

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第6期

Vol.35 No.6

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京地区冬夏季持续性雾-霾发生的环境气象条件对比分析·····	廖晓农, 张小玲, 王迎春, 刘伟东, 杜佳, 赵玲慧 (2031)
阜康大气气溶胶中水溶性无机离子粒径分布特征研究·····	苗红妍, 温天雪, 王跃思, 刘子锐, 王丽, 兰中东 (2045)
上海地铁站台大气颗粒物中过渡金属研究·····	包良满, 雷前涛, 谈明光, 李晓林, 张桂林, 刘卫, 李燕 (2052)
七一冰川地区苔藓中重金属元素含量研究·····	马娟娟, 李真 (2060)
冬季东海、南黄海中 DMS 和 DMSP 浓度分布及影响因素研究·····	宋以柱, 张洪海, 杨桂朋 (2067)
大亚湾石化排污海域重金属污染及生态风险评价·····	徐姗姗, 李纯厚, 徐娇娇, 肖雅元, 林琳, 黄小平 (2075)
深圳水库群表层水中全氟化合物的分布特征·····	王鑫璇, 张鸿, 何龙, 沈金灿, 柴之芳, 杨波, 王艳萍 (2085)
表层岩溶泉水中多环芳烃污染特征及来源解析·····	孙玉川, 沈立成, 袁道先 (2091)
桂江主要离子及溶解无机碳的生物地球化学过程·····	唐文魁, 陶贞, 高全洲, 毛海若, 姜光辉, 焦树林, 郑雄波, 张乾柱, 马赞文 (2099)
汾河源区不同景观带水文过程研究·····	杨永刚, 李彩梅, 秦作栋, 邹松兵 (2108)
北京市通州区地下水分层质量评价及水化学特征·····	郭高轩, 琚宜文, 翟航, 许亮, 沈媛媛, 纪轶群 (2114)
光透法定量两相流中流体饱和度的模型及其应用·····	章艳红, 叶淑君, 吴吉春 (2120)
紫色土坡耕地氮淋溶过程及其环境健康效应·····	陈维梁, 高扬, 林勇明, 朱波, 徐亚娟, 于贵瑞, 吴承祯 (2129)
基于非点源溶解态氮负荷估算的率水流域土地利用结构优化研究·····	陆宇超, 毕孟飞, 李泽利, 沙健, 王玉秋, 钱丽萍 (2139)
镇江老城区古运河沉积物氮及有机质垂向分布及污染评价·····	周晓红, 李义敏, 周艺, 卫安平, 周广顺, 肖思思 (2148)
两种沉水植物对上覆水和间隙水中可溶性无机氮的影响·····	杨文斌, 李阳, 孙共献 (2156)
湖泊沉积物短时间反复扰动下悬浮物上生物有效磷的动态变化·····	武晓飞, 李大鹏 (2164)
不同扰动强度下城市重污染河道底泥对磷吸收和固定的影响·····	王尚, 李大鹏 (2171)
池塘残饵对底泥氮、磷释放影响的模拟研究·····	吕元蛟, 李瑞娇, 张念, 赵峰, 谢从新, 张敏 (2178)
再悬浮过程中河流底泥 PAHs 的迁移与释放·····	王晓慧, 毕春娟, 韩景超 (2185)
低分子有机酸对汞氧化还原反应的影响·····	赵士波, 孙荣国, 王定勇, 王小文, 张成 (2193)
活性炭催化过氧化氢去除荧光增白剂·····	刘海龙, 张忠民, 赵霞, 焦茹媛 (2201)
准分子灯光照降解水中烷基酚的动力学·····	刘玉海, 叶招莲, 文颖频, 毕承路 (2209)
AF + BAF 用于处理树脂化工集中区废水厂尾水的研究·····	涂勇, 刘伟京, 张耀辉, 徐军, 唐敏, 陈勇, 白永刚 (2216)
镉(II)-8-羟基喹啉分子印迹聚合物微球的合成及吸附性能研究·····	杨春艳, 陈复彬, 赵慧, 常自强, 章竹君 (2223)
微气泡曝气生物膜反应器同步硝化反硝化研究·····	刘春, 年永嘉, 张静, 张明, 张磊, 龚鹏飞, 肖太民, 李星 (2230)
聚乳酸/淀粉固体缓释碳源生物反硝化研究·····	唐丹琦, 王娟, 郑天龙, 刘建国, 汪群慧 (2236)
丝状菌膨胀对无纺布生物反应器处理效果及膜污染特征的影响·····	侍宽, 薛罡, 高品, 吴凡 (2241)
聚合氯化铝去除污泥水中磷的工艺优化·····	周振, 胡大龙, 乔卫敏, 陈冠翰, 蒋玲燕, 李震, 麦穗海 (2249)
鄱阳湖持久性有机污染物 (POPs) 长距离传输潜力模拟·····	弓晓峰, 向洪锐, 陈春丽, 周文斌, 王佳佳, 刘春英, 曾艳 (2256)
基于不确定性分析的垃圾焚烧烟气中重金属的土壤沉积及生态风险评估·····	廖志恒, 孙家仁, 吴兑, 范绍佳, 任明忠, 吕家扬 (2264)
农药企业场地土壤中苯系物污染风险及管理对策·····	谭冰, 王铁宇, 李奇峰, 张海燕, 庞博, 朱朝云, 王道涵, 吕永龙 (2272)
渤海湾海域 10 种鱼类中二噁英类及指示性多氯联苯的污染特征研究及风险评价·····	王莎莎, 高丽荣, 田益玲, 朱帅, 张芹 (2281)
基于荧光传感器 Frex 的特性检测水质环境中生物毒性物质·····	赵巍, 汪钊, 蔡强, 欧文斌, 孟凡国 (2287)
对苯二酚抑制铜绿微囊藻生长下藻毒素的产生与释放·····	张元春, 梁文艳, 赵远, 李飞贞, 曹敬灿, 胡绍杰 (2294)
基于沼液的培养基及产油小球藻藻种选育·····	赵凤敏, 梅帅, 曹有福, 丁进锋, 徐嘉杰, 李树君 (2300)
酸性矿山废水库周边土壤微生物多样性及氨氧化菌群落研究·····	刘莹, 王丽华, 郝春博, 李璐, 李思远, 冯传平 (2305)
河蚬 (<i>Corbicula fluminea</i>) 扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度的影响·····	王雪, 赵大勇, 曾巾, 余多慰, 吴庆龙 (2314)
海洋油气田沉积物产甲烷活性及微生物生态·····	田琪, 王佳, 范晓蕾, 罗生军, 郭荣波, 邱艳玲 (2322)
DGGE 及 T-RFLP 分析光照下电位对细菌群落的影响·····	吴义诚, 邓欢, 肖勇, 赵峰 (2328)
重金属抗性解磷细菌的磷溶解特性研究·····	田江, 彭霞薇, 李霞, 孙雅君, 冯红梅, 江泽平 (2334)
1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性·····	王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 许培雅 (2341)
黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响·····	江玲, 杨芸, 徐卫红, 王崇力, 陈蓉, 熊仕娟, 谢文文, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (2349)
黄河三角洲区土壤活性氮对盐分含量的响应·····	李玲, 仇少君, 陈印平, 赵西梅, 刘京涛, 陆兆华 (2358)
宁南山区不同草地土壤原位矿化过程中氮素的变化特征·····	蒋跃利, 赵彤, 闫浩, 黄懿梅 (2365)
长期施用四环素残留猪粪对土壤中耐药菌及抗性基因形成的影响·····	张俊, 杨晓洪, 葛峰, 王娜, 焦少俊, 叶波平 (2374)
长期不同耕作方式对紫色水稻土重金属含量及有效性的影响·····	常同举, 崔孝强, 阮震, 赵秀兰 (2381)
伊犁河流域土壤重金属环境地球化学基线研究及污染评价·····	赵新儒, 特拉津·那斯尔, 程永毅, 詹江渝, 杨剑虹 (2392)
江苏如东互花米草盐沼湿地重金属分布及其污染评价·····	张龙辉, 杜永芬, 王丹丹, 高抒, 高文华 (2401)
小流域农业面源氮污染时空特征及与土壤呼吸硝化关系分析·····	欧阳威, 蔡冠清, 黄浩波, 耿晓君 (2411)
保护性耕作下小麦田土壤呼吸及碳平衡研究·····	张赛, 王龙昌, 黄召存, 贾会娟, 冉春燕 (2419)
米楮天然林和人工林土壤呼吸的比较研究·····	吴君君, 杨智杰, 翁发进, 刘小飞, 陈朝琪, 林伟盛, 王小红, 陈坦 (2426)
水力停留时间对复合式厌氧折流板反应器乙醇型发酵制氢系统的影响·····	刘晓桦, 张洪, 李永峰 (2433)
《环境科学》征订启事 (2208)	
《环境科学》征稿简则 (2400)	
信息 (2084, 2200, 2229, 2391)	

