

# 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<sub>2.5</sub>中硝酸盐的定量分析 ..... 刘娜, 魏秀丽, 高闽光, 徐亮, 焦洋, 李胜, 童晶晶, 程巴阳 (3347)

福建茫荡山地区春季大气O<sub>3</sub>、HONO、HCHO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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, 谢薇薇, 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<sub>2</sub>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, 胡凌霄, 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<sub>2</sub>储存性能研究 ..... 曹琳, 王海滨, 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**

多证据分析技术在场地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)

## 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

(青岛理工大学环境与市政工程学院, 青岛 266033)

**摘要:** 研究不同引物对 PCR-DGGE 和 PCR-RFLP 技术分析污泥群落结构的影响, 选取 8 对通用引物扩增 16S rDNA 不同可变区序列并对细菌多样性进行 DGGE 分析, 也选取 11 对通用引物扩增 16S rDNA 片段并对细菌多样性进行 RFLP 分析. 通过分析 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图谱、DGGE 图谱和酶切图谱, 评价不同引物的扩增效果及其对污泥群落多样性的表征能力. 结果表明, 采用不同引物进行污泥群落结构 DGGE 分析或 RFLP 分析时, 污泥群落多样性差异显著. PCR-DGGE 分析中, 引物 B341F/B534R (V3 区) 分析效果较好, 条带较丰富, 能够充分反映污泥群落多样性. PCR-RFLP 分析中, 引物 27f/8f 和 1500R 扩增效果较好, 酶切位点较多, 酶切图谱条带丰富, 差异性显著, 能够充分表征污泥群落多样性. 因此, 活性污泥细菌多样性分析时, PCR-DGGE 分析较优的引物为 B341F 和 B534R, PCR-RFLP 分析较优的引物为 27f/8f 和 1500R.

**关键词:** 活性污泥; 微生物多样性; PCR-DGGE; PCR-RFLP; 引物

**中图分类号:** X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2013)09-3620-07

## Effect of Different Primers on Microbial Community of Activated Sludge

XU Ai-ling, WU Deng-deng, SONG Zhi-wen, REN Jie, XIA Yan, DONG Shan-shan, LIU Meng

(School of Environment and Municipal Engineering, Qingdao Technological University, Qingdao 266033, China)

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effect of different primers in PCR-DGGE and PCR-RFLP on the analysis of microbial community in activated sludge. 8 pairs of primers were chosen to amplify the variable region of 16S rDNA for PCR-DGGE analysis, while 11 pairs of primers were used to amplify the total length of 16S rDNA for PCR-RFLP analysis. The effect of different primers on the analysis of microbial community in activated sludge was determined by electrophoresis analysis of the PCR products. The microbial community of the activated sludge was different when different primers were used. For PCR-DGGE analysis, the primers B341F/B534R had good amplification results and the bands were excessive; while for PCR-RFLP, the primers 27f/8f and 1500R had good amplification results and the bands digested by the two enzymes had the highest diversity. The primers B341F/B534R and 27f/8f/1500R were relatively good for PCR-DGGE and PCR-RFLP, respectively, in the analysis of microbial community in activated sludge.

**Key words:** activity sludge; microbial community; PCR-DGGE; PCR-RFLP; primer

活性污泥是一种人工培养的生物絮凝体, 具有吸附和分解废水中有机物的能力. 活性污泥中的微生物菌群是废水处理系统的功能主体, 是系统稳定运行的基础<sup>[1]</sup>. 因此, 采用合适的手段研究污泥微生物多样性及群落结构组成非常重要. 近年来活性污泥微生物菌群的研究一直是环境科学、生态学和环境工程领域的研究重点<sup>[2]</sup>.

活性污泥微生物种类及其丰富, 只有 0.1% ~ 1% 的微生物种类通过常规方法能够被培养, 若以这极少部分的微生物来代表环境和处理系统中复杂的微生物群体将导致极大的误差<sup>[3, 4]</sup>, 难以获得微生物群落结构的准确信息<sup>[5]</sup>. 随着现代分子生物学的发展, 出现了一些更快、更准确分析微生物群落结构及多样性的方法. 其中 PCR-DGGE (聚合酶链式反应和变性梯度凝胶电泳相结合的方法)、PCR-RFLP (聚合酶链式反应和限制性片段长度多态性技术相结合的方法) 等非培养方法突破了传统研究方法要依赖于培养技术的局限而显示出明显的优越

性. 而且已被证实 PCR-DGGE 法在区别不同种群的最初调查中以及在数量上占优势的群落的鉴定中尤为重要<sup>[6]</sup>. RFLP 技术具有较高的分辨率和可重复性<sup>[7]</sup>, 已经被广泛用于环境中微生物的群落结构分析<sup>[8~13]</sup>.

