

# 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)                                 |                                                 |

# DGGE 及 T-RFLP 分析光照下电位对细菌群落的影响

吴义诚<sup>1</sup>, 邓欢<sup>2</sup>, 肖勇<sup>1</sup>, 赵峰<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院城市环境研究所, 厦门 361021; 2. 南京师范大学地理科学学院, 南京 210023)

**摘要:** 电位和光照能影响生物电化学系统中产电光合微生物的富集和生长, 为了明确电位对细菌多样性的影响, 采用变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 和末端限制性片段长度多态性 (terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP) 两种方法分析光照条件下电位对电极生物膜细菌群落多样性的影响, 实验设置 0、0.2、0.4、0.6 V (vs. Ag/AgCl) 4 个电位. 结果表明, 0.6 V (vs. Ag/AgCl) 下电极生物膜细菌 DGGE 条带数量较其他处理明显降低, 对条带的测序结果显示不同电位下电极生物膜细菌主要属于  $\alpha$ -变形菌纲 ( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 和梭菌纲 (Clostridia). 而 0.2 V (vs. Ag/AgCl) 处理下末端限制性片段 (terminal restriction fragment, T-RF) 的数量最高, 片段数量随电压进一步升高呈现降低趋势. 虽然 DGGE 和 T-RFLP 两种方法分析结果有一定差异, 但都能反映电位对电极生物膜细菌群落多样性影响显著, 高电位降低了细菌多样性.

**关键词:** 变性梯度凝胶电泳; 末端限制性片段长度多态性; 细菌群落; 电位; 光照

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)06-2328-06 DOI: 10.13227/j.hj.kx.2014.06.040

## Effect of the Potential on Bacterial Community Under Illumination by DGGE and T-RFLP

WU Yi-cheng<sup>1</sup>, DENG Huan<sup>2</sup>, XIAO Yong<sup>1</sup>, ZHAO Feng<sup>1</sup>

(1. Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 2. School of Geography Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** Potential and illumination regulate the acclimation and growth of exoelectrogenic photosynthetic bacteria in bioelectrochemical systems. To understand the influence of potential on the bacteria community diversity under illumination, PCR-based molecular ecological techniques including denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) were applied to evaluate the bacteria community diversity of biofilm on working electrode. Four potentials of 0, 0.2, 0.4 and 0.6 V (vs. Ag/AgCl) were applied to the working electrode. The DGGE results showed that the band number of the biofilm at 0.6 V was dramatically lower than those at other potentials. The sequencing analysis of these bands showed that most of them belonged to classes of  $\alpha$ -Proteobacteria,  $\beta$ -Proteobacteria and Clostridia. The T-RFLP results showed that the number of T-RFs was the largest at 0.2 V and then decreased with increasing potentials. Although the application of DGGE or T-RFLP resulted in different bacterial diversities, both techniques revealed that potential dramatically affected the bacterial diversity and high potential decreased the diversity.

**Key words:** DGGE; T-RFLP; bacterial community; potential; illumination

微生物燃料电池 (microbial fuel cells, MFCs) 是一种利用微生物的代谢将废水中污染物的化学能转化为电能的废水处理技术<sup>[1, 2]</sup>. 光合微生物应用于 MFCs 中产生了光合微生物燃料电池 (photosynthesis microbial fuel cells, photoMFCs), 实现污染物降解产生绿色能源的同时将光能转化为电能, 因而受到科研工作者越来越多的重视<sup>[3, 4]</sup>. 产电光合微生物的富集是 photoMFCs 能量转换的基础, 也是电池启动的限速步骤之一<sup>[5, 6]</sup>. 光照促进光合微生物的富集, 恒电位有助于产电菌快速形成菌膜. Wang 等<sup>[7]</sup>发现 0.2 V (vs. Ag/AgCl) 电位促进产电微生物在阳极表面形成生物膜. Finkelstein 等<sup>[8]</sup>发现更高的电位可以加快阳极微生物的富集从而缩短 MFCs 的

启动时间, 因此光照条件下控制合理的电位有利于快速驯化得到光合产电微生物, 缩短 photoMFCs 的启动时间. 研究光照条件下不同电位对微生物群落多样性的影响, 有助于加深对光合微生物改善 photoMFCs 性能机制的认识.

