

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第1期

Vol.36 No.1

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2013年夏季典型光化学污染过程中长三角典型城市O₃来源识别 李浩, 李莉, 黄成, 安静宇, 严茹莎, 黄海英, 王杨君, 卢清, 王倩, 楼晟荣, 王红丽, 周敏, 陶士康, 乔利平, 陈明华(1)

厦门冬春季大气VOCs的污染特征及臭氧生成潜势 徐慧, 张晗, 邢振雨, 邓君俊(11)

近10年海南岛大气NO₂的时空变化及污染物来源解析 符传博, 陈有龙, 丹利, 唐家翔(18)

稻草烟尘中有机碳/元素碳及水溶性离子的组成 洪蕾, 刘刚, 杨孟, 徐慧, 李久海, 陈惠雨, 黄柯, 杨伟宗, 吴丹(25)

气相色谱-脉冲氦离子化检测法(GC-PDHID)分析大气中分子氢(H₂)浓度 栾天, 方双喜, 周凌晔, 王红阳, 张根(34)

小浪底水库影响下的黄河花园口站和小浪底站pCO₂特征及扩散通量 张永领, 杨小林, 张东(40)

夏季中国东海生源有机硫化物的分布及其影响因素研究 李江萍, 张洪海, 杨桂朋(49)

基于Landsat 8影像估算新安江水库总悬浮物浓度 张毅博, 张运林, 查勇, 施坤, 周永强, 王明珠(56)

温瑞塘河流域水体污染时空分异特征及污染源识别 马小雪, 王腊春, 廖玲玲(64)

人类活动影响下水化学特征的影响: 以西江中上游流域为例 于爽, 孙平安, 杜文越, 何师意, 李瑞(72)

太湖梅梁湾不同形态磷周年变化规律及藻类响应研究 汪明, 武晓飞, 李大鹏, 李祥, 黄勇(80)

鄱阳湖沉积物可转化态氮分布特征及其对江湖关系变化的响应 沈洪艳, 张绵绵, 倪兆奎, 王圣瑞(87)

影响浑太河流域大型底栖动物群落结构的环境因子分析 李艳利, 李艳粉, 徐宗学(94)

水华生消过程对巢湖沉积物微生物群落结构的影响 刁晓君, 李一葳, 王曙光(107)

蓝藻水华聚集对水葫芦生理生态的影响 吴婷婷, 刘国锋, 韩士群, 周庆, 唐婉莹(114)

汞在小浪底水库的赋存形态及其时空变化 程柳, 毛宇翔, 麻冰涓, 王梅(121)

三峡库区典型农田小流域土壤汞的空间分布特征 王娅, 赵铮, 木志坚, 王定勇, 余亚伟(130)

三峡库区农林畜复合小流域水体汞的时空变化特征 赵铮, 王娅, 木志坚, 王定勇(136)

环境条件对三峡库区消落带土壤中邻苯二甲酸二丁酯向上覆水静态迁移释放的影响 宋娇艳, 木志坚, 王强, 杨志丹, 王法(143)

三峡库区消落带土壤中溶解性有机质(DOM)吸收及荧光光谱特征 高洁, 江韬, 李璐璐, 陈雪霜, 魏世强, 王定勇, 闫金龙, 赵铮(151)

舟山渔场有色溶解有机物(CDOM)的三维荧光-平行因子分析 周倩倩, 苏荣国, 白莹, 张传松, 石晓勇(163)

太原市小店污灌区地下水中多环芳烃与有机氯农药污染特征及分布规律 李佳乐, 张彩香, 王焰新, 廖小平, 姚林林, 刘敏, 徐亮(172)

厦门杏林湾水系表层沉积物中PAHs分析与风险评估 程启明, 黄青, 廖祯妮, 苏丽, 刘兴强, 唐剑锋(179)

两种不同的地下水污染风险评价体系对比分析: 以北京市平原区为例 王红娜, 何江涛, 马文洁, 许真(186)

大冶湖滨岸带重金属水-土迁移特征与风险评价 张家泉, 李秀, 张全发, 李琼, 肖文胜, 王永奎, 张建春, 盖希光(194)

铁盐絮凝法从阳宗海湖水中除砷研究与现场扩大试验 陈景, 张曙, 杨项军, 黄章杰, 王世雄, 王莞, 韦群燕, 张良林, 肖军(202)

铋银氧化物混合物高效氧化降解四溴双酚A的研究 陈满堂, 宋洲, 王楠, 丁耀彬, 廖海星, 朱丽华(209)

一种纳米级不定形碳对水中四环素的吸附研究 吴亦潇, 李爱民, 汪的华, 张维昊(215)