利用 DGGE 技术和 RFLP 技术解析污泥微生物多样性, PCR 技术都属于关键技术, 然而 PCR 结果可靠性和准确性又受到不同因素的影响, 其中, 引物选择非常关键. Watanabe 等<sup>[14]</sup>报道利用不同引物 16S rDNA 靶序列在 DGGE 分析中的结果是不同的. 因此, 研究不同样品时需要选择适宜的引物才可能达到预期效果. 本实验通过研究不同引物对污泥微生物多样性 PCR-DGGE 分析和 RFLP 分析结果的

收稿日期: 2013-01-17; 修订日期: 2013-03-03

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2011EEQ026); 青岛市基础研究计划项目 (KJZD-12-51-jch); 国家自然科学基金项目 (31170509/C031303)

作者简介: 徐爱玲 (1982 ~), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: xalcsu@gmail.com

\* 通讯联系人, E-mail: songzhiwen@qtech.edu.cn

影响,旨在确定污泥微生物多样性分析所需的最佳引物,为污泥微生物多样性 PCR-DGGE 检测和 RFLP 分析中的引物选择提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

取海泊河污水处理厂二沉池回流污泥 2.5 L 作为供试污泥样品进行实验。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品 DNA 的提取

取供试污泥样品,采用冻融法加 2% SDS 裂解细胞的方法<sup>[15]</sup>提取污泥总 DNA,利用 V-Gene PCR Clean-up 纯化试剂盒纯化。

#### 1.2.2 16S rDNA 的 PCR 扩增

PCR-DGGE 法解析污泥群落结构时,选用 8 对通用引物扩增 16S rDNA 不同可变区序列(表 1)。

B967F/B1046R、B968F/B1401R、B63F/B534R、B341F/B534R、B338F/B534R 的 PCR 程序:94℃ 5 min; 94℃ 45 s,退火温度每个循环降低 0.4℃ (25 个循环)45 s; 72℃ 1 min; 后 94℃ 45 s,52℃ 45s,72℃ 45 s,5 个循环;最后 72℃ 12 min。I341F/B534R、B341F/I533R、B341F/B926R 的 PCR 程序是:94℃ 5 min; 94℃ 45 s,退火温度每个循环降低 0.2℃ 45 s,72℃ 45 s(25 个循环);后 94℃ 45 s,47℃ 45 s,72℃ 45 s(5 个循环);最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。RFLP 法分析污泥微生物群落多样性时,选用 11 对不同通用引物(表 2)扩增 16S rDNA 获得 16S rDNA 片段。使用 MBI Fermentas 的 MasterMix,PCR 程序:94℃ 5 min; 94℃ 1 min,退火温度 1 min,72℃ 1 min(36 个循环); 72℃ 延伸 10 min。

表 1 DGGE 法中选用的引物

Table 1 Primers used in DGGE

引物	引物序列(5'-3')	扩增区域	温度/℃
B967F 和 B1046R	B967F CAACCGGAAGAACCTTACC B1046R CGACAGCCATGCANCACT	16S rDNA V6	62
B968F 和 B1401R	B968F AACCGGAAGAACCTTAC B1401R CGGTGTGTACAAGACCC	16S rDNA V6-V8	62
B63F 和 B534R	B63F CAGGCCTAACACATGCAGTC B534R ATTACCGCGGCTGCTGG	16S rDNA VI-V3	62
I341F 和 B534R	I341F CCTACGGGIGGCIGCA B534R ATTACCGCGGCTGCTGG	16S rDNA V3	52
B341F 和 B534R	B341F CCTACGGGAGGCAGCAG B534R ATTACCGCGGCTGCTGG	16S rDNA V3	62
B341F 和 I533R	B341F CCTACGGGAGGCAGCAG I533R TIACCGHICTTCTGGCAC	16S rDNA V3	52
B338F 和 B534R	B338F ACTCCTACGGGAGGCAGC B534R ATTACCGCGGCTGCTGG	16S rDNA V3	62
B341F 和 B926R	B341F CCTACGGGAGGCAGCAG B926R CCGTC AATTCCTTTGAGTTT	16S rDNA V3-V5	53.70