随着分子生物学理论和技术的快速发展, 一些基于 PCR 的分子指纹技术已广泛应用于环境微生物种群结构分析, 这些技术不依赖于微生物实验室培养方法, 通过基因指纹图谱即可对微生物群落多

收稿日期: 2013-09-29; 修订日期: 2013-12-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21177122, 21322703)

作者简介: 吴义诚 (1984 ~ ) 男, 博士研究生, 主要研究方向为水污染防治, E-mail: ycwu@iue.ac.cn

\* 通讯联系人, E-mail: fzhaof@iue.ac.cn

样性及其时空动态进行分析,分子指纹技术中尤以变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)<sup>[9]</sup>和末端限制性片段长度多态性 (terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)<sup>[10]</sup>两种方法应用最为广泛.

本研究采用三电极体系控制电极电位,通过 DGGE 和 T-RFLP 两种技术分别考察 0、0.2、0.4 和 0.6 V(vs. Ag/AgCl)下光照培养 25 d 后电极生物膜细菌群落多样性,同时比较了 DGGE 和 T-RFLP 这两种分子生态学方法在评价细菌多样性的优缺点,以期选择适合的方法分析微生物群落多样性提供参考.

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验装置如图 1 所示. 三电极体系由 100 mL 广口瓶制成,工作电极和对电极材料均为碳毡,几何面积分别为 4 cm<sup>2</sup> (2 cm×2 cm)和 6 cm<sup>2</sup> (1.5 cm×4 cm),电极使用前依次用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 和 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 浸泡去除表面吸附物,参比电极为 Ag/AgCl(3 M sat. KCl). 广口瓶加橡胶塞以保证三电极体系处于厌氧状态,工作电极和对电极用钛丝引出,与参比电极一起固定于橡胶塞.

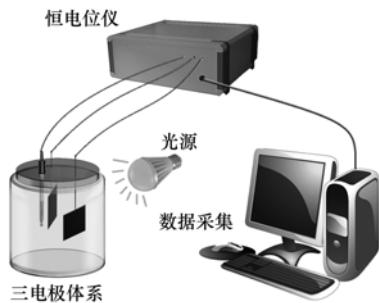


图 1 实验装置示意

Fig. 1 Diagram of experimental setup

1.2 光照条件下不同电压驯化污泥

接种污泥采自厦门集美污水厂二沉池,每个三电极体系接种 8.0 g 污泥,加入人工废水,人工废水成分为: CH<sub>3</sub>COONa (0.82 g·L<sup>-1</sup>), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (6.28 g·L<sup>-1</sup>), NaHCO<sub>3</sub> (2.0 g·L<sup>-1</sup>), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (10.0 g·L<sup>-1</sup>), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.5 g·L<sup>-1</sup>), NaCl (0.5 g·L<sup>-1</sup>) 和 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.2 g·L<sup>-1</sup>). 4 个实验组采用电池测试系统 (Maccor, 美国) 分别设置恒电位 0、0.2、0.4、0.6 V (vs. Ag/AgCl), 3 000 lx 光强条件下 28℃ 培养 25 d.

1.3 微生物 DNA 提取

工作电极用磷酸钠盐缓冲液 (50 mmol·L<sup>-1</sup>, pH 7.0) 洗涤 2 次后,采用环境样品总 DNA 提取试剂盒 (百泰克, 北京) 提取工作电极表面菌膜基因组 DNA. 提取的 DNA 用灭菌高纯水溶解后, -20℃ 保存.

1.4 PCR 扩增

以提取的 DNA 做模板,采用不同的引物 (表 1) 进行扩增,其中用于 DGGE 的引物为 341F-GC 和 534R<sup>[11]</sup>,用于 T-RFLP 的引物为 27F 和 1492R<sup>[12]</sup>,其中 27F 的 5'端以荧光染料 FAM 标记. PCR 反应体系组成: 10×PCR buffer 2 μL, dNTP 2 μL、正向引物 1 μL、反向引物 1 μL、*Taq* 酶 (5 U·μL<sup>-1</sup>) 0.125 μL、模板 DNA 1 μL,蒸馏水补足至 25 μL. PCR 扩增的温度程序分别如下.