磁性壳聚糖衍生物对阴离子染料的吸附行为 张聪璐, 胡筱敏, 赵研, 苏雷(221)

腐殖酸-高岭土复合体形成机制及对三氯乙烯的吸附 朱晓婧, 何江涛, 苏思慧(227)

降温过程对ANAMMOX工艺城市污水处理系统中微生物群落的影响 赵志瑞, 苗志加, 李铎, 崔丙健, 万敬敏, 马斌, 白志辉, 张洪勋(237)

FISH-NanoSIMS技术在环境微生物生态学上的应用研究 陈晨, 柏耀辉, 梁金松, 袁林江(244)

微囊藻毒素-LR对恶臭假单胞菌细胞活性和表面特性的影响 邓庭进, 叶锦韶, 彭辉, 刘芷辰, 刘则华, 尹华, 陈烁娜(252)

微生物除臭剂的筛选、复配及其除臭条件的优化 曾苏, 李南华, 盛洪产, 贺琨, 胡子全(259)

舟山青浜岛水体及海产品中有机氯农药的分布和富集特征 张泽洲, 邢新丽, 顾延生, 桂福坤, 祁士华, 黄焕芳, 瞿程凯, 张莉(266)

四川凉山彝青少年头发中多氯联苯污染水平的研究 周莹, 孙一鸣, 金军, 雷建容, 秦贵平, 何雪珠, 林尤静(274)

铜、毒死蜱单一与复合暴露对蚯蚓的毒性作用 徐冬梅, 王彦华, 王楠, 饶桂维(280)

外源硒对黄瓜抗性、镉积累及镉化学形态的影响 熊仕娟, 刘俊, 徐卫红, 谢文文, 陈蓉, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体(286)

厦门市道路灰尘中铂族元素的污染特征 洪振宇, 洪有为, 尹丽倩, 陈进生, 陈衍婷, 徐玲玲(295)

洋河流域不同土地利用类型土壤硒(Se)分布及影响因素 商靖敏, 罗维, 吴光红, 徐兰, 高佳佳, 孔佩儒, 毕翔, 程志刚(301)

不同钝化剂对重金属污染土壤稳定化效应的研究 吴烈善, 曾东梅, 莫小荣, 吕宏虹, 苏翠翠, 孔德超(309)

畜禽粪便有机肥中Cu、Zn在不同农田土壤中的形态归趋和有效性动态变化 商和平, 李洋, 张涛, 苏德纯(314)

华南某市生活垃圾组成特征分析 张海龙, 李祥平, 齐剑英, 陈永亨, 方建德(325)

生物沥浸耦合类Fenton氧化调理城市污泥 刘昌庚, 张盼月, 蒋娇娇, 曾成华, 黄毅, 徐国印(333)

基于平面波导型荧光免疫传感器的双酚A检测适用性研究 徐玮琦, 张永明, 周小红, 施汉昌(338)

一种新型“Turn-on”荧光探针用于硫化氢可视化检测 刘春霞, 马兴, 魏国华, 杜宇国(343)

典型黄土区油松树干液流变化特征分析 张涵丹, 卫伟, 陈利顶, 于洋, 杨磊, 贾福岩(349)

利用巨藻发酵联产氢气与挥发性有机酸的研究 赵晓娟, 范晓蕾, 郭荣波, 薛志欣, 杨智满, 袁宪正, 邱艳玲(357)

人工纳米颗粒在水体中的行为及其对浮游植物的影响 李曼璐, 姜玥璐(365)

《环境科学》征订启事(251) 《环境科学》征稿简则(294) 信息(236,243,273,300)

FISH-NanoSIMS 技术在环境微生物生态学上的应用研究

陈晨^{1,2}, 柏耀辉^{2*}, 梁金松², 袁林江¹

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085)