河蚬 (*Corbicula fluminea*) 扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度的影响

王雪^{1,2}, 赵大勇³, 曾巾^{2*}, 余多慰^{1*}, 吴庆龙²

(1. 南京师范大学生命科学学院, 南京 210046; 2. 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; 3. 河海大学水文水资源学院, 南京 210098)

摘要: 为研究不同生物量河蚬 (*Corbicula fluminea*) 的生物扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度的影响, 本研究设计了沉积物-水微宇宙的模拟体系, 通过构建克隆文库、实时荧光定量 PCR (real-time qPCR) 等分子生物学方法比较不同密度河蚬扰动的沉积物中氨氧化古菌 (ammonia-oxidizing archaea, AOA) 和氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 群落结构和丰度差异。结果表明, 河蚬的生物扰动作用对表层沉积物氮素释放有明显的促进作用。氨氧化菌 (AOA 和 AOB) *amoA* 基因克隆文库中, AOA 的 *amoA* 基因序列包含了已知的海洋和土壤环境中的两个分支, AOB 的 *amoA* 基因绝大部分序列都属于变形菌门 β 亚纲 (β -Proteobacteria) 中的亚硝化单细胞菌属 (*Nitrosomonas*)。3 个处理组表层沉积物中细菌 *amoA* 基因丰度均高于古菌 *amoA* 基因丰度, 且河蚬密度越高则细菌 *amoA* 的丰度越低。同时, 河蚬的添加使得微宇宙体系中氨氧化菌 (AOA 和 AOB) 的多样性降低。综上, 河蚬的生物扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度产生了一定的影响。

关键词: 河蚬; 生物扰动; 氨氧化细菌; 氨氧化古菌; 群落结构和丰度

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)06-2314-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.2014.06.038

Effects of *Corbicula fluminea* Bioturbation on the Community Composition and Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Surface Sediments

WANG Xue^{1,2}, ZHAO Da-yong³, ZENG Jin², YU Duo-wei¹, WU Qing-long²

(1. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China; 2. State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3. College of Hydrology and Water Resources, Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract: To better understand the effects of *Corbicula fluminea* bioturbation on the ammonia-oxidizing microorganisms in the surface sediment, sediment-water microcosms with different densities of *Corbicula fluminea* were constructed. Clone libraries and real-time qPCR were applied to analyze the community composition and abundance of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB) in the surface sediments. The results obtained indicated that the bioturbation of *Corbicula fluminea* accelerated the release of nitrogen from the surface sediment. In the *amoA* gene clone libraries, the identified AOA *amoA* gene sequences affiliated with the two known clusters (marine and soil clusters). The identified AOB *amoA* gene sequences mostly belonged to the *Nitrosomonas* of β -Proteobacteria. The abundance of the bacterial *amoA* gene was higher than that of the archaeal *amoA* gene in all treatments. With increasing density of *Corbicula fluminea*, decreased abundances of the bacterial *amoA* gene were observed. At the same time, the diversity of AOA and AOB reduced in the *Corbicula fluminea* containing microcosms. In conclusion, the bioturbation of *Corbicula fluminea* could affected the community composition and abundance of ammonia-oxidizing microorganisms in surface sediments.

Key words: *Corbicula fluminea*; bioturbation; ammonia-oxidizing bacteria; ammonia-oxidizing archaea; community composition and abundance

氮素是影响湖泊富营养化的关键元素之一, 氮素的生物地球化学循环在湖泊营养盐循环中占有重要地位^[1]。硝化作用 ($\text{NH}_3 \longrightarrow \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^-$) 是氮循环过程的关键步骤, 而氨氧化过程 ($\text{NH}_3 \longrightarrow \text{NO}_2^-$) 是硝化作用的限速步骤^[2]。微生物是氮循环的驱动者, 氨氧化微生物的群落结构、丰度和活性将直接或间接地影响生态系统中的氨氧化过程^[3]。2005 年, Könnike 等分离到 1 株以氨为单一能源自养生长的泉古菌, 证实氨氧化古菌 (ammonia-

oxidizing archaea, AOA) 和氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 一样, 也可以进行氨氧化, 一些对河口沉积物^[4]、水生植物根系^[5]和湖泊沉积物^[6]等生境的研究表明, 硝化过程与 AOA 高度相

收稿日期: 2013-10-18; 修订日期: 2013-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41101052); 江苏省自然科学基金项目 (BK2011876)

作者简介: 王雪 (1987 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为湖泊微生物生态与元素循环, E-mail: snownina@sina.cn

* 通讯联系人, E-mail: jzeng@niglas.ac.cn; yuduowei@njnu.edu.cn

关. 氨氧化菌在全球具有很广的生态位, 总体上看, 近年来对氨氧化菌(AOA 和 AOB) 分子生态学的研究还主要集中于土壤和海洋环境^[7]. 另外, Coci 等^[8] 研究盐度对氨氧化细菌群落的影响; Herrmann 等^[9] 研究水生植物根系对氨氧化菌群落结构与丰度的影响. 相比较而言, 淡水湖泊生态系统中氨氧化菌(特别是 AOA) 的群落结构、丰度及活性的研究还比较缺乏, 对其生态学功能仍需进一步探索.

在湖泊生态系统中, 底栖动物主要是通过掘穴、沉积物再构造^[10]、生物搬运^[11]、摄食^[12]、排泄^[13]和分泌^[14]等生命活动改变表层沉积物的理化性质, 使得沉积物孔隙率和含水率升高, 增加溶解氧在沉积物中的渗透深度^[15], 增大水土界面面积, 增加溶解态物质的交换通量, 促进氨氮向上覆水中的扩散^[16], 为氨氧化菌的生长和代谢提供了更多适宜的微环境, 也为氨氧化过程提供了更多的电子受体. 底栖动物的活动会通过影响氨氧化微生物的群落组成和活性, 最终影响氨氧化过程^[17]. 太湖是我国第三大淡水湖, 也是我国富营养化较为严重的湖泊. 太湖底栖动物群落结构和多样性研究表明: 河蚬(*Corbicula fluminea*) 在太湖贡湖湾等富营养化严重的湖区占绝对优势^[18]. 河蚬为瓣鳃纲双壳类软体动物, 其能在几分钟内用斧状足挖掘沉积物进而将全部躯体钻入栖息, 这种掘穴方式会对沉积物表面造成强烈的破坏和扰动^[19]. 它们既滤食上覆水中的浮游生物和有机碎屑, 也摄食沉积物中底栖藻类和有机碎屑等^[20]. 这种特有的生活习性, 会对湖泊沉积物的理化性质产生重要的影响, 继而可能会影响氨氧化过程. 由于受到技术手段的限制, 目前, 国内外尚未有从微生物学角度探讨不同密度河蚬扰动对沉积物中氨氧化菌影响的研究报道, 因而亟待研究探索.