DGGE:采用降落 PCR 策略,95℃ 预变性 5 min; 前 10 个循环为 95℃ 40 s, 56~51℃ 40 s, (每个循环后复性温度下降低 0.5℃), 72℃ 延伸 45 s; 后 20 个循环采用 95℃ 40 s, 51℃ 40 s, 72℃ 延伸 45 s; 最后 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存.

T-RFLP: 95℃, 预变性 5 min; 95℃ 40 s, 55℃ 40 s, 72℃ 90 s, 30 个循环; 72℃, 7 min; 4℃ 保存.

表 1 引物序列

| Table 1 Nucleotide sequences of primers |                                                            |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 引物名称                                    | 序列 (5'→3')                                                 |
| 27 F-FAM                                | AGAGTTTGATCCTGGCTCAG                                       |
| 1492 R                                  | GGTTACCTTGTACGACTT                                         |
| 341 F-GC                                | CGCCCGCCGCGCGCGCGCGGGCGGGGGG<br>CACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG |
| 534 R                                   | ATTACCGCGCTGCTGG                                           |

1.5 分子生态学分析方法

1.5.1 DGGE

采用 Dcode 基因突变检测系统 (伯乐公司, 美国) 对 16S rRNA 基因 V3 区扩增产物进行 DGGE 电泳分析. 所用聚丙烯酰胺凝胶浓度为 10% (质量浓度), 变性剂浓度梯度为 30%~45%, 电泳缓冲液为 1×TAE, 运行条件如下: 电泳温度 60℃, 40 V 预电泳 30 min, 然后 90 V 电泳 13 h. 电泳结束后, 凝胶用 SYBR Green I 染色 30 min, 凝胶成像系统观察条带, 使用 Quantity One® 1-D 软件分析. 对较亮的条带进行切割、纯化、扩增、连接、克隆后测序, 将所测序列与 GenBank 数据库中的已有序列进行 BLAST 比对, 获得相似性较高的 16S rRNA 基因序列, 采用 Clustal W、MEGA 5.0 软件进行分析, 邻接

法 (Neighbor-Joining Method) 构建系统发育树图, 1 000次随机抽样, 计算自引导值 (Bootstrap) 以评估系统发生树的置信度.

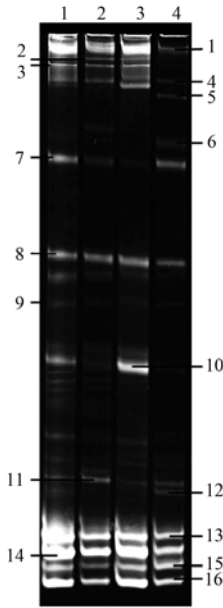
1.5.2 T-RFLP

16S rRNA 基因扩增产物纯化后分别用 *Hae* III<sup>[13]</sup> 和 *Msp* I<sup>[14]</sup> (TaKaRa, 大连) 进行酶切, 反应体系为 20  $\mu$ L, 37 $^{\circ}$ C 酶切 6 h, 65 $^{\circ}$ C 灭活 15 min. 酶切产物乙醇沉淀脱盐后与内标 GS500 混合, ABI3700 DNA 测序仪进行毛细管电泳检测 (委托华大基因完成), 所得电泳图谱用软件 GeneMarker 进行分析. 结果处理后上传至 <http://trflp.limnology.wisc.edu/assignment.jsp> 进行比对分析. 碱基大小在 50 bp 以下以及相对峰面积小于 1% 的末端限制性片段 (terminal restriction fragment, T-RF) 不予统计.