摘要: 微生物分子生态学技术的不断发展, 使得同时分析复杂生态系统中微生物的分布和功能特征成为可能. 为了研究荧光原位杂交-纳米二次离子质谱技术 (fluorescence *in situ* hybridization-Nano secondary ion mass spectroscopy, FISH-NanoSIMS) 在环境微生物生态学上的应用, 本研究采用稳定同位素标记的化合物 $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 、 $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$ 作为 C 源和 N 源, 分别对纯培养锰氧化细菌假单胞菌 *Pseudomonas* sp. QJX-1 (培养基加锰及不加锰两种条件下), 以及浅层土壤及厌氧污泥两种环境样品进行培养. 利用 FISH-NanoSIMS 技术检测培养后样品中微生物体内 $^{12}\text{C}^-$ 、 $^{13}\text{C}^-$ 、 $^{12}\text{C}^{14}\text{N}^-$ 、 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}^-$ 的分布特征及其丰度值, 进而探讨纯菌及环境样品中微生物利用同位素碳氮源的情况. 结果显示 所有样品细菌分布区域对应的同位素碳氮 (^{13}C 、 ^{15}N) 的含量均显著大于其自然丰度值, 这表明 *Pseudomonas* sp. QJX-1 及环境样品中的微生物均能代谢 $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 和 $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$. 研究进一步发现, *Pseudomonas* sp. QJX-1 在碳氮源消耗至较低浓度时才进行锰氧化; 浅层土壤和厌氧污泥中可能都存在同步硝化反硝化细菌群落. FISH 和 NanoSIMS 技术联用能同时分析环境样品中特定微生物的分布特征及代谢功能, 进而能更好地掌握环境样品中微生物群落的生理生态学特征.

关键词: FISH-NanoSIMS; 微生物生态学; 同位素标记; 碳氮源; 锰氧化

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)01-0244-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.2015.01.032

Application of FISH-NanoSIMS Technique in Environmental Microbial Ecology Study

CHEN Chen^{1,2}, BAI Yao-hui^{2*}, LIANG Jin-song², YUAN Lin-jiang¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Science, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: With the development of microbial ecology techniques, it is possible to analyze the distribution and function of microorganisms simultaneously in complex ecosystems. To explore the application of FISH-NanoSIMS in environmental microbial ecology study, our study used the stable isotope labeled compounds $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ and $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$ as C and N sources for cultivating the pure culture (manganese oxidizing bacteria, *Pseudomonas* sp. QJX-1) and environmental samples (the shallow soil and anaerobic sludge). FISH-NanoSIMS was used to detect the distribution of microorganisms and relatively quantify secondary ions ($^{12}\text{C}^-$, $^{13}\text{C}^-$, $^{12}\text{C}^{14}\text{N}^-$, $^{12}\text{C}^{15}\text{N}^-$) in cultivated samples, in order to explore the utilization of C and N isotopes sources by the pure culture and microorganisms in environment samples. The results showed that the contents of ^{13}C and ^{15}N in the area of bacteria were significantly greater than the natural abundance in all samples. It indicated that *Pseudomonas* sp. QJX-1 and some specific bacteria in environmental samples could metabolize $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ and $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$. Furthermore, this study revealed that for *Pseudomonas* sp. QJX-1, the manganese oxidation only occurred when the carbon and nitrogen were consumed to a low level. For environmental samples, the bacterial nitrification and denitrification were both observed in the shallow soil and anaerobic sludge. In a word, our study demonstrated that the combination of FISH and NanoSIMS could simultaneously examine microbial distribution and microbial metabolic activity in environmental samples, which will help us to obtain the eco-physiology information of microbial community.

Key words: FISH-NanoSIMS; microbial ecology; isotope labeling; carbon and nitrogen sources; manganese oxidation

目前, 环境微生物生态学的主要研究目标是建立复杂环境中微生物多样性和微生物生理生化特征之间的联系^[1], 而传统的实验室富集分离纯培养方法无法使人们全面了解自然环境中微生物的多样性^[2]. 通过免培养的分子生态学技术, 如聚合酶链式反应 (PCR) 及克隆测序等, 直接提取环境微生物

样品的 DNA, 进行 PCR 扩增后构建克隆文库并测

收稿日期: 2014-06-10; 修订日期: 2014-07-10

基金项目: 环境保护公益性行业科研专项 (201409029); 环境水质学国家重点实验室基金项目 (13Z03ESPCR)

作者简介: 陈晨 (1991 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为生物滤池中生物锰氧化物的生成及应用, E-mail: stzchen@126.com

* 通讯联系人, E-mail: yhbai@rcees.ac.cn

序,并与已知序列进行对比,可得到微生物的多样性和系统发育信息^[3]。但该方法需要将细胞破碎并从中提取核酸作为模板,很难将 PCR 的结果与微生物的形态结构联系起来,因而无法在原位上观察微生物的形态结构和代谢功能^[4]。