GC Clamps:CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCG CGG GGG G  
GC Clamps were added before the B967F, B968F, 243F, B63F, I341F, B341F, B338F

#### 1.2.3 DGGE 污泥群落多样性分析

采用 C. B. S scientific DGGE 分析系统对 PCR 产物进行分离和鉴定。制备 10% (质量分数) 聚丙烯酰胺凝胶,变性剂浓度 30% ~ 60%。将 PCR 产物和 20 μL 上样缓冲液混合,移取 20 μL 加入点样孔。电泳条件:在 1 × TAE buffer 中,60℃、150 V 条件下运行 7 h,电泳结束后对胶板进行银染<sup>[15]</sup>。用凝胶成像系统扫描 DGGE 图谱。用 Gel-Pro analyzer 软件对 DGGE 图谱进行分析。

#### 1.2.4 RFLP 污泥群落多样性分析

PCR 扩增 16S rDNA,用 PCR 产物纯化试剂盒 (OMEGA) 对 PCR 产物进行纯化,用 T<sub>4</sub> 连接酶克隆试剂盒 (MBI Fermentas) 将 PCR 纯化产物连入载体,然后转化到大肠杆菌 (Top10) 细胞中,挑取克隆子,提取克隆质粒 DNA,完成 16S rDNA 文库构建。通过菌落 PCR 扩增,重新获得 16S rDNA。引物选用 M13/PUCR 和 M13/PUCF。根据文献和引物 T<sub>m</sub> 值,确定菌落 PCR 扩增程序:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 45 s,55℃ 退火 45 s,72℃ 1.5 min,共 36 个循环; 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存。通过内切酶 Hha I 和

表 2 RFLP 法中选用的引物  
Table 2 Primers used in the RFLP

引物	引物序列(5'-3')	温度/°C
27f/8f 和 1492r	27f/8f AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 1492r GGTACCTTGTTACGACTT	55
27f/8f 和 1500R	27f/8f AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 1500R AGAAAGGAGGTGATCCAGCC	58
27f/8f 和 1512R	27f/8f AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 1512R ACGGCTACCTTGTTACGACTT	58
27f/8f 和 1525r	27f/8f AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 525r ACGYGTACTCACCCGT	55
27f/8f 和 16sR	27f/8f AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 16sR CCGTCAATTCCTTTGAGTTT	55
63f 和 1387r	63f CAGGCCTAACACATGCAAGTC 1387r GGGCGWGTGTACAAGGC	60
Nso1225 和 Eub338	Nso1225 CGCCATTGTATTACCTGCGA Eub338 ACTCCTACGGGAGGCAGC	60
A1 和 A2	A1 ATTCCGGTTGATCCTGC A2 AGGAGGTGATCCAGCCGCAG	58
R16mF2 和 R16mR1	R16mF2 CATGCAAGTCCAACGGA R16mR1 CTTAACCCCAATCATCGAC	55
7f 和 1540r	7f CAGAGTTTGATCCTGGCT 1540r AGGAGGTGATCCAGCCGCA	60
516f 和 1510r	516f TGCCAGCAGCCGCGTA 1510r GGTACCTTGTTACGACTT	58

*Rsa* I 消化,用琼脂糖凝胶电泳检测消化产物,获得酶切图谱.将酶切图谱进行数据转化,对酶切类型进行统计分析.