2 结果与讨论

2.1 DGGE 分析不同电位下电极生物膜细菌群落多样性

电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 V3 区扩增产物经 DGGE 分离, 图谱扣除背景和修正条带后如图 2 所示, 不同电位下电极样品 DGGE 图谱条带的数目和位置均有一定的差异. 从中可以看出: 0 V (vs. Ag/AgCl) 电位下, 电极生物膜细菌 DGGE 所得条带较多且分布紧密, 说明该电极生物膜细菌群落具有较高的多样性. 0.6 V (vs. Ag/AgCl) 下电极生物膜细菌 DGGE 条带数量较其它电位明显降低, 高电位



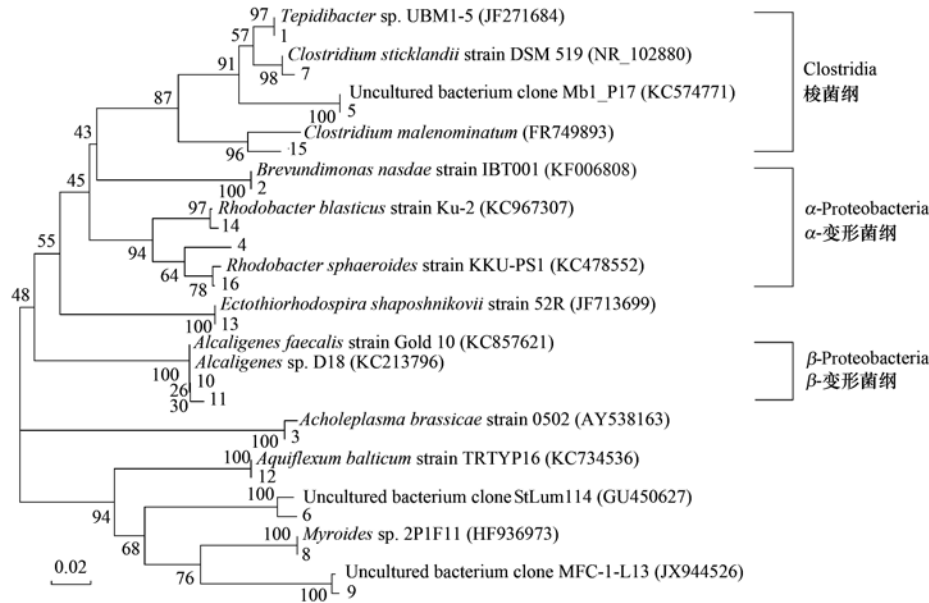
1: 0 V; 2: 0.2 V; 3: 0.4 V; 4: 0.6 V

图 2 光照及不同电位下电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 V3 区 DGGE 图谱

Fig. 2 DGGE pattern of 16S rRNA V3 region of bacterial of biofilm on electrode at different potentials under illumination

下电极生物膜细菌群落的多样性降低, 可能较高的电位更有利于产电菌的富集使得细菌菌群多样性降低.

DGGE 图谱还表明 4 个电位下电极生物膜细菌中既有共同的种类, 也有自己独特的种属, 形成了各自特定细菌群落多样性. 切胶回收图谱中 16 个较亮的条带, 测序后构建系统发育树 (图 3). 条带 7、



分枝节点数值表示 bootstrap (1 000 次抽样) 的支持百分率

图 3 光照及不同电位下电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 V3 区系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 16S rRNA V3 region of bacterial of biofilm on electrode at different potentials under light

8、11、13、14、15、16 的亮度较强,且在 4 个泳道中都有分布,这些条带测序结果表明光照条件下本研究设置的 4 个电位电极微附着的细菌主要包括  $\alpha$ -变形菌纲 ( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 和 梭菌纲 (Clostridia). 条带 7 与梭菌 *Clostridium sticklandii* strain DSM 519 序列相似性最高,该条带在 0 V (vs. Ag/AgCl) 电极样品图谱中最亮,说明该菌在 0 V (vs. Ag/AgCl) 电极含量最为丰富;条带 5 序列相似性最高的是 Uncultured bacterium clone MB\_P17,该条带只在 0.6 V (vs. Ag/AgCl) 电极生物膜中分布,10 号条带序列相似性最近的是  $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -Proteobacteria),该条带在 0 和 0.4 V (vs. Ag/AgCl) 两个电极生物膜都有分布,但在 0.4 V (vs. Ag/AgCl) 电极生物膜含量最为丰富;与光合细菌序列相似性最高的条带是 4、14 和 16,这 3 个条带在 0、0.2、0.4、0.6 V (vs. Ag/AgCl) 电极生物膜中都有分布,测序的 16 条带,与梭菌和变形菌序列相似性最高的占了 11 条,可见变形菌和梭菌是电极光照恒电位下生物膜中的优势菌种,目前文献报道变形

菌和梭菌都有产电菌分布<sup>[15]</sup>.