基于以上研究现状, 本研究通过构建湖泊沉积物-水微宇宙实验系统, 运用克隆建库、实时荧光定量 PCR 等分子生物学方法, 模拟分析了不同密度河蚬生物扰动对太湖沉积物中氨氧化微生物群落结构和多样性的影响.

1 材料与方法

1.1 野外采样与室内培养体系构建

在太湖富营养化较重且河蚬生物量较大的西岸大浦口湖区(31°18'12.10"N, 119°56'17.77"E) 用彼得森采泥器采集沉积物^[21], 收集河蚬. 水和沉积物样品在采集后立刻运回实验室, 河蚬放在包含沉积

物与湖水的水槽内暂养. 用 250 μm 筛网去除较大颗粒物. 湖水经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤、备用.

将过筛后混匀的沉积物移入聚乙烯玻璃柱中(沉积物深度 12 cm), 且沉积物部分用锡箔纸包住, 利用输液器向每根玻璃柱引入 10 cm 深的湖水. 将构建好的体系放在室温下稳定一周. 按照上述方法构建得到 12 个湖泊微宇宙模拟体系, 分以下 4 种不同方式处理: ①对照组(无河蚬); ②低密度河蚬组; ③中密度河蚬组; ④高密度河蚬组, 每组处理设 3 个平行样(表 1). 选取壳长、壳宽、壳高及体重相当且活性较强的河蚬放在已稳定的体系中, 于 25℃ 培养箱中培养, 待所有的河蚬钻入沉积物后, 设定光暗比为 12 h: 12 h, 每隔 2 d 测定理化指标: 溶解氧(dissolved oxygen, DO)、氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP) 和 pH.

表 1 不同处理组所投加河蚬的生物量

Table 1 Biomass of the <i>C. fluminea</i> added in different treatments		
处理组	每管投加河蚬/ind	河蚬密度/ind·m ⁻²
对照组	0	0
低密度组	4	200
中密度组	10	500
高密度组	20	1 000

1.2 样品采集

实验持续 60 d, 分别在实验开始的第 10、20、40、60 d 采集沉积物样品. 每次采样前取出原管中河蚬总量的约四分之一. 用内径为 1 cm 的 PVC 管采集表层 0~1 cm 的沉积物, 每次采样每个微宇宙体系取 3 根管子, 并将同一处理组的 3 个平行样沉积物混合在一起, 进行后续分析.

1.3 化学分析

沉积物样品分析前用真空冷冻干燥机(ALPHA1-2; 德国 CHRIST) 冻干. 沉积物中总氮与总磷用碱性过硫酸钾进行消解, NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 采用 2 mol·L⁻¹ KCl 进行提取. 消解和提取液样品用流动注射仪(San⁺⁺, SKALAR, Netherlands) 进行测定. 理化指标的组间差异用 SPSS 17.0 软件进行比较.

1.4 构建克隆文库

1.4.1 样品总 DNA 的提取

取 0.25 g 冻干后的沉积物样品, 利用 DNA 提取试剂盒(Power Soil DNA Isolation Kit, Mobio, USA) 提取样品总 DNA. 采用 DNA 纯化试剂盒 PowerCleanTM DNA Clean-Up Kit(MoBio Laboratories,

Carlsbad, CA, USA) 对所提 DNA 进行纯化. 采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测所提取的 DNA 样品, 保存于 -20℃ 冰箱中.

1.4.2 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因片段的 PCR 扩增
分别应用 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因片段特异性引物^[22, 23], 对之前所提的总 DNA 进行 PCR 扩增 (表 2).

表 2 AOA 与 AOB 的扩增引物序列

Table 2 Primer sequences of archaeal and bacterial <i>amoA</i> genes		
扩增类群	引物名称	引物序列
AOA	CrenamoA23f	5'-ATGGTCTGGCTWAGACG-3'
	CrenamoA616r	5'-GCCATCCABCKRTANGTCCA-3'
AOB	amoA-1F	5'-GGGGTTTCTACTGTTGGT-3'
	amoA-2R	5'-CCCCTCKGSAAGCCTTCTTC-3'

扩增 AOA 的 PCR 反应体系为 25 μL: 10 × buffer 2.5 μL, dNTP 2.5 μL, 正反向引物各 0.5 μL, *Taq* 酶 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 用 ddH₂O 补足至 25 μL. AOA 的 PCR 扩增程序: 95℃, 5 min; 10 × (94℃, 30 s; 58℃, 30 s; 72℃, 60s); 30 × (92℃, 30 s; 57℃, 30 s; 72℃, 60 s); 72℃, 10 min. AOB 的 PCR 反应体系为 25 μL: 10 × buffer 2.5 μL, dNTP 2 μL, 正反向引物各 1 μL, *Taq* 酶 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 用 ddH₂O 补足至 25 μL. AOB 的 PCR 扩增程序: 94℃, 5 min; 94℃, 30 s; 52℃, 30 s; 72℃, 1 min, 32 个循环; 72℃ 最终延伸 7 min.

氨氧化菌 (AOA 和 AOB) *amoA* 基因 PCR 产物均用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, Gold view (0.5 μg·mL⁻¹) 染色后, 在凝胶成像仪拍照.

1.4.3 克隆文库构建和测序

对获得的 PCR 产物进行 TA 克隆. PCR 扩增产物用 Promega Agarose Gel DNA (Promega, Madison, WI) 纯化试剂盒进行切胶纯化, 回收的 PCR 产物与 pGEM-Teasy 载体 (Promega, Madison, WI) 连接, 转入 *Takara* 感受态细胞 (DH5α), 最后进行蓝白斑筛选. 对选取的白色克隆子进行 PCR 扩增, 以鉴定阳性克隆, 所用引物为载体通用引物 T7、SP6. 挑选阳性克隆送上海美吉生物公司测序. 应用 DNASTAR 软件对测序结果进行编辑, 去除载体序列后用 BLAST 在 GenBank 数据库中搜索相似序列, 并用 ClustalX 软件与数据库中的相关的 *amoA* 功能基因序列进行多重序列比对, 使用 MEGA (molecular evolutionary genetics analysis) 4.1 软件以邻接法 (Neighbor-Joining) 构建系统发育树.

本研究中获得古菌和细菌 *amoA* 基因已上传

到 GenBank 数据库, 古菌 *amoA* 基因序列: 登录号 KF767121-KF767238. 细菌 *amoA* 基因序列: 登录号 KC549811-KC549909; KF767239- KF767273.

1.5 实时荧光定量 PCR 技术

1.5.1 质粒 DNA 提取

分别克隆古菌和细菌的 *amoA* 基因, 挑取单菌落培养, 取单克隆菌液采用 Axygen 质粒小量制备试剂盒提取质粒. 在 Eppendorf 核酸蛋白测定仪 (BioPhotometer plus) 上测定质粒 DNA 浓度, 通过 10 倍稀释法分别将质粒 DNA 稀释成一系列的浓度梯度, 用于进行定量 PCR 时标准曲线的建立.