## 2 结果与分析

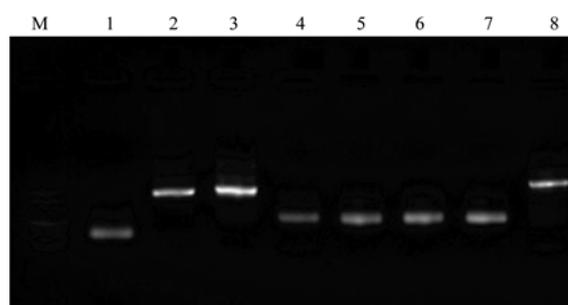
### 2.1 污泥16S rDNA的PCR扩增

#### 2.1.1 PCR-DGGE中16S rDNA的PCR扩增

选用 8 对 16S rDNA 通用引物对活性污泥总 DNA 进行 PCR 扩增,其产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测.图 1 是 8 对不同引物 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图谱.从中可以看出,8 对不同引物均能对污泥基因组 16S rDNA 不同可变区序列进行 PCR 扩增,并且扩增条带比较均一,没有明显的非特异性扩增产物.其中 B968F/B1401R、B63F/B534R、B341F/B926R 的扩增片段长度分别在 450 bp、470 bp、600 bp 左右,B967F/B1046R 的扩增片段长度在 150 bp 左右,I341F/B534R、B341F/B534R、B341F/I533R、B338F/B534R 的扩增片段长度在 200 bp 左右.

#### 2.1.2 PCR-RFLP中16S rDNA的PCR扩增

选用 11 对不同通用引物对活性污泥总 DNA 进行 PCR 扩增,其产物通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测.图 2 是 11 对不同引物 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电



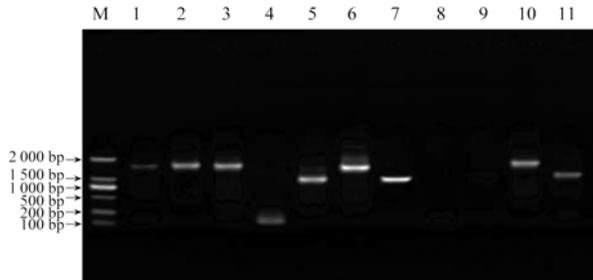
1. B967F/B1046R; 2. B968F/B1401R; 3. B63F/B534R; 4. I341F/B534R; 5. B341F/B534R; 6. B341F/I533R; 7. B338F/B534R; 8. B341F/B926R; M. Marker DL500

图 1 8 对不同引物 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1 Electrophoresis analysis of PCR products with the primers

泳图谱.从中看出,即使最大限度优化 PCR 程序,27f/8f; 1525r 和 A1; A2 仍然没有 PCR 扩增产物;而 27f/8f; 1492r、27f/8f; 1512R、27f/8f; 16sR、63f; 1387r 和 7f; 1540r 扩增产物均有不同程度拖带现象;R16mF2; R16mR1 扩增条带较暗;27f/8f; 1500R、516f; 1510r 和 Nso1225; Eub338 扩增效果较好.其中引物 27f/8f; 1492r、27f/8f; 1500R、27f/8f; 1512R、63f; 1387r、7f; 1540r PCR 扩增产物长度均在 1500 bp 左右,而引物 27f/8f; 16sR、Nso1225; Eub338、R16mF2; R16mR1、516f; 1510r

扩增产物长度均在1 000 bp左右. 所以在 RFLP 污泥群落多样性分析中选用扩增片段较短的 Nso1225; Eub338 以及扩增片段较长的 27f/8f; 1500R 作为引物.



1. 27f/8f; 1492r; 2. 27f/8f; 1500R; 3. 27f/8f; 1512R; 4. 27f/8f; 1525r; 5. 27f/8f; 16sR; 6. 63f; 1387r; 7. Nso1225; Eub338; 8. A1; A2; 9. R16mF2; R16mR1; 10. 7f; 1540r; 11. 516f; 1510r; M. DL2000

图2 11 对不同引物 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 2 Electrophoresis analysis of PCR products with the primers

## 2.2 微生物群落多样性分析

### 2.2.1 微生物群落多样性 DGGE 分析

选用上述 8 对 16S rDNA 通用引物扩增 16S rDNA 不同可变区序列, PCR 扩增产物用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 分离. 图 3 是 8 对不同引物 PCR 扩增产物 DGGE 图谱. 从中可以看出, 同一样品 16S rDNA 不同可变区序列经 DGGE 分析, 其 DGGE 图谱有显著差异, 电泳条带数量不同, 条带信号强弱也有很大差异. DGGE 分离条带多少反映样品中微生物种群多样性, 条带信号强弱程度反映微生物群落结构中每一种群的相对数量<sup>[16,17]</sup>. 由此可见不同引物 PCR 扩增产物 DGGE 图谱反映的微生物群落多样性和种群的相对数量有很大差异. 采用 Gel-Pro analyzer 软件分析图 3 DGGE 图谱, 结果见表 3. 引物 B341F/B534R 和 B338F/B534R PCR 靶区域是 V3 区, 扩增产物 DGGE 图谱条带丰富, 且重复性强.