**2.2 T-RFLP 分析不同电位下电极生物膜细菌群落多样性**

光照条件下不同电位电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 PCR 产物经 *Hae* III 或 *Msp* I 酶切,毛细管电泳获得 T-RFLP 图谱. GeneMarker 软件对片段长度在 70 ~ 500 bp,且相对峰面积大于 1% 的 T-RF 进行统计分析(图 4),由图 4 知同一样品扩增产物经不同酶切所得到 T-RF 长度和数量都有一定的差异,0、0.2、0.4、0.6 V (vs. Ag/AgCl) 电位下电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 PCR 产物经 *Hae* III 酶切得到的 T-RF 数量分别为: 5、10、8、6,经 *Msp* I 酶切获得的 T-RF 数量分别为: 3、9、9、8. 在 0 V (vs. Ag/AgCl) 电位下,电极生物膜细菌 16S rRNA 基因 PCR 产物经 *Msp* I 酶切的 T-RFLP 图谱中,长度为 125 bp 的 T-RF 相对峰面积为 95.28%,使得大量低丰度 T-RF 的荧光信号被掩蔽,得到的 T-RF 数量偏低,不利于反映样品真实的细菌群落多样性,因此内切酶的选择直接影响到 T-RFLP 结果.

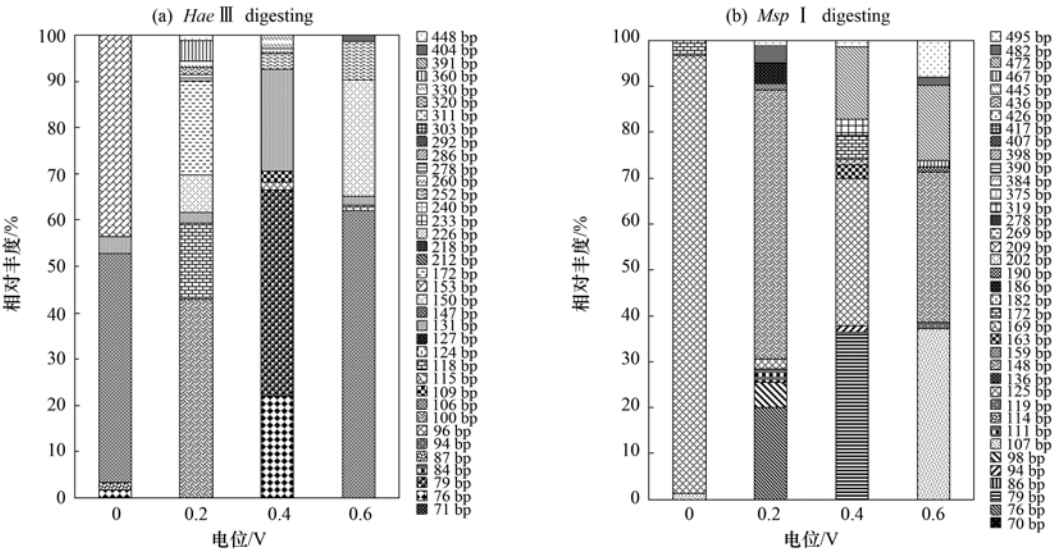


图 4 光照及不同电位下电极生物膜细菌末端限制性片段的相对百分含量

Fig. 4 Relative abundance of T-RFs of bacterial of biofilm on electrode at different potentials under illumination

**2.3 DGGE 与 T-RFLP 分析细菌群落多样性比较**

DGGE 图谱中的条带相当于 T-RFLP 图谱的 T-RF, DGGE 图谱中条带的亮度与 T-RFLP 图谱 T-RF 峰面积对应,代表了该片段的浓度,即相应群落的相对数量<sup>[16, 17]</sup>. 本研究采用 DGGE 和 T-RFLP 分别对光照条件下不同电位电极生物膜细菌进行多样性分析,两种方法对同一样品分析结果有一定的差异, DGGE 结果显示 0 V (vs. Ag/AgCl) 电极生物膜细菌多样性最丰富,但采用 T-RFLP 分析时, *Hae* III 和