FISH-SIMS,即把荧光原位杂交技术(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)与二次离子质谱技术(secondary ion mass spectrometry, SIMS)相结合。FISH 技术将荧光染料标记的寡核苷酸探针与微生物样品进行杂交,并用激光共聚焦扫描显微镜(CLSM)观察定位样品中的微生物;再利用 SIMS 技术检测上述已定位微生物体内的元素分布与丰度,两者的联用能够实现在原位上同时观察自然环境样品中微生物的形态结构、种类分布及功能代谢信息^[5]。2001 年,Orphan 首次将 FISH 与 SIMS 技术结合用于监测自然环境中微生物的代谢信息,但 SIMS 技术的分辨率较低,不能有效地识别微生物^[2]。纳米二次离子质谱技术(nano secondary ion mass spectroscopy, NanoSIMS)的出现,弥补了 SIMS 的不足。新型 NanoSIMS 50L 具有高空间分辨率、高传输效率及极高的灵敏度^[6],广泛应用于材料、生物医学、地质学等领域的研究^[7-9]。实际应用中 NanoSIMS 技术常结合稳定同位素技术,与扫描/透射电镜(SEM/TEM)、荧光原位杂交(FISH)等^[10-12]技术联用,在微生物生态学研究中的突出巨大的潜力^[13-15]。

本研究分别以纯菌培养体系及复杂环境体系为例,探讨了如何利用 FISH-NanoSIMS 技术实现在原位同时观察微生物的种群空间分布并获取特定功能代谢信息,以期为该技术在环境微生物生态学上的应用提供方法学支持。

1 材料与方法

1.1 样品培养

1.1.1 纯菌培养体系

菌株:试验采用假单胞菌 QJX-1 (*Pseudomonas* sp. QJX-1),该菌株由湖南湘潭堆放锰矿的土壤分离纯化得到,能将二价锰离子氧化生成锰氧化物(以四价为主)。

培养基:菌株培养采用 PYG^[16] 培养基(peptone-yeast extract-glucose),具体成分为蛋白胨、葡萄糖、酵母膏各 $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 试验所用缓冲液采用终浓度为 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HEPES (*N*-2-

Hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid, 4-羟乙基哌嗪乙磺酸),过滤灭菌($0.22 \mu\text{m}$ 滤膜)后加至高压灭菌后的培养基, pH 值为 7.0~7.5。

菌株活化:取 3 mL 保存于 -80°C 冰箱的菌液,加至装有 27 mL 新鲜 PYG 培养基的 100 mL 锥形瓶中,置于恒温摇床(30°C , $170 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 振荡培养 24 h,取 3 mL 培养后的菌液,重复上述操作两次,完成菌株活化。

菌株培养:取 10 mL 活化后的菌液,加至装有 90 mL 新鲜 PYG 培养基的 250 mL 锥形瓶中,加入 Mn^{2+} (终浓度为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),并加入 ^{13}C - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 、 ^{15}N - NH_4Cl ,使其 C、N 质量比为 100:5,置于恒温摇床(30°C , $170 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 中分别振荡培养 2 d、10 d、20 d。同时设置 3 个不加 Mn^{2+} 的处理作为对照。

1.1.2 复杂环境样品体系

选取土壤及活性污泥作为典型研究对象。土壤采自花园植物根部浅层土壤,活性污泥取自清河污水处理厂二沉池回流污泥。分别称取 4 g 土壤(湿重)和 4 g 活性(湿重)污泥至两个细口瓶中,加灭菌去离子水至 100 mL 混匀,并加入 ^{13}C - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 、 ^{15}N - NH_4Cl ,使其 C、N 质量比为 200:5,充入氮气,使其处于厌氧状态,密封,分别置于 30°C 恒温培养箱中静置培养 10 d。

1.2 样品的处理

取 2.0 mL 上述培养后的样品于离心管中, $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 2 min,将沉淀用 $1 \text{ mL } 50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)清洗 3 次, $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 2 min;将沉淀悬于 0.2 mL 的 PBS 中,加入 0.6 mL 4% 的多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)溶液,在 4°C 下放置 3 h 后取出, 8000 g 离心 2 min;将沉淀重悬于 PBS 中,轻微振荡 3 次,快速离心去上清后将沉淀完全悬于 $200 \mu\text{L}$ PBS 中,并加入 $200 \mu\text{L}$ 无水乙醇, -20°C 保存备用。

1.3 荧光原位杂交

将直径为 10 mm 的圆形载玻片放入无水乙醇中浸泡,酒精灯灼烧后浸入含有 10% 十二水硫酸铬钾的明胶溶液中,静置 2 h 后取出,在室温条件($18\sim 25^\circ\text{C}$)下放置 12 h;取 $2 \mu\text{L}$ 上述处理后的样品,均匀涂于载玻片中央,自然风干后依次用 50%、80%、100% 的乙醇/PBS 各脱水 3 min,自然风干后进行杂交试验。