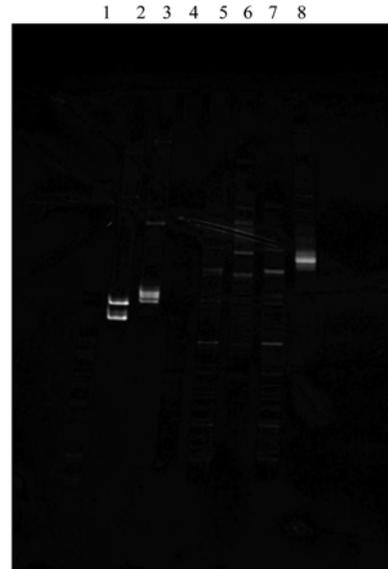
表 3 Gel-Pro analyzer 软件分析污泥 DGGE 图谱结果

Table 3 Results of DGGE analyzed by Gel-Pro analyzer

泳道	1	2	3	4	5	6	7	8
条带数	10	7	10	8	22	17	20	10

### 2.2.2 RFLP 微生物群落多样性分析

选用 27f/8f; 1500R、Nso1225; Eub338 PCR 扩增 16S rDNA 片段, 扩增产物通过内切酶 *Hha* I 和 *Rsa* I 消化, 消化产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳检测, 获得酶切图谱. 图 4、5 是部分酶切结果琼脂糖凝胶电泳图谱.



1. B967F/B1046R; 2. B968F/B1401R; 3. B63F/B534R; 4. I341F/B534R; 5. B341F/B534R; 6. B341F/I533R; 7. B338F/B534R; 8. B341F/B926R

图3 8 对不同引物 PCR 扩增产物 DGGE 图谱

Fig. 3 Electrophoresis analysis of DGGE

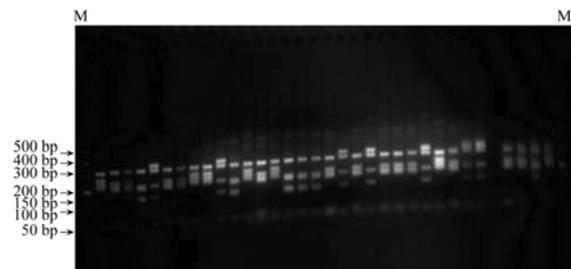


图4 引物 Nso1225; Eub338 扩增后部分酶切结果琼脂糖凝胶电泳检测图谱

Fig. 4 Electrophoresis analysis of 16S rDNA amplified by 63f; 1387r and digested by *Hha* I and *Rsa* I

从图 4 看出, 酶切图谱电泳条带较少, 位置差异性较小. 从图 5 可以看出, 酶切图谱电泳条带丰富, 多态性良好. 酶切图谱中电泳条带数目及位置差异性反映样品中微生物群落多样性. 由此可见, 27f/8f; 1500R 的扩增片段 RFLP 分析效果较好, 能较充分反映群落多样性. 对酶切图谱统计得知, 引物 27f/8f; 1500R、Nso1225; Eub338 扩增 16S rDNA 片段 RFLP 酶切类型 (OTU) 分别是 54 种、13 种. 克隆文库酶切产生的 OUT 比例如图 6、7 所示. 图 6、7 表明, 引物 27f/8f; 1500R、Nso1225; Eub338 扩增的 16S rDNA 克隆文库酶切类型有不同的分布特征. 其中 7 号引物克隆文库单克隆子出现的比例是 15.11%, 而 2 号引物克隆文库单克隆子出现的比例是 59.34%. 说明 2 号引物 PCR 扩增获得的