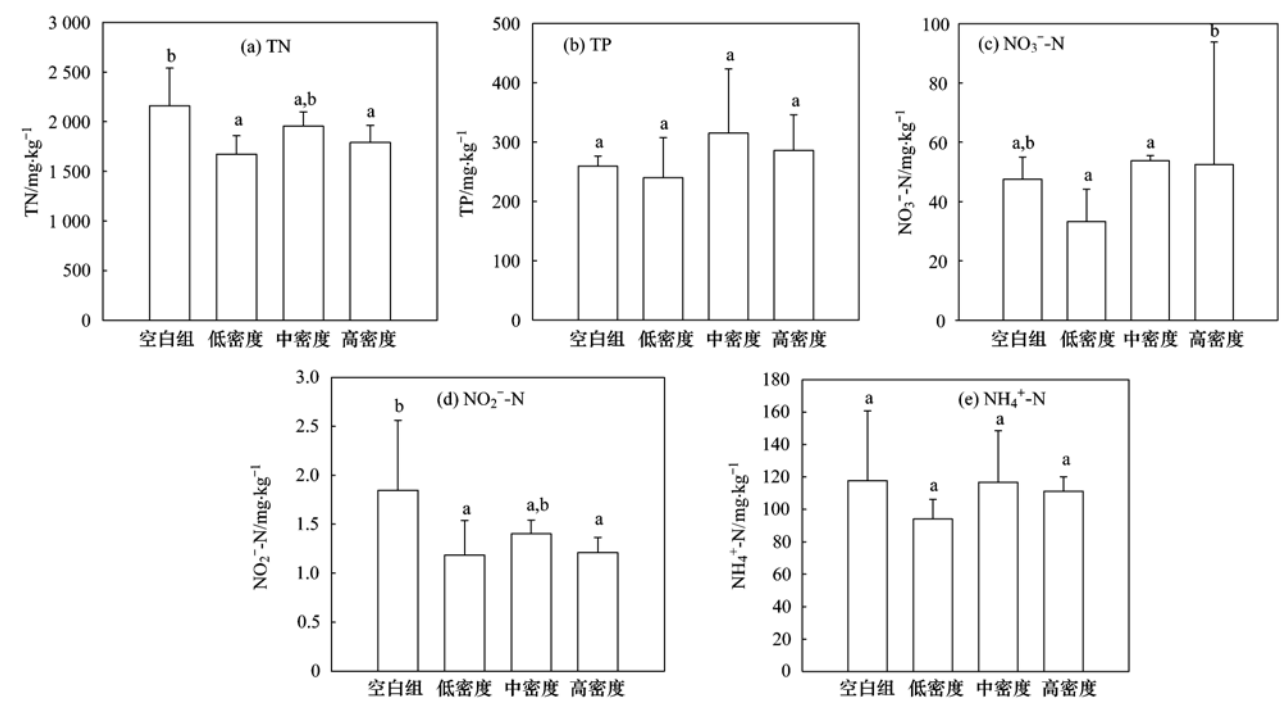
1.5.2 实时荧光定量 PCR

采用实时荧光定量 PCR (real-time qPCR) 方法分别对 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因进行定量分析, 其定量均采用 SYBR Green 法. 实验中设置阴性对照, 每个样品做 3 个平行, 同时以梯度稀释的质粒 DNA 和样品 DNA 进行定量 PCR 反应. AOA、AOB 定量所用引物参见上述普通 PCR 扩增. 扩增体系均为 20 μL: SYBR Green Premix (Takara, 大连) 10 μL, 浓度为 10 pmol 的 AOA 和 AOB 正反向引物各 0.8 μL, DNA 模板 1 μL, 用 ddH₂O 补足至 20 μL. 采用 IQ5 Thermocycler 扩增仪 (RG65HD, Corbett, Australia) 进行定量 PCR. AOA 和 AOB 定量 PCR 扩增程序如下: 95℃ 预变性 3 min; (95℃ 变性 30 s, 53℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 20 s) 共 40 个循环; 最终在 72℃ 延伸 10 min. 要求 *amoA* 基因的扩增效率为 0.95 ~ 1.05; 可决系数 R^2 大于 0.98, 溶解曲线为单一峰.

2 结果与讨论

2.1 不同处理组沉积物样品的理化指标

从图 1 中的数据可以看出, 河蚬处理组沉积物的总氮低于对照组, 这表明河蚬的生物扰动作用对表层沉积物中氮素的释放有明显的促进作用. 3 个处理组的亚硝态氮浓度比对照组低, 河蚬的扰动行为明显地促进了亚硝态氮向上覆水的释放. 低密度的河蚬扰动能明显增加氨氮和硝氮向上覆水方向的释放. 这些结果表明适量的河蚬生物扰动有利于促进沉积物-水界面无机氮交换. 陈振楼等^[19] 通过探讨双壳类底栖动物河蚬对长江口潮滩沉积物-水界面无机氮交换的影响, 发现界面附近河蚬的扰动和喷灌活动改变了沉积物中无机氮的垂直剖面特征. Mermillod-Blondin 等^[24] 探讨鸟蛤 (*Cerastoderma edule*)、日本旋卷螺赢蛭 (*Corophium volutator*)、沙



柱状图上的不同字母代表不同组之间存在显著性差异, $P < 0.05$

图1 不同处理组沉积物中营养盐浓度

Fig. 1 Nutrient concentrations in the sediments of different treatments

蚕(*Nereis diversicolor*)这3种底栖动物扰动对海洋的水-沉积物界面的物理、化学和生物性质的影响,认为日本旋卷螺赢蛭和沙蚕这两个物种通过制造洞穴,改变沉积物的物理结构,增加了氧气的消耗、铵的释放.河蚬扰动行为影响无机氮在沉积物-水界面的迁移究竟与溶氧量、沉积物孔隙率和含水率、底物氮的可利用性等哪些因素有关尚待进一步研究.

2.2 氨氧化菌(AOA 和 AOB)的多样性

利用 DOTUR 软件对沉积物中 AOA 和 AOB 的多样性进行分析,将相似性为 95% 以上的序列分为一个 OTU. 为了进行多样性比较,本研究统计了克隆文库的 Shannon 指数(H)和 S_{Chao1} 这 2 个系数(表 3、表 4).

表 3 氨氧化古菌 *amoA* 的多样性分析

Table 3 Diversity of archaeal <i>amoA</i> sequences				
文库名称	克隆数	OTU 数	S_{Chao1}	H
对照组	34	6	12	1.064 3
低密度组	27	4	5	0.864 4
中密度组	29	1	1	0
高密度组	28	2	2	0.340 5

通过对氨氧化古菌 *amoA* 基因克隆建库分析可见(表 3),处理组的 OTU 数目、多样性指数 Shannon-Wiener(H)和 S_{Chao1} 数值都低于对照组,表明处理组的氨氧化古菌群落结构、多样性比对照组单一,集中在少数几个类群.同时,中密度处理组氨

氧化古菌群落结构、多样性比其他两个处理组要单一,表明适量的河蚬扰动能给某些氨氧化古菌类群提供很好的生态位.

通过对氨氧化细菌 *amoA* 基因克隆建库分析(表 4),处理组的 OTU 数目、多样性指数 Shannon-Wiener(H)和 S_{Chao1} 数值都低于对照组,这与氨氧化古菌结果类似,表明处理组的氨氧化细菌群落结构、多样性比对照组单一,低密度处理组的河蚬扰动可能为某些氨氧化细菌类群提供适合的生态位.上述结果说明,河蚬的添加会使得微宇宙体系中氨氧化菌(AOB 和 AOA)的多样性降低.

