-mei, SHI Xiao-yong, DING Yan-yan, <i>et al.</i> (3391)
Compare the Growth of <i>Enteromorpha prolifera</i> Under Different Nutrient Conditions	PANG Qiu-ting, LI Feng, LIU Xiang-qing, <i>et al.</i> (3398)
Phytoplankton Pigment Patterns and Community Structure in the Yangtze Estuary and Its Adjacent Areas	LAI Jun-xiang, YU Zhi-ming, SONG Xiu-xian, <i>et al.</i> (3405)
Genetic Diversity of Picoeukaryotic Phytoplankton in the Lakes Along the Middle-lower Reaches of the Yangtze River	LI Sheng-nan, SHI Xiao-li, XIE Wei-wei, <i>et al.</i> (3416)
Studies on Seasonal Variation and Sources of Nitrogen and Phosphorus in a Canyon Reservoir Used as Water Source	HUANG Ting-lin, QIN Chang-hai, LI Xuan (3423)
Characteristics of Sediment Phosphorus in the Jiulong River-Reservoir System and Its Ecological Significance	LU Ting, CHEN Neng-wang, CHEN Zhu-hong, <i>et al.</i> (3430)
Variation of Nitrogen During the High Suspended Sediments Concentration Water Supply in an Artificial Shallow Lake	CHEN You-yuan, SHEN Yu, YANG Shi-ying (3437)
Limestone and Pyrite-Limestone Constructed Wetlands for Treating River Water	ZHANG Jing, LI Rui-hua, LI Jie, <i>et al.</i> (3445)
Dynamics of Carbon, Nitrogen and Phosphorus Storage of Three Dominant Marsh Plants in Hangzhou Bay Coastal Wetland	SHAO Xue-xin, LI Wen-hua, WU Ming, <i>et al.</i> (3451)
Dissolved Organic Matter Release of <i>Zizania caduciflora</i> and <i>Phragmites australis</i> from Lake Dianchi	XIE Li, YANG Hao, QU Xiao-xia, <i>et al.</i> (3458)
Influence of Tap Water Treatment on Perfluorinated Compounds Residue in the Dissolved Phase	ZHANG Hong, CHEN Qing-wu, WANG Xin-xuan, <i>et al.</i> (3467)
Study on Chlorinated Disinfection Byproducts and the Relevant Health Risk in Tap Water of J City	LI Xiao-ling, LIU Rui, LAN Ya-qiong, <i>et al.</i> (3474)
Effect of the Change in Sulphate and Dissolved Oxygen Mass Concentration on Metal Release in Old Cast Iron Distribution Pipes	WU Yong-li, SHI Bao-you, SUN Hui-fang, <i>et al.</i> (3480)
Research on Low-level Hg(II) Removal from Water by the Heavy Metal Capturing Agent	HU Yun-jun, SHENG Tian-tian, XUE Xiao-qin, <i>et al.</i> (3486)
Coagulation Characteristics of Polyferric Chloride-Poly (Epichlorohydrin-Dimethylamine) Composite Flocculant for Simulated Water Treatment	LIU Xin-xin, YANG Zhong-lian, GAO Bao-yu, <i>et al.</i> (3493)
Microstructure Morphology and Flocculation Mechanism of the Decolorizing Flocculant Poly-aluminum(III)-magnesium(II)-sulfate	SANG Yi-min, CHANG Xue-hong, CHE Yue, <i>et al.</i> (3502)
Efficient Degradation of Tetrabromobisphenol A in Water by Co-doped BiFeO ₃	OUYANG Lei, DING Yao-bin, ZHU Li-hua, <i>et al.</i> (3507)
Preparation Bimetallic Heterogeneous Fenton-Like Catalyst as Sepiolite Supported and Its Surface Chemical Characterization	SU Cheng-yuan, LI Wei-guang, LIU Xing-zhe, <i>et al.</i> (3513)
Nitrite Denitrification Characteristics with Redox Mediator	ZHAO Li-jun, MA Zhi-yuan, GUO Yan-kai, <i>et al.</i> (3520)
Advanced Nitrogen Removal Using Innovative Denitrification Biofilter with Sustained-Release Carbon Source Material	TANG Lei, LI Peng, ZUO Jian-e, <i>et al.</i> (3526)
N ₂ O Production in Nitrogen Removal by Micro-expansion of Granular Sludge	CHEN Li-li, GAO Da-wen (3532)
Sludge Dewaterability with Combined Conditioning Using Fenton's Reagent and CPAM	MA Jun-wei, LIU Jie-wei, CAO Rui, <i>et al.</i> (3538)
Kinetic Characteristics of High-rate ANAMMOX Granules	TANG Chong-jian, XIONG Lei, WANG Yun-yan, <i>et al.</i> (3544)
Monitoring Nitrogen Deposition on Temperate Grassland in Inner Mongolia	ZHANG Ju, KANG Rong-hua, HUANG Bin, <i>et al.</i> (3552)
Non-Point Loads of Soluble Cadmium by <i>in situ</i> Field Experiment with Different Landuses, in Central Hunan Province Mining Area	LIU Xiao-li, ZENG Zhao-xia, CHEN Zhe, <i>et al.</i> (3557)
Heavy Metal Speciation and Stability in the Sediment of Lihu Lake	WANG Shu-hang, WANG Wen-wen, JIANG Xia, <i>et al.</i> (3562)