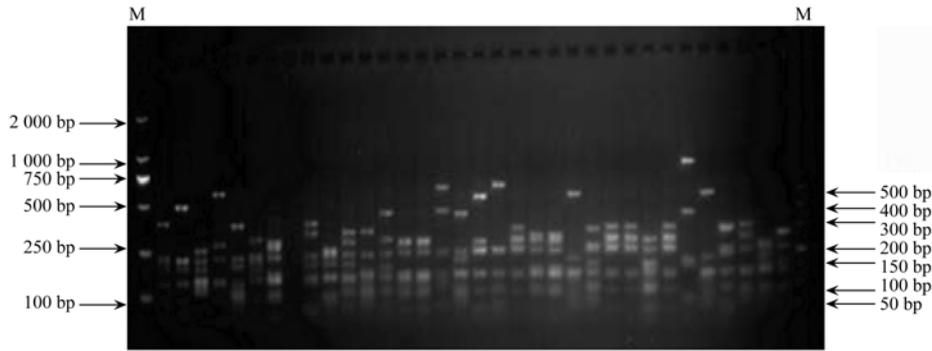


图 5 引物 27f/8f; 1500R 扩增后部分酶切结果琼脂糖凝胶电泳检测图谱

Fig. 5 Electrophoresis analysis of 16S rDNA amplified by 27f/8f; 1500R and digested by Hha I and Rsa I

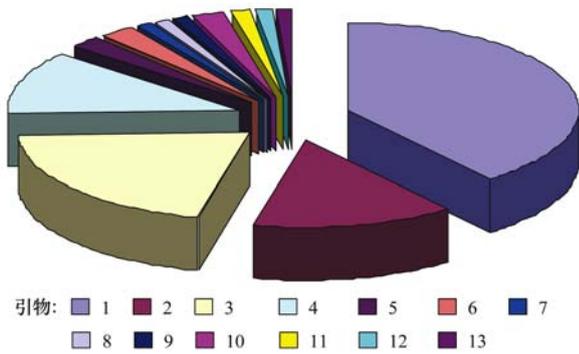


图 6 引物 Nso1225; Eub338 克隆文库酶切产生的 OUT 比例图

Fig. 6 Distributions of OTUs in the activated sludge sample cloning libraries amplified by 63f; 1387r

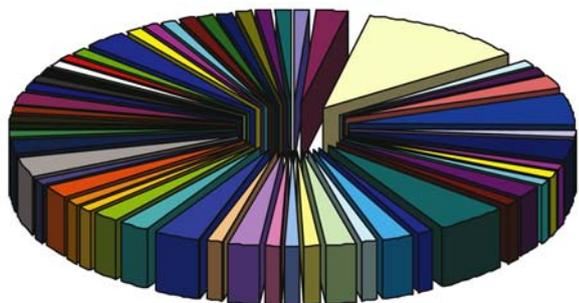


图 7 引物 27f/8f; 1500R 克隆文库酶切产生的 OUT 比例图

Fig. 7 Distributions of OTUs in the activated sludge sample cloning libraries amplified by 27f/8f; 1500R

16S rDNA 片段 RFLP 分析能够更充分反映污泥微生物群落多样性,经过多次实验发现其重复性良好。

### 3 讨论

结合本实验结果和参考文献[16~22]结论可知, DGGE 分析污泥群落多样性时,同一样品采用

16S rDNA 不同可变区进行 DGGE 分析,其分析结果差异显著. RFLP 分析污泥微生物多样性时, PCR 引物的选择是 RFLP 关键的一步,因为引物限制了研究中目的基因和种系发生的特异性<sup>[23]</sup>。

#### 3.1 DGGE 污泥群落多样性分析中引物选择

采用不同引物进行污泥群落 DGGE 分析,其分析结果差异显著. 其中 B341F/B534R (V3 区) 的 DGGE 图谱条带最丰富, B338F/B534R (V3 区) 的 DGGE 图谱条带较丰富, B63F/B534R (V1~V3 区) 的 DGGE 图谱条带最少. DGGE 技术检测核酸序列是通过不同序列的 DNA 片段在各自相应的变性剂浓度下的变性,发生空间构型的变化,导致电泳速度的急剧下降,最后在其相应的变性剂梯度位置停滞,经过染色后可以在凝胶上呈现为分散的条带,该技术可以分辨具有相同大小片段的序列差异,可以检测单一碱基的变化,微生物群落遗传多样性以及 PCR 扩增 DNA 片段的多态性<sup>[24]</sup>. 文献[14]中报道,污泥微生物 16S rDNA 可变区 V3 区差异显著,并且 DGGE 在分离片段大小为 200~500 bp 时效果较好. 常规的 DGGE 电泳技术对于长度超过 500 bp 的 DNA 片段的序列变化情况,只能有 50% 的检出率<sup>[25]</sup>. 这和本实验结果相吻合,所以引物 B341F/B534R、B338F/B534R 扩增获得的 16S rDNA 靶序列更容易分离. 然而 B341F/B534R、B338F/B534R 可变区序列长度约 200 bp 左右,提供的菌种鉴定信息较少,精确度不高,而 B341F/B926R 扩增 16S rDNA 可变区序列长度约 580 bp 左右,系统发育分类信息相对比较丰富. 因此,在实际研究中,如果不需要鉴定污泥群落具体的菌种,可以选用能够产生丰富 DGGE 条带的引物 B338F/B534R; 如果需要研究污泥群落更全面的系统发育分类信息,建议同时进行 B338F/B534R 和 B341F/B926R 的 DGGE 分析。