表 4 氨氧化细菌 *amoA* 基因的多样性分析

Table 4 Diversity of bacterial <i>amoA</i> gene sequences				
文库名称	克隆数	OTU 数	S_{Chao1}	H
对照组	35	11	21.5	1.615 6
低密度组	30	5	6.5	0.672 6
中密度组	35	8	10	1.257 2
高密度组	34	7	10	1.079 2

2.3 荧光定量 PCR 分析

采用实时荧光定量 PCR 技术,对 3 个处理组的表层沉积物样品进行 AOA 和 AOB 的定量 PCR 分析,结果见图 2. 从中可知,3 个处理组表层沉积物中 AOB *amoA* 基因的丰度均高于 AOA,这与已有的研究结果一致.如 Caffrey 等^[25]在 Weeks 海湾河口、

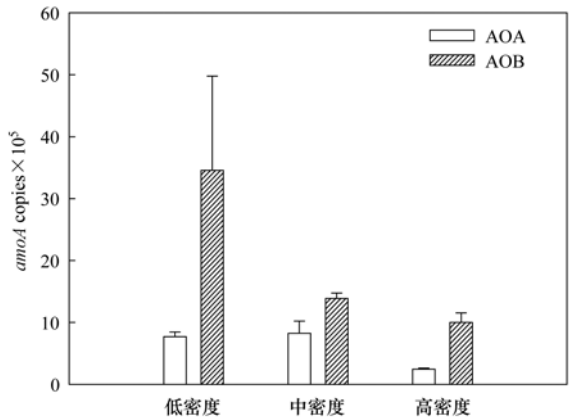


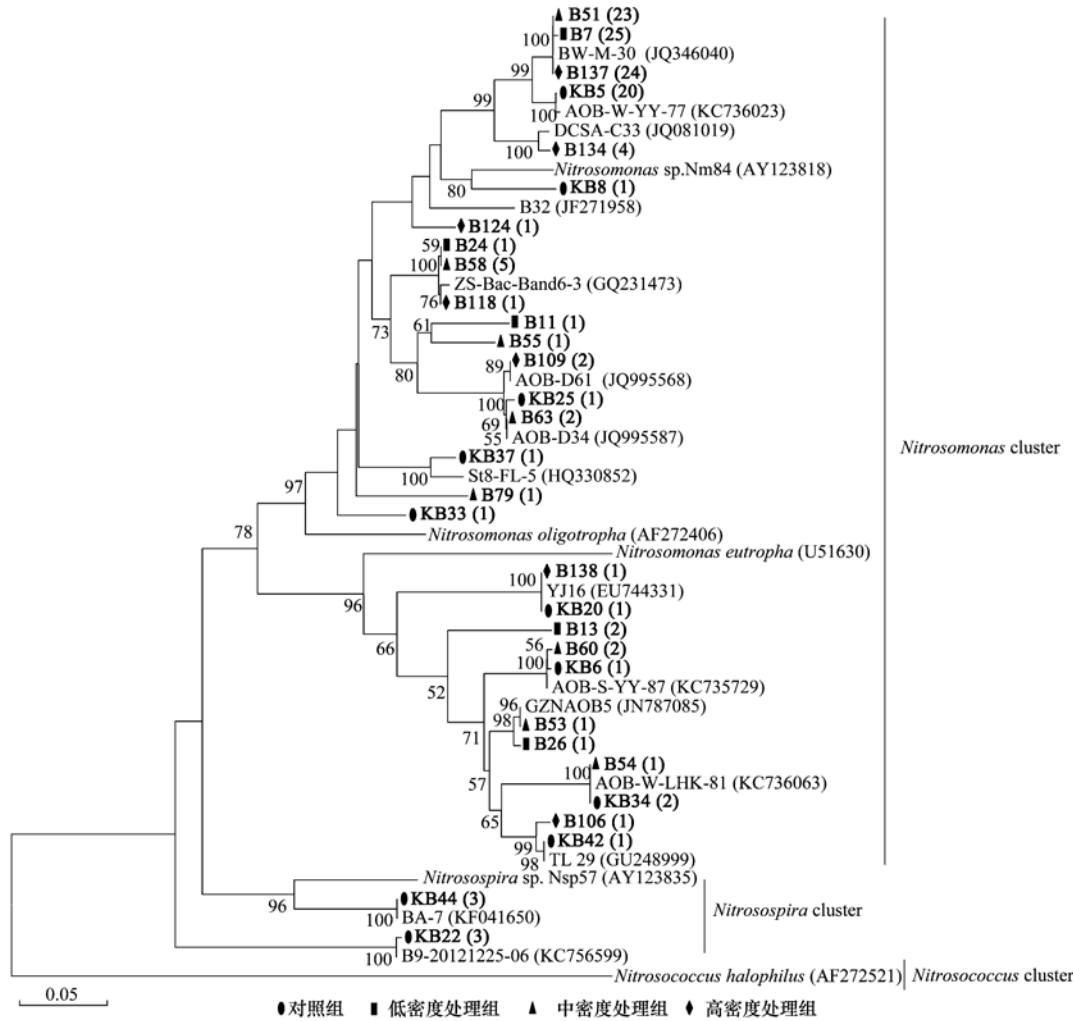
图2 不同处理组的氨氧化古菌 (ammonia-oxidizing archaea, AOA) 和氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) *amoA* 基因丰度

Fig. 2 Abundance of bacterial and archaeal *amoA* genes in the sediments of different treatments

Jiang 等^[26] 在中国青海湖沉积物中发现多数样品中 AOB 的 *amoA* 基因拷贝数略高于 AOA 的 *amoA* 基因拷贝数. 但是, 也有相反的研究报道: 在土壤^[27]、海洋^[28] 和淡水湖等环境中普遍发现 AOA 的 *amoA* 拷贝数比 AOB 的要高得多. Martens-Habbena 等^[29] 研究泉古菌 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1 的氨氧化动力学, 发现 AOA 在与其它微生物竞争底物时占有绝对的优势, 图 2 显示河蚬密度越高则氨氧化细菌的 *amoA* 基因丰度越低, 氨氧化古菌的基因丰度在中密度最高, 推测河蚬的扰动行为可能改变了表层沉积物的氨氮浓度, AOA 更适应中密度的河蚬扰动环境. 上述结果表明, 河蚬的扰动行为对氨氧化菌 *amoA* 基因丰度产生了一定影响.

2.4 系统进化树分析

图3和图4为分别将沉积物中氨氧化细菌和氨氧



对照组、处理组; 括号内数字为属同一 OTU 的序列数

图3 不同处理组中细菌 *amoA* 基因序列的系统发育分析

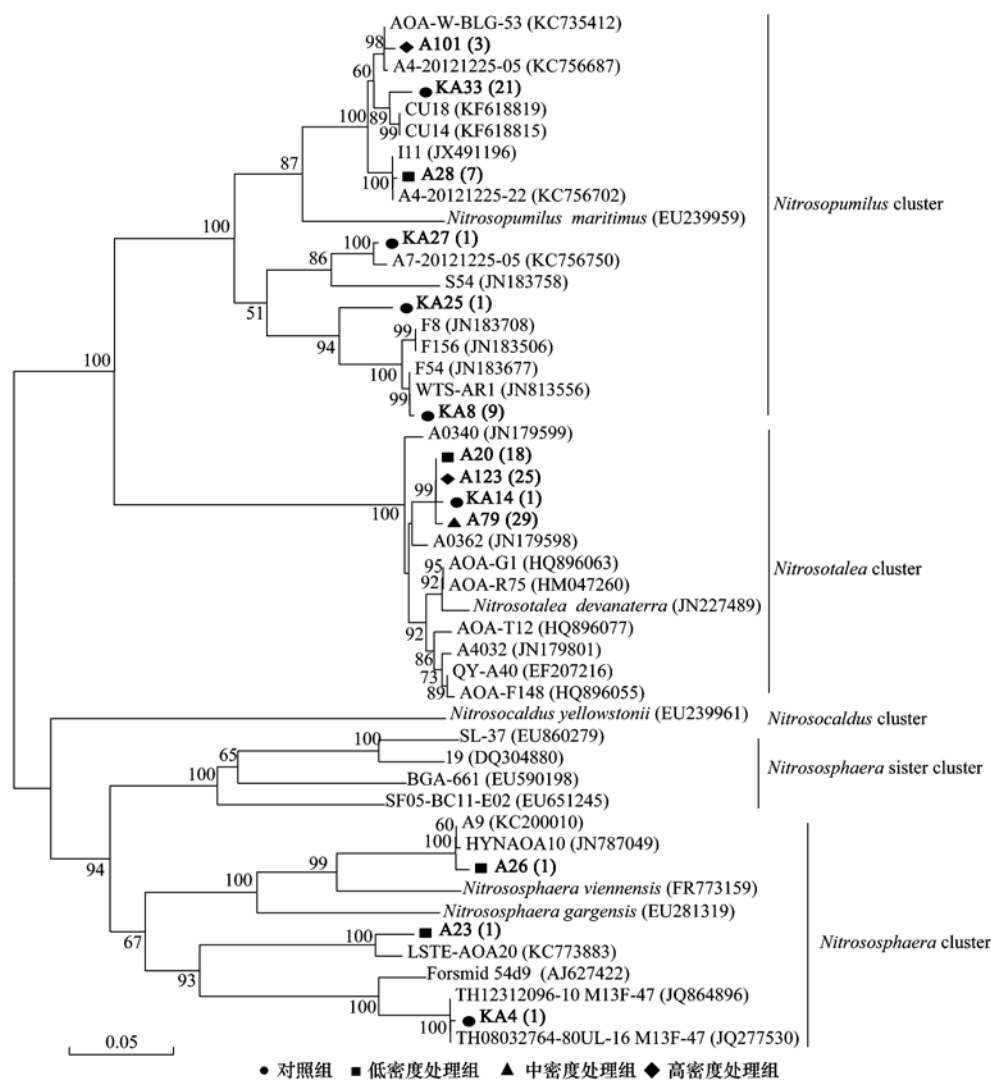
Fig. 3 Phylogenetic analysis of bacterial *amoA* gene sequences of different sediments