试验中所用寡核苷酸探针及其对应的染料见表 1,按照杂交缓冲液中甲酰胺(FA%)浓度由低到高

的顺序进行杂交,即依次杂交 TBD1419、EUB338. 为避免荧光淬灭,以下操作均在暗室中进行. 将滤纸折叠成圆筒状,紧贴管壁放入杂交管中,加入 2 mL 杂交缓冲液,使滤纸全部润湿. 将涂有样品的载玻片置于杂交管中,同时取 9 μL 杂交缓冲液和 1 μL ($50 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 的探针混合后用锡箔纸包裹避光,放入 46 $^{\circ}\text{C}$ 杂交炉中预热 30 min; 然后取 9 μL 预热后的探针混合液均匀涂在样品上,移回杂交管中后置于杂交炉 (46 $^{\circ}\text{C}$, 12 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$) 内杂交 3.5

h. 同时将淋洗缓冲液和剩余的杂交缓冲液放入杂交炉中预热 3.5 h. 杂交完成后,取出载玻片,倾斜 45 $^{\circ}$ 置于培养皿中,依次用预热后杂交缓冲液、淋洗缓冲液和 4 $^{\circ}\text{C}$ 超纯水从玻片顶部冲洗,用滤纸吸干水分后室温放置 12 h; 再将其置于冰上,用 DAPI ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Sigma) 试剂染色 10 min 后用超纯水洗去多余的 DAPI 染料,迅速用滤纸吸干水分,静置 12 h 后均匀涂上防荧光淬灭剂,封片观察.

表 1 试验中所用探针及染料

Table 1 Probes and dyes used in the experiment

探针	序列(5'-3'列)	目标位置	特异种属	荧光染料	颜色
EUB338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	338-355	细菌类	Cy5	红色 ^[17]
TBD1419	ACTTCTGCCAGATTCCAC	1419-1436	反硝化细菌	Cy3	绿色 ^[18]
背景染料			所有细胞	DAPI	蓝色 ^[18]

1.4 FISH 的观察与数据分析

用激光共聚焦荧光显微镜 (CLSM, 德国, LSM780) 观察杂交完的载玻片,先用低倍镜 (10 \times) 扫描拼成 7 \times 7 的全图,找出特定细胞所在区域并定位,然后用高倍镜 (20 \times) 对定位区域扫描成像.

1.5 NanoSIMS 的观察与数据分析

利用中国科学院地质与地球物理研究所的 NanoSIMS 50L 型纳米离子探针质谱仪 (法国, Cameca) 进行元素分析. 样品中 N^{-} 以 CN^{-} 离子团形式检测,设置电子倍增探测器收集二次离子 $^{12}\text{C}^{-}$ 、 $^{13}\text{C}^{-}$ 、 $^{12}\text{C}^{14}\text{N}^{-}$ 、 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}^{-}$. 将上述定位后的载玻片进行喷金处理,置于样品腔内. 先用约 1 nA 的高速电子流预溅射样品至 100 nm 的深度,再用 1.0 pA 一次离子源 Cs^{+} 源轰击样品,样品表面溅射出的二次离子束,通过脉冲计数收集检测后呈现出定量二次离子图像. 轰击面积大小约为 150 nm,扫描像素为 256 \times 256,停留时间为每像素 20 ms,图像尺寸在 10 $\mu\text{m} \times 10 \mu\text{m} \sim 25 \mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ 之间,扫描层数由样品特性决定,确保不同扫描尺寸下得到的结果保持相同. 本试验实际扫描两层,最终图像为两层叠加修正而成.

依据样品在 CLSM 上的成像 (蓝色代表细胞,红色代表细菌,绿色代表反硝化细菌),选取其在 NanoSIMS 上的观察区域. 对于纯培养样品,当蓝色和红色同时存在时,选择该区域为观察区域;对于复杂环境样品,当 $^{13}\text{C}^{-}$ 或 ($^{12}\text{C}^{15}\text{N}^{-}$) 出现富集现象且蓝色和红色 (或绿色) 同时存在时,则选择该区域作为观察区域. 扫描分析完成后,导出图像,用软件 Image J 修正处理,并得出不同元素比值图. 区域内

元素 (二次离子) 分布及丰度大小由图像观察得出,样品中同位素碳氮 (^{13}C 、 ^{15}N) 的含量分别以二次离子 $^{13}\text{C}^{-}$ 与 $^{12}\text{C}^{-}$ 及 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}^{-}$ 与 $^{12}\text{C}^{14}\text{N}^{-}$ 之间的比值表示,即以 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}/^{12}\text{C}^{14}\text{N}$ 比值图表示,对每个样品的 3 个平行样进行统计,并与其自然丰度值^[19] ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0.0110$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0.00370$) 进行对比,分析微生物对同位素碳氮的代谢情况.