### 3.2 RFLP 污泥群落多样性分析的引物选择

采用不同引物进行污泥群落 RFLP 分析,其分析结果有显著的差异. Nso1225 和 Eub338 16S rDNA PCR 扩增片段电泳条带均一性和信号强度均较好,但是克隆文库酶切图谱电泳条带较少,克隆文库中单克隆子比例较小,不能充分反映污泥群落多样性. 27f/8f 和 1500R 16S rDNA PCR 扩增片段电泳条带均一性及信号强度相对较好,克隆文库酶切图谱电泳条带丰富,克隆文库中单克隆子比例较大,生态多样性良好,能较好地反映污泥群落多样性. 所以在 RFLP 分析污泥群落多样性时,尽可能选择扩增 16S rDNA 片段较长的引物,有更多的酶切位点,能够更充分地反映群落多样性,同时其包含更丰富的系统发育分类信息,提高菌种鉴定精确度.

无论利用 DGGE 法还是 RFLP 法分析污泥群落多样性,除了受到引物选择的影响之外,还受到 DNA 提取方法、DNA 提取纯度、PCR 扩增体系及条件、电泳条件、染色程度等很多因素的影响. 所以为了获得理想的实验结果,需要协调各方面影响因素,使其都处于最优状态.

## 4 结论

(1)同一样品采用 16S rDNA 不同可变区序列扩增引物进行 DGGE 分析时,其 DGGE 图谱差异显著,其反映的群落多样性有很大差距,因此,选择合适的引物对污泥群落多样性 DGGE 分析至关重要.

(2)污泥样品 16S rDNA 可变区 V3 区分辨率较高,条带较多,但是本实验选择的几对 V3 区引物扩增片段较短,包含有限的遗传信息. 根据研究目的,如果不需要研究详细遗传信息,建议选择扩增 16S rDNA 可变区为 V3 区的 B341F/B534R (V3 区)引物.

(3)RFLP 分析污泥群落多样性, Nso1225 和 Eub338 PCR 扩增效果较好,电泳条带均一性很好,信号强度也较好,但是由于其扩增片段长度约 1 000 bp,其中包含的酶切位点较少,得到的酶切图谱不能充分反映污泥群落多样性. 然而 27f/8f 和 1 500R 扩增片段长度在 1 500 bp 左右,其酶切图谱包含充分的生态多样性信息. 可以作为污泥群落多样性 RFLP 分析的最佳引物选择.

(4)本研究只对 DGGE 及 RFLP 中常见引物效果进行了一次综合实验,根据实验结果,确定了污泥群落多样性 DGGE 分析和 RFLP 分析的最佳引物. 在实际研究和应用中,还需要根据情况做出具体的

修改和调整,保证实验取得最佳效果,能够真实反映实际情况.