化古菌的 *amoA* 基因序列的 OTU 代表序列与 GenBank 中的相关序列进行系统发育树分析。

低密度处理组的氨氧化古菌的 *amoA* 基因序列与之前报道的从西雅图海洋水族馆中成功分离的海洋氨氧化古菌株 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1 的相似性较高^[30]。中密度处理组的氨氧化古菌 *amoA* 基因序列均属于 *Nitrosotalea* 类群。高密度处理组的氨氧化古菌的 *amoA* 基因序列分属于 *Nitrosopumilus* 和 *Nitrosotalea* 两个类群。通过相对丰度分析比较 (图 5), 对照组和低密度处理组包含了 *Nitrosopumilus*、*Nitrosotalea* 和 *Nitrososphaera* 这 3 个氨氧化古菌类群, *Nitrosopumilus* 类群在对照组占比例很高, 随着河蚬扰动剧烈程度的提高, 其所占比例越来越小, 直至高密度河蚬扰动其相对丰度又出现增加, 而中密度处理组只有 *Nitrosotalea* 一个类群,

表明适量的河蚬扰动适合 *Nitrosotalea* 种群, 这符合 Erguder 等^[31]提出的观点, 即部分类型的 AOA 可能专一性地存在于比较特殊的生境中。氨氮浓度、pH 和温度的变化都会影响生态系统中 AOA 的群落结构。稻田土壤中氮肥的施用也会显著促进 AOA 的生长^[5]。培养温度 (10 ~ 30℃) 变化对 AOA 群落结构有明显影响^[23]。推测河蚬生物扰动行为可能通过影响氮素的分布, 进而影响 AOA 群落结构。

AOB 是一类化能自养的微生物, 广泛分布于土壤、海洋、江河、湖泊及其沉积物等环境中, 主要有以下 5 个属: 亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*)、亚硝化囊杆菌属 (*Nitrosocystis*)、亚硝化球菌属 (*Nitrosococcus*)、亚硝化螺菌属 (*Nitrosospira*) 和亚硝化胶团菌属 (*Nitrosogloea*)。从系统发育上来看 (图 3), 对照组序列分为两大类群: 亚硝化单胞菌属



对照组、处理组: 括号内数字为属同一 OTU 的序列数

图 4 不同处理组中古菌 *amoA* 基因序列的系统发育分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of archaeal *amoA* gene sequences of different treatments

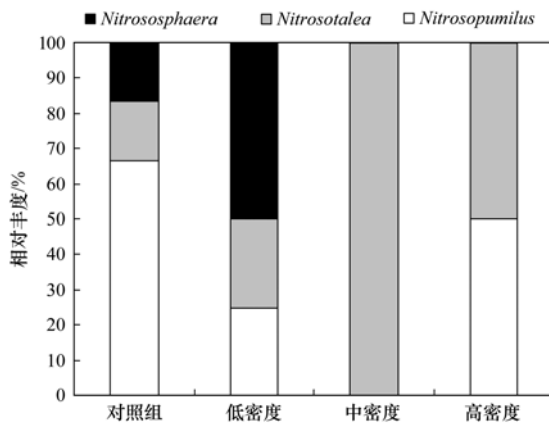


图5 不同处理组的氨氧化古菌类群相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of the archaeal *amoA* gene groups recovered from different sediment samples

(*Nitrosomonas*) 和亚硝化螺菌属(*Nitrospira*)。通过不同类群相对丰度分析(图6), 3个不同密度的河蚬扰动体系中, 氨氧化细菌(AOB)均为亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)。Satoh等^[17]研究疣吻沙蚕(*Tylorhynchus heterochaetus*)的生物扰动对潮间带沉积物的氨氧化细菌群落结构的影响, 结果显示表层沉积物的氨氧化细菌群落主要是 *Nitrosomonas* sp. Strain Nm143-like sequences, 同时有不少研究报道过亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)通常在富含氨氮环境中具有竞争优势^[32]。亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)在太湖体系里数量分布的绝对优势性, 进一步反映了太湖水体中氨氮污染程度较高的现状。Verhamme等^[33]研究氨浓度对氨氧化菌的生长影响, 发现氨氧化细菌只在最高氨浓度(200 μg)生长显著。推测河蚬扰动行为影响表层沉积物中氨氮浓度, 进而影响氨氧化细菌群落结构。

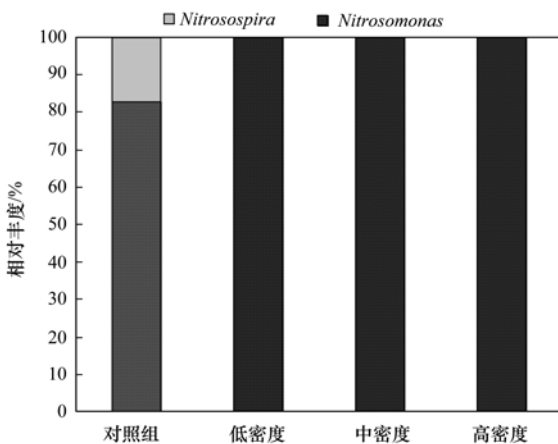


图6 不同处理组的氨氧化细菌群落相对丰度

Fig. 6 Relative abundance of the bacterial *amoA* gene groups recovered from different sediments

3 结论

(1) 河蚬的生物扰动行为增加了沉积物-水之间的氮素交换, 适中的河蚬生物量会促进硝化过程。

(2) 3个处理组表层沉积物中细菌 *amoA* 基因丰度均高于古菌, 且河蚬密度越高则氨氧化细菌的 *amoA* 基因丰度越低。河蚬的扰动行为对氨氧化菌 *amoA* 基因丰度产生了一定影响。

(3) *amoA* 基因的系统发育分析表明, 河蚬的添加使得微宇宙体系中氨氧化菌(AOA和AOB)的多样性降低。河蚬扰动体系中, AOA为海洋或土壤生态系统中的常见类群, AOB均为亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)类群。总之, 河蚬的生物扰动会影响氨氧化菌群落结构和丰度, 进而会影响氨氧化进程。

参考文献:

- [1] Conley D J, Paerl H W, Howarth R W, et al. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus [J]. *Science*, 2009, **323**(5917): 1014-1015.
- [2] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, et al. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(41): 14683-14688.
- [3] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, **55**(1): 485-529.
- [4] Mosier A C, Francis C A. Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(11): 3002-3016.
- [5] Chen X P, Zhu Y G, Xia Y, et al. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(8): 1978-1987.
- [6] Ye W J, Liu X L, Lin S Q, et al. The vertical distribution of bacterial and archaeal communities in the water and sediment of Lake Taihu [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **70**(2): 263-276.
- [7] Cao H L, Li M, Hong Y G, et al. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in polluted mangrove sediment [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2011, **34**(7): 513-523.
- [8] Coci M, Riechmann D, Bodelier P L E, et al. Effect of salinity on temporal and spatial dynamics of ammonia-oxidising bacteria from intertidal freshwater sediment [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **53**(3): 359-368.
- [9] Herrmann M, Saunders A M, Schramm A. Archaea dominate the ammonia-oxidizing community in the rhizosphere of the freshwater macrophyte *Littorella uniflora* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, **74**(10): 3279-3283.