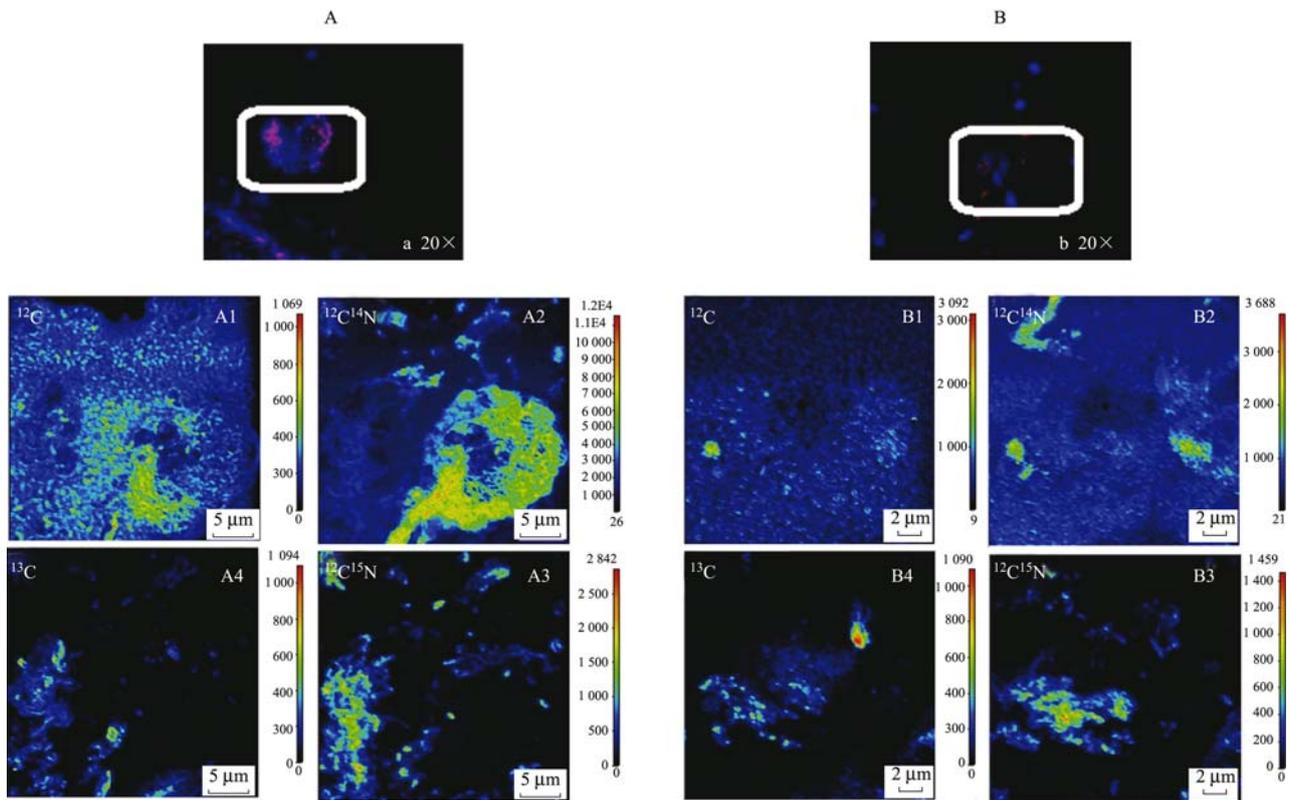
2 结果与讨论

2.1 纯菌培养体系

2.1.1 NanoSIMS 应用分析

为探讨 FISH-NanoSIMS 技术在纯菌培养体系上的应用,按照 1.5 节中所示方法,找出观察区域 (见图 1 中 A、B) 并在 NanoSIMS 50L 上观察,结果见图 1 中 A1~A4、B1~B4. 观察发现 FISH 图中细菌分布区域 (红色) 内同位素碳氮 (^{13}C 、 ^{15}N) 的丰度值显著大于其自然丰度值,说明该锰氧化菌能够代谢同位素化合物 $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 和 $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$. Amann 等^[20] 曾应用该技术研究纯培养体系中氨氧化古菌对碳源的利用情况,研究表明氨氧化古菌能够代谢 ^{13}C -丙酮酸.

为了探讨 FISH-NanoSIMS 技术对纯菌培养体系中同位素碳氮含量的测定误差,以培养 10 d 后的锰氧化菌 (培养基加 Mn^{2+} 及不加 Mn^{2+}) 为对象,分别对其 3 个平行区域中 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}/^{12}\text{C}^{14}\text{N}$ 值进行统计分析,结果见表 2. 4 组数据中,相对误差均小于 10%. 说明 FISH-NanoSIMS 在测量纯菌培养样品碳氮含量时误差较小,表明该技术对纯菌培养体系的测定具有较好的平行性.