Analysis and Evaluation of Heavy Metals Along the Chaohe River in Miyun County	YU Yang, GAO Hong-chao, MA Jun-hua, <i>et al.</i> (3572)
Magnetic Properties of Topsoils in Typical Industrial Belt Along the Yellow River in Arid Regions in Northwest China and Their Environmental Significance	XU Shu-jing, ZHANG Ying, YU Ye, <i>et al.</i> (3578)
Study on Composite Stabilization of Arsenic (As) Contaminated Soil	WANG Hao, PAN Li-xiang, ZHANG Xiang-yu, <i>et al.</i> (3587)
Heavy Metal Contents and Enrichment Characteristics of Dominant Plants in a Lead-Zinc Tailings in Xiashuiwan of Hunan Province	HE Dong, QIU Bo, PENG Jin-hui, <i>et al.</i> (3595)
Comparison of Soil Fertility Among Open-pit Mine Reclaimed Lands in Antaibao Regenerated with Different Vegetation Types	WANG Xiang, LI Jin-chuan, YUE Xiang-yi, <i>et al.</i> (3601)
Biodegradation of Triphenyltin and Its Effect on <i>Klebsiella pneumoniae</i>	YE Jin-shao, TIAN Yun, YIN Hua, <i>et al.</i> (3607)
Isolation and Degradation Characteristics of Dichloromethane-Degradation Bacterial Strain by <i>Methylobacterium rhodesianum</i> H13	LIU Hong-xia, ZHU Run-ye, OUYANG Du-juan, <i>et al.</i> (3613)
Effect of Different Primers on Microbial Community of Activated Sludge	XU Ai-ling, WU Deng-deng, SONG Zhi-wen, <i>et al.</i> (3620)
Reaction of SO ₂ over CaAl Mixed Oxides Derived from Hydrotalcites Samples	CAO Lin, WANG Hai-lin, XIE Qiang (3627)
Optimization for MSW Logistics of New Xicheng and New Dongcheng Districts in Beijing Based on the Maximum Capacity of Transfer Stations	YUAN Jing, Li Guo-xue, ZHANG Hong-yu, LUO Yi-ming, <i>et al.</i> (3633)
Application of Multiple Lines of Evidence Analysis Technology in the Assessment of Sites Contaminated by Heavy Metals	JIANG Lin, ZHONG Mao-sheng, ZHU Xiao-ying, <i>et al.</i> (3641)
Heavy Metals and Their Sources in Outdoor Settled Dusts in Different Function Areas of Cities	LI Xiao-yan, LIU Yan-qing (3648)
Study on Distribution Characteristics and Potential Ecological Risk of Soil Heavy Metals in the Yellow River Beach Region in Kaifeng City	ZHANG Peng-yang, QIN Ming-zhou, YAN Jiang-hong, <i>et al.</i> (3654)
Study on Pollution Evaluation of Heavy Metal in Surface Soil of the Original Site of Qingdao North Station	ZHU Lei, JIA Yong-gang, PAN Yu-ying (3663)
Distribution Characteristics and Ecological Risk of Pb in Soils at a Lead Battery Plant	ZHENG Li-bao, CHEN Wei-ping, JIAO Wei-tao, <i>et al.</i> (3669)
Effect of Lead on Soil Quality and Human Health Around a Lead Smeltery	ZHOU Xiao-yong, LEI Mei, YANG Jun, <i>et al.</i> (3675)
Distribution Characteristics of Lead in Different Particle Size Fractions of Surface Soil of a Lead-acid Battery Factory Contaminated Site	YUE Xi, SUN Ti-chang, HUANG Jin-lou (3679)
Research on the Application of <i>In-situ</i> Biological Stabilization Solidification Technology in Chromium Contaminated Site Management	ZHANG Jian-rong, LI Juan, XU Wei (3684)
Research on the Effect and Technique of Remediation for Multi-Metal Contaminated Tailing Soils	ZHU Guang-xu, GUO Qing-jun, YANG Jun-xing, <i>et al.</i> (3690)
Analysis of Washing Efficiency and Change in Lead Speciation in Lead-contaminated Soil of a Battery Factory	REN Bei, HUANG Jin-lou, MIAO Ming-sheng (3697)
Remediation Efficiency of Lead-Contaminated Soil at an Industrial Site by Ultrasonic-assisted Chemical Extraction	WANG Xin-jie, HUANG Jin-lou, LIU Zhi-qiang, <i>et al.</i> (3704)
Parameters Optimization and Cleaning Efficiency Evaluation of Attrition Scrubbing Remediation of Pb-Contaminated Soil	YANG Wen, HUANG Jin-lou, PENG Hui-qing, <i>et al.</i> (3709)
Adsorption of Cd ²⁺ on Biochar from Aqueous Solution	GUO Wen-juan, LIANG Xue-feng, LIN Da-song, <i>et al.</i> (3716)
Effect of Inorganic Amendments on the Stabilization of Heavy Metals in Contaminated Soils	CAO Meng-hua, ZHU Xi, LIU Huang-cheng, <i>et al.</i> (3722)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年9月15日 34卷 第9期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 9 Sep. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人