- [10] Maire O, Lecroart P, Meysman F, *et al.* Quantification of sediment reworking rates in bioturbation research: a review [J]. *Aquatic Biology*, 2008, **2**(3): 219-238.
- [11] Lagauzère S, Boyer P, Stora G, *et al.* Effects of uranium-contaminated sediments on the bioturbation activity of *Chironomus riparius* larvae (Insecta, Diptera) and *Tubifex tubifex* worms (Annelida, Tubificidae) [J]. *Chemosphere*, 2009, **76**(3): 324-334.
- [12] Graf G, Rosenberg R. Bioresuspension and biodeposition: a review [J]. *Journal of Marine Systems*, 1997, **11**(3): 269-278.
- [13] Datta S, Jana B B. Influence of chironomid larvae, *Chironomus* sp., on phosphorus release from rock phosphate fertilized soil-water system [J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 1997, **7**(2): 31-39.
- [14] Aller R C, Aller J Y. The effect of biogenic irrigation intensity and solute exchange on diagenetic reaction rates in marine sediments [J]. *Journal of Marine Research*, 1998, **56**(4): 905-936.
- [15] Mermillod-Blondin F, Nogaro G, Detry T, *et al.* Do tubificid worms influence the fate of organic matter and pollutants in stormwater sediments? [J]. *Environmental Pollution*, 2005, **134**(1): 57-69.
- [16] 刘敏, 侯立军, 许世远, 等. 长江口潮滩生态系统氮微循环过程中大型底栖动物效应实验模拟[J]. *生态学报*, 2005, **25**(5): 1132-1137.
- [17] Satoh H, Nakamura Y, Okabe S. Influences of infaunal burrows on the community structure and activity of ammonia-oxidizing bacteria in intertidal sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(4): 1341-1348.
- [18] 蔡永久, 龚志军, 秦伯强. 太湖大型底栖动物群落结构及多样性[J]. *生物多样性*, 2010, **18**(1): 50-59.
- [19] 陈振楼, 刘杰, 许世远, 等. 大型底栖动物对长江口潮滩沉积物-水界面无机氮交换的影响[J]. *环境科学*, 2005, **26**(6): 43-50.
- [20] Vaughn C C, Hakenkamp C C. The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems [J]. *Freshwater Biology*, 2001, **46**(11): 1431-1446.
- [21] Lohrer A M, Thrush S F, Gibbs M M. Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions [J]. *Nature*, 2004, **431**(7012): 1092-1095.
- [22] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(12): 4704-4712.
- [23] Touna M, Freitag T E, Nicol G W, *et al.* Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(5): 1357-1364.
- [24] Mermillod-Blondin F, Rosenberg R, François-Carcaillet F, *et al.* Influence of bioturbation by three benthic infaunal species on microbial communities and biogeochemical processes in marine sediment [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2004, **36**(3): 271-284.
- [25] Caffrey J M, Bano N, Kalanetra K, *et al.* Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia [J]. *The ISME Journal*, 2007, **1**(7): 660-662.
- [26] Jiang H C, Dong H L, Yu B S, *et al.* Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in Qinghai Lake, northwestern China [J]. *Geomicrobiology Journal*, 2009, **26**(3): 199-211.
- [27] Leininger S, Urich T, Schloter M, *et al.* Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils [J]. *Nature*, 2006, **442**(7104): 806-809.
- [28] Lam P, Jensen M M, Lavik G, *et al.* Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, **104**(17): 7104-7109.
- [29] Martens-Habbena W, Berube P M, Urakawa H, *et al.* Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria [J]. *Nature*, 2009, **461**(7266): 976-979.
- [30] Könneke M, Bernhard A E, De la Torre J R, *et al.* Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon [J]. *Nature*, 2005, **437**(7058): 543-546.
- [31] Erguder T H, Boon N, Wittebolle L, *et al.* Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, **33**(5): 855-869.
- [32] Bollmann A, Bär-Gilissen M J, Laanbroek H J. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(10): 4751-4757.
- [33] Verhamme D T, Prosser J I, Nicol G W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms [J]. *The ISME Journal*, 2011, **5**(6): 1067-1071.