A、B 分别为培养 10 d 的 *Pseudomonas* sp. QJX-1 (A: 培养基加 Mn^{2+} , B: 不加 Mn^{2+}), a、b 为对应 FISH 图, 蓝色为背景 DAPI 染料; 红色为 EUB338, 定位细菌. A1 ~ A4、B1 ~ B4 为 A、B 对应 NanoSIMS 图, 图中右侧彩色条带代表对应元素丰度值

图 1 *Pseudomonas* sp. QJX-1 的 FISH-NanoSIMS 分析

Fig. 1 FISH-NanoSIMS analysis of *Pseudomonas* sp. QJX-1

表 2 *Pseudomonas* sp. QJX-1 的 NanoSIMS 分析误差

Table 2 NanoSIMS statistics analysis for *Pseudomonas* sp. QJX-1

项目	锰氧化菌(培养基无 Mn^{2+})			锰氧化菌(培养基加 Mn^{2+})		
	含量/%	平均值 \pm 标准偏差	相对误差/%	含量/%	平均值 \pm 标准偏差	相对误差/%
$^{13}C/^{12}C$	18 809.00			25 099.00		
	22 073.00	20 189.33 \pm 1 689.21	± 8.37	24 345.00	26 038.67 \pm 2 311.49	± 8.88
	19 686.00			28 672.00		
$^{12}C^{15}N/^{12}C^{14}N$	10 039.00			9 337.00		
	10 282.00	9 822.00 \pm 598.76	± 6.09	12 407.00	10 346.67 \pm 1 784.42	± 1.72
	9 145.00			9 296.00		

2.1.2 *Pseudomonas* sp. QJX-1 锰氧化过程及其对同位素碳氮源的代谢

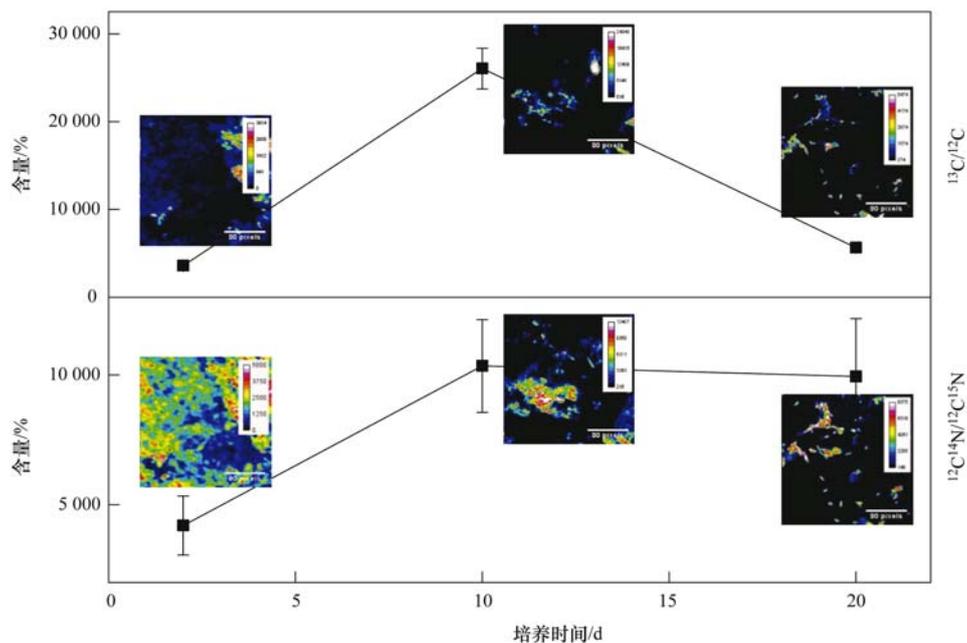
研究探讨了 *Pseudomonas* sp. QJX-1 在不同时间的锰氧化现象, 以及其体内同位素碳氮含量随时间的变化趋势. 对每个样品的 3 个平行区域的平均值进行分析, 见图 2. 结果发现: 随着培养时间增加, 锰氧化菌体内同位素碳氮含量先增加后减少, 培养 20 d 后, 同位素碳氮总量明显减少; 另外对试验现象进行观察, 发现菌体在培养 20 d 后, 菌液中开始生成红褐色颗粒状锰氧化物, 即出现锰氧化现象. 由此得出, 在 Mn^{2+} 存在条件下, 当碳氮消耗至浓度

较低时, *Pseudomonas* sp. QJX-1 才会进行锰氧化. 这进一步证实了笔者以前的研究结果, 锰氧化细菌 *Pseudomonas* sp. QJX-1 属贫营养微生物, 这种微生物比表面积很大、比增长速率很小、内源呼吸速率常数 (b) 较低、饱和常数 (K_s) 较小, 其在寡营养中生长良好^[21].