### 参考文献:

- [1] 王晓慧,文湘华,丁鹏,等. T-RFLP 方法分析城市污水处理厂中细菌群落的动态变化[J]. 环境科学, 2010, **31**(5): 1307-1312.
- [2] Dias F F, Bhat J V. Microbial ecology of activated sludge I. Dominant Bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1964, **12**(5): 412-417.
- [3] Ward D M, Bateson M M, Weller R, et al. Ribosomal RNA analysis of microorganisms as they occur in nature[J]. Advances in Microbial Ecology, 1992, **12**: 219-286.
- [4] Wayne L G, Brenner D J, Colwell R R, et al. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1987, **37**(4): 463-464.
- [5] Eschenhagen M, Schuppler M, Roske I. Molecular characterization of the microbial community structure in two activated sludge systems for the advanced treatment of domestic effluents[J]. Water Research, 2003, **37**(13): 3224-3232.
- [6] 向少能,陈琳,何晓丽,等. 水体微生物多样性 PCR-DGGE 分析方法的比较研究[J]. 重庆工学院学报(自然科学版), 2007, **21**(7): 74-97.
- [7] Osborn A M, Moore E R B, Tmmis 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.
- [8] Regan J M, Harrington G W, Noguera D R. Ammonia and nitrite-oxidizing bacterial communities in a pilot-scale chloraminated drinking water distribution system[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(1): 73-81.
- [9] Mintie A T, Heichen R S, Cromack K, et al. Ammonia-oxidizing bacteria along meadow-to-forest transects in the oregon cascade mountains [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(6): 3129-3136.
- [10] Park H D, Noguera D R. Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge[J]. Water Research, 2004, **38**(14-15): 3275-3286.
- [11] Bernhard A E, Donn T, Giblin A E, et al. Loss of diversity of ammonia-oxidizing bacteria correlates with increasing salinity in an estuary system [J]. Environmental Microbiology, 2005, **7**(9): 1289-1297.
- [12] Yeager C M, Northup D E, Grow C C, et al. Changes in nitrogen-fixing and ammonia-oxidizing bacterial communities in soil of a mixed conifer forest after wildfire [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(5): 2713-2722.
- [13] Cabezas A, Draper P, Muxi L, et al. Post-treatment of a slaughterhouse wastewater; stability of the microbial community of a sequencing batch reactor operated under oxygen limited conditions[J]. Water Science and Technology, 2006, **54**(2): 215-221.

- [14] Watanabe K, Kodama Y, Harayama S. Design and evaluation of PCR primers to amplify bacterial 16S ribosomal DNA fragments used for community fingerprinting[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, **44**(3): 253-262.
- [15] 沈国, 李茵. 废水处理系统中活性污泥总 DNA 的提取[J]. *环境工程学报*, 2010, **4**(6): 1336-1340.
- [16] Vari F, Bell K. A simplified silver diammine method for the staining of Nucleic Acids in polyacryamide gels [ J ]. *Electrophoresis*, 1996, **17**(1): 20-25.
- [17] 邢德峰, 任南琪, 宋佳秀, 等. 不同 16S rDNA 靶序列对 DGGE 分析活性污泥群落的影响[J]. *环境科学*, 2006, **27**(7): 1424-1428.
- [18] 魏利, 马放, 王欣宇, 等. 基于 16S rDNA 不同靶序列对厌氧 ABR 反应器微生物多样性分析的影响[J]. *环境科学*, 2008, **29**(3): 776-780.
- [19] Dunbar J, Ticknor L O, Kuske C R. Phylogenetic specificity and reproducibility and new method for analysis of terminal restriction fragment profiles of 16S rRNA genes from bacterial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(1): 190-197.
- [20] 邢德峰, 任南琪. 应用 DGGE 研究微生物群落时的常见问题分析[J]. *微生物学通报*, 2006, **46**(2): 331-335.
- [21] Lorbeg P M, Majhenic A C, Rogelj I. Evaluation of different primers for PCR-DGGE analysis of cheese-associated enterococci [J]. *Journal of Dairy Research*, 2009, **76**(3): 265-271.
- [22] Luo P, Hu C Q, Zhang L P, *et al.* Effects of DNA extraction and universal primers on 16S rRNA Gene-based DGGE analysis of a bacterial community from fish farming water[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2007, **25**(3): 310-316.
- [23] 朱国锋, 吴兰, 李思光. RFLP 技术在湖泊微生物多样性研究中的应用[J]. *环境科学与技术*, 2008, **31**(11): 9-12, 17.
- [24] 邢德峰, 任南琪. 应用 DGGE 研究微生物群落时的常见问题分析[J]. *微生物学通报*, 2006, **46**(2): 3313-335.
- [25] Myers R M, Fischer S G, Lerman L S, *et al.* Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis[J]. *Nucleic Acids Research*, 1985, **13**(9): 3131-3145.

## 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 <sub>2.5</sub> 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 <sub>3</sub> , HONO, HCHO and H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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 Jiaying .....	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 (Epiclorohydrin-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 <sub>3</sub> .....	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 <sub>2</sub> 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, ZHANG 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 Jia-wei, <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 <sub>2</sub> 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-minget <i>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-yong, <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 <sup>2+</sup> 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