*Msp* I 两种酶切结果都表明该电位下电极生物膜细菌获得的 T-RF 数量最少. 同一批样品两种方法得出差异的结论,这也是目前基于 PCR 发展起来的分子生态学方法存在的一个共同问题<sup>[18]</sup>. DGGE 和 T-RFLP 进行分子生态学分析的原理都是科学的,但实际操作中例如 PCR 扩增条件及 DNA 提取效果等因素的干扰都会造成分析结果的差异,实际操作过程中只能尽量减少干扰,但还是无法做到完全准确地根据获得的图谱反映真实的种群结构,故无法单



纯的根据实验结果评判 DGGE 和 T-RFLP 两种方法的优劣。

DGGE 技术具有重复性好等优点<sup>[19]</sup>,且能对图谱进行杂交或直接克隆测序分析,这极大地提高了 DGGE 的分析能力,但是 DGGE 分析也存在着以下不足:①分辨率低和灵敏性差, Muyzer 等<sup>[9]</sup>报道 DGGE 对于丰度低于 1% 的种群相对难检测;②胶浓度、PCR 条件等对 DGGE 图谱影响显著<sup>[20]</sup>;③其检测的 DNA 片段长度有限,获得菌种的信息少<sup>[21]</sup>;④一条 DGGE 带可能代表几种菌,不同的几条 DGGE 带也可能代表同一种细菌<sup>[22]</sup>;⑤不能进行准确的种群定量分析和基因表达的水平检测<sup>[23]</sup>。

与 DGGE 技术相比,T-RFLP 技术具有高通量、操作简单、灵敏度高等优点<sup>[24]</sup>。正是由于该技术的灵敏度高,所以 PCR、酶切等步骤差异会导致相当大的误差,且 PCR 过程引入的误差没有规律性。另外单纯的 T-RFLP 技术虽然可以提供微生物相对数量信息,但不能对图谱进行杂交或直接克隆测序分析,无法确定是何种微生物,定性信息不足。由于数据库,尤其是除了 rRNA 基因之外的其它功能基因库的不完善,某些出现在 T-RFLP 中的 R-TF 可能找不到匹配的对象。

综上所述,DGGE、T-RFLP 两种分子生态学方法在分析微生物种群多样性时各有优劣。因此,应根据实验要求,充分考虑各个方法的基础背景和优缺点,选择合适的方法,或者通过多种方法组合弥补各自方法的不足,得到更准确全面的分子生态学信息。

### 3 结论

(1) DGGE 结果显示光照条件下不同电位电极生物膜细菌主要属于  $\alpha$ -变形菌纲( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲( $\beta$ -Proteobacteria)和梭菌纲(Clostridia)。

(2) T-RFLP 结果显示 0.2 V(vs. Ag/AgCl)处理下 T-RF 的数量最高,片段数量随电压进一步升高呈现降低趋势。

(3) DGGE 或 T-RFLP 需要与其他分子生物学技术结合,才能更好地评价环境因素如电位对微生物群落的种群多样性的影响。

#### 参考文献:

[1] Liu H, Ramnarayanan R, Logan B E. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber bacterial fuel cell [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, **38**(7):

2281-2285.