CONTENTS

Comparative Analysis on Meteorological Condition for Persistent Haze Cases in Summer and Winter in Beijing	LIAO Xiao-nong, ZHANG Xiao-ling, WANG Ying-chun, <i>et al.</i> (2031)
Size Distributions of Water-Soluble Inorganic Ions in Atmospheric Aerosols in Fukang	MIAO Hong-yan, WEN Tian-xue, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (2045)
Study on Transition Metals in Airborne Particulate Matter in Shanghai City's Subway	BAO Liang-man, LEI Qian-tao, TAN Ming-guang, <i>et al.</i> (2052)
Heavy Metal Concentrations in Mosses from Qiye Glacier Region	MA Juan-juan, LI Zhen (2060)
Distributions of Dimethylsulfide and Dimethylsulfoniopropionate and Influencing Factors in the East China Sea and the Southern Yellow Sea During the Winter	SONG Yi-zhu, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (2067)
Pollution by Heavy Metals in the Petrochemical Sewage Waters of the Sea Area of Daya Bay and Assessment on Potential Ecological Risks	XU Shan-nan, LI Chun-hou, XU Jiao-jiao, <i>et al.</i> (2075)
Distribution of Perfluorinated Compounds in Surface Water of Shenzhen Reservoir Groups	WANG Xin-xuan, ZHANG Hong, HE Long, <i>et al.</i> (2085)
Contamination and Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Epikarst Spring Water	SUN Yu-chuan, SHEN Li-cheng, YUAN Dao-xian (2091)
Biogeochemical Processes of the Major Ions and Dissolved Inorganic Carbon in the Guijiang River	TANG Wen-kui, TAO Zhen, GAO Quan-zhou, <i>et al.</i> (2099)
Hydrologic Processes of the Different Landscape Zones in Fenhe River Headwater Catchment	YANG Yong-gang, LI Cai-mei, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (2108)
Assessment of Groundwater Quality of Different Aquifers in Tongzhou Area in Beijing Plain and Its Chemical Characteristics Analysis	GUO Gao-xuan, JU Yi-wen, ZHAI Hang, <i>et al.</i> (2114)
Models for Quantification of Fluid Saturation in Two-Phase Flow System by Light Transmission Method and Its Application	ZHANG Yan-hong, YE Shu-jun, WU Ji-chun (2120)
Nitrogen Leaching and Associated Environmental Health Effect in Sloping Cropland of Purple Soil	CHEN Wei-liang, GAO Yang, LIN Yong-ming, <i>et al.</i> (2129)
Research on Land Use Structure Optimization Based on Nonpoint Source Dissolved Nitrogen Load Estimation in Shuashui Watershed	LU Yu-chao, BI Meng-fei, LI Ze-li, <i>et al.</i> (2139)
Nitrogen and Organic Matter Vertical Distribution Characteristics and Evaluation in Ancient Canal Sediments of Zhenjiang Old Town	ZHOU Xiao-hong, LI Yi-min, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (2148)
Effects of Two Submerged Macrophytes on Dissolved Inorganic Nitrogen in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, LI Yang, SUN Gong-xian (2156)
Bioavailable Phosphorus on Suspended Solids of Lake Under Short-term and Repeated Sediment Disturbance	WU Xiao-fei, LI Da-peng (2164)
Influence of Different Disturbance Intensity on the Phosphorus Adsorption and Immobilization by the Sediments from an Inner City Heavily Polluted Canal	WANG Shang, LI Da-peng (2171)
Effect of Feed Residues on the Release of Nitrogen and Phosphorus of Pond Sediment	LÜ Yuan-jiao, LI Rui-jiao, ZHANG Nian, <i>et al.</i> (2178)
Delivery and Release of Sediment PAHs During Resuspension	WANG Xiao-hui, BI Chun-juan, HAN Jing-chao (2185)
Effects of Low Molecular Weight Organic Acids on Redox Reactions of Mercury	ZHAO Shi-bo, SUN Rong-guo, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (2193)
Removal of Fluorescent Whitening Agent by Hydrogen Peroxide Oxidation Catalyzed by Activated Carbon	LIU Hai-long, ZHANG Zhong-min, ZHAO Xia, <i>et al.</i> (2201)
Kinetics of Alkylphenols Degradation in Aqueous Phase with Excilamp Irradiation	LIU Yu-hai, YE Zhao-lian, WEN Ying-pin, <i>et al.</i> (2209)
AF + BAF for Treating Effluent in the Sewage Plant of the Resin and Chemical Industry Park	TU Yong, LIU Wei-jing, ZHANG Yao-hui, <i>et al.</i> (2216)
Synthesis and Adsorption Property of Cd(II)-8-hydroxyquinoline Molecularly Imprinted Polymer Microspheres	YANG Chun-yan, CHEN Fu-bin, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (2223)
Simultaneous Nitrification and Denitrification in a Microbubble-aerated Biofilm Reactor	LIU Chun, NIAN Yong-jia, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2230)
Effect of PLA/Starch Slow-Release Carbon Source on Biological Denitrification	TANG Dan-qi, WANG Juan, ZHENG Tian-long, <i>et al.</i> (2236)
Impacts of Filamentous Bulking on Treatment Effect and Fouling Characteristics of Nonwoven Bioreactor	SHI Kuan, XUE Gang, GAO Pin, <i>et al.</i> (2241)
Optimization for Phosphorous Removal in Thickening and Dewatering Sludge Water by Polyaluminum Chloride	ZHOU Zhen, HU Da-long, QIAO Wei-min, <i>et al.</i> (2249)
Simulation of Long-Range Transport Potential of POPs in Poyang Lake	GONG Xiao-feng, XIANG Hong-rui, CHEN Chun-li, <i>et al.</i> (2256)
Uncertainty Analysis of Ecological Risk Assessment Caused by Heavy-metals Deposition from MSWI Emission	LIAO Zhi-heng, SUN Jia-ren, WU Dui, <i>et al.</i> (2264)
Risk Assessment and Countermeasures of BTEX Contamination in Soils of Typical Pesticide Factory	TAN Bing, WANG Tie-yu, LI Qi-feng, <i>et al.</i> (2272)
Levels Distribution and Risk Assessment of the Indicator and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls in Ten Different Species of Marine Fish of Bohai Bay, China	WANG Sha-sha, GAO Li-rong, TIAN Yi-ling, <i>et al.</i> (2281)
Detection of Biohazardous Materials in Water upon the Characteristics of Fluorescent Sensor Frex	ZHAO Wei, WANG Zhao, CAI Qiang, <i>et al.</i> (2287)
Generation and Release of Microcystin-LR by <i>Microcystis aeruginosa</i> Under Hydroquinone Inhibition	ZHANG Yuan-chun, LIANG Wen-yan, ZHAO Yuan, <i>et al.</i> (2294)
Culture Medium Based on Biogas Slurry and Breeding of Oil Chlorella	ZHAO Feng-min, MEI Shuai, CAO You-fu, <i>et al.</i> (2300)
Microbial Diversity and Ammonia-Oxidizing Microorganism of a Soil Sample Near an Acid Mine Drainage Lake	LIU Ying, WANG Li-hua, HAO Chun-bo, <i>et al.</i> (2305)
Effects of <i>Corbicula fluminea</i> Bioturbation on the Community Composition and Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Surface Sediments	WANG Xue, ZHAO Da-yong, ZENG Jin, <i>et al.</i> (2314)
Methanogenic Activity and Methanogen Diversity in Marine Gas Field Sediments	TIAN Qi, WANG Jia, FAN Xiao-lei, <i>et al.</i> (2322)
Effect of the Potential on Bacterial Community Under Illumination by DGGE and T-RFLP	WU Yi-cheng, DENG Huan, XIAO Yong, <i>et al.</i> (2328)
Isolation and Characterization of Two Bacteria with Heavy Metal Resistance and Phosphate Solubilizing Capability	TIAN Jiang, PENG Xia-wei, LI Xia, <i>et al.</i> (2334)
Identification and Denitrification Characteristics of a Psychrotolerant Facultative Basophilic Aerobic Denitrifier	WANG Zhao-yang, CHEN Guo-yao, JIANG Ke, <i>et al.</i> (2341)
Effects of Ryegrass and Arbuscular Mycorrhiza on Activities of Antioxidant Enzymes, Accumulation and Chemical Forms of Cadmium in Different Varieties of Tomato	JIANG Ling, YANG Yun, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (2349)
Response of Active Nitrogen to Salinity in a Soil from the Yellow River Delta	LI Ling, QIU Shao-jun, CHEN Yin-ping, <i>et al.</i> (2358)
Variation of Soil Nitrogen During <i>in situ</i> Mineralization Process Under Different Grasslands in the Mountainous Area of Southern Ningxia, Northwest China	JIANG Yue-li, ZHAO Tong, YAN Hao, <i>et al.</i> (2365)
Effects of Long-Term Application of Pig Manure Containing Residual Tetracycline on the Formation of Drug-Resistant Bacteria and Resistance Genes	ZHANG Jun, YANG Xiao-hong, GE Feng, <i>et al.</i> (2374)
Long-Term Effects of Tillage Methods on Heavy Metal Accumulation and Availability in Purple Paddy Soil	CHANG Tong-ju, CUI Xiao-qiang, RUAN Zhen, <i>et al.</i> (2381)
Environmental Geochemical Baseline of Heavy Metals in Soils of the Ili River Basin and Pollution Evaluation	ZHAO Xin-ru, Telajin Nasier, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2392)
Distribution Patterns and Pollution Assessments of Heavy Metals in the <i>Spartina alterniflora</i> Salt-Marsh Wetland of Rudong, Jiangsu Province	ZHANG Long-hui, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (2401)
Temporal-Spatial Distribution of Agricultural Diffuse Nitrogen Pollution and Relationship with Soil Respiration and Nitrification	OUYANG Wei, CAI Guan-qing, HUANG Hao-bo, <i>et al.</i> (2411)
Soil Respiration and Carbon Balance in Wheat Field Under Conservation Tillage	ZHANG Sai, WANG Long-chang, HUANG Zhao-cun, <i>et al.</i> (2419)
Comparison of Soil Respiration in Natural <i>Castanopsis carlesii</i> Forest and Plantation Forest	WU Jun-jun, YANG Zhi-jie, WENG Fa-jin, <i>et al.</i> (2426)
Influences of Hydraulic Retention Time on the Ethanol Type Fermentation Hydrogen Production System in a Hybrid Anaerobic Baffled Reactor	LIU Xiao-ye, ZHANG Hong, LI Yong-feng (2433)

《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)

2014年6月15日 第35卷 第6期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 6 Jun. 15, 2014

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