- [2] Wang Z J, Zheng Y, Xiao Y, *et al.* Analysis of oxygen reduction and microbial community of air-diffusion biocathode in microbial fuel cells [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **144**: 74-79.
- [3] McCormick A J, Bombelli P, Scott A M, *et al.* Photosynthetic biofilms in pure culture harness solar energy in a mediatorless biophotovoltaic cell (BPV) system [J]. *Energy & Environmental Science*, 2011, **4**(11): 4699-4709.
- [4] Bombelli P, Bradley R W, Scott A M, *et al.* Quantitative analysis of the factors limiting solar power transduction by *Synechocystis* sp. PCC 6803 in biological photovoltaic devices [J]. *Energy & Environmental Science*, 2011, **4**(11): 4690-4698.
- [5] Logan B E, Hamelers B, Rozendal R, *et al.* Microbial fuel cells: methodology and technology [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**(17): 5181-5192.
- [6] Lovely D R, Stolz J F, Nord G L Jr, *et al.* Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism [J]. *Nature*, 1987, **330**(6145): 252-254.
- [7] Wang X, Feng Y, Ren N, *et al.* Accelerated start-up of two-chambered microbial fuel cells: Effect of anodic positive poised potential [J]. *Electrochimica Acta*, 2009, **54**: 1109-1114.
- [8] Finkelstein D A, Tender L M, Zeikus J G. Effect of electrode potential on electrode-reducing microbiota [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**(22): 6990-6995.
- [9] Muyzer G, Waal De E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(3): 695-700.
- [10] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, *et al.* Characterization of bacterial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(11): 4516-4522.
- [11] Liu F H, Wang S B, Zhang J S, *et al.* The structure of the bacterial and archaeal community in a biogas digester as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequencing analysis [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, **106**(3): 952-966.
- [12] DeLong E F. Archaea in coastal marine environments [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, **89**(12): 5685-5689.
- [13] Gomez E, Garland J L, Roberts M S. Microbial structural diversity estimated by dilution-extinction of phenotypic traits and T-RFLP analysis along a land-use intensification gradient [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**(2): 253-259.
- [14] Carroll I M, Ringel-Kulka T, Keku T O, *et al.* Molecular analysis of the luminal- and mucosal-associated intestinal microbiota in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2011, **301**(5): 799-807.
- [15] 肖勇, 吴松, 杨朝晖, 等. 电化学活性微生物的分离与鉴定

- [J]. 化学进展, 2013, **25**(10): 1771-1780.
- [16] Konstantinov S R, Zhu W Y, Williams B A, *et al.* Effect of fermentable carbohydrates on piglet faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, **43**(2): 225-235.
- [17] Muyzer G, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1998, **73**(1): 127-141.
- [18] Nielsen A T, Liu W T, Filipe C, *et al.* Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, **65**(3): 1251-1258.
- [19] 李沁元, 崔晓龙, 张东华, 等. 云南腾冲热海两热泉菌藻席细菌多样性的研究[J]. 微生物学报, 2004, **44**(4): 431-435.
- [20] 孟利强, 赵晓宇, 张先成, 等. 大豆内生细菌种群多样性 PCR-DGGE 分析方法的优化研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2013, **30**(3): 390-395.
- [21] Boon N, Top E M, Verstraete W, *et al.* Bioaugmentation as a tool to protect the structure and function of an activated-sludge microbial community against a 3-chloroaniline shock load [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(3): 1511-1520.
- [22] Vallaey T, Topp E, Muyzer G, *et al.* Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis in the detection of 16S rRNA sequence variation in rhizobia and methanotrophs [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997, **24**(3): 279-285.
- [23] 张振冬, 王淑芬, 曹宇峰. DGGE 技术及其在海洋环境微生物多样性研究中的应用[J]. 海洋环境科学, 2008, **27**(3): 297-300.
- [24] 柳承璋, 宋林生, 吴青. 分子生物学技术在海洋微生物多样性研究中的应用[J]. 海洋科学, 2002, **26**(8): 27-30.



## 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 Qiyi 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)<br>北京市环境保护科学研究院<br>清华大学环境学院                                                                                                                               | Co-Sponsored     | by | Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection<br>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<br>北京市2871信箱(海淀区双清路<br>18号, 邮政编码:100085)<br>电话:010-62941102, 010-62849343<br>传真:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn | Edited           | by | The Editorial Board of Environmental Science ( HUANJING KEXUE )<br>P. O. Box 2871, Beijing 100085, China<br>Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn |
| 出 版     | 科 学 出 版 社<br>北京东黄城根北街16号<br>邮政编码:100717                                                                                                                             | Published        | by | Science Press<br>16 Donghuangchenggen North Street,<br>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<br>电话:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com                                                                                                | Distributed      | by | Science Press<br>Tel:010-64017032<br>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<br>(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