2.2 复杂环境体系

2.2.1 NanoSIMS 应用分析

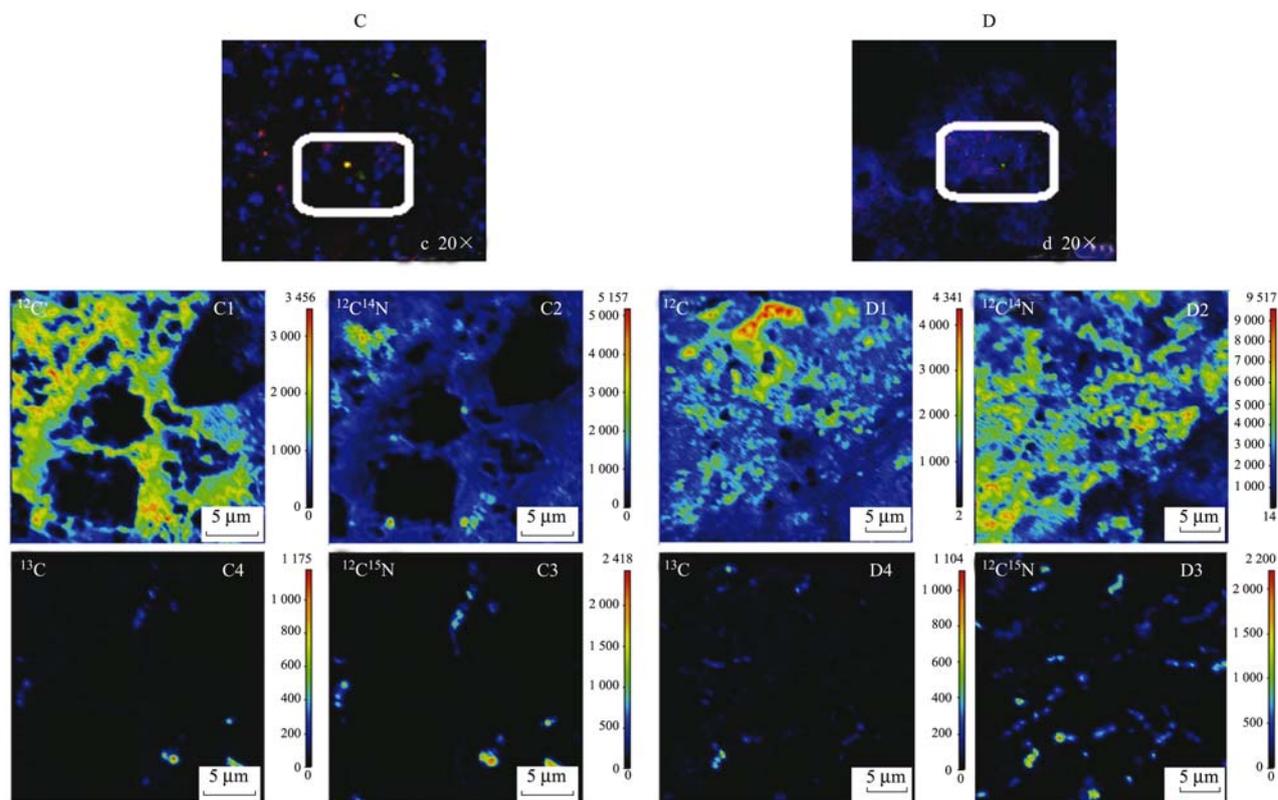
为了探讨 FISH-NanoSIMS 技术在复杂环境体系中的应用, 按照 1.5 节中所述方法, 找出观察区域 (见图 3 中 C、D), 并在 NanoSIMS 50L 上观察, 结果



彩色条带代表对应元素含量大小,误差线代表3个平行样品的标准偏差

图2 *Pseudomonas sp.* QJX-1 培养过程中体内同位素碳氮含量变化

Fig. 2 Contents of carbon and nitrogen isotopes during cultivation of *Pseudomonas sp.* QJX-1



C、D 分别为培养 10 d 的浅层土壤、厌氧污泥,c、d 为对应 FISH 图,蓝色为背景 DAPI 染料;红色为 EUB338,定位细菌;绿色为 TBD1419,定位反硝化细菌;C1 ~ C4、D1 ~ D4 为 C、D 对应 NanoSIMS 图,图中右侧彩色条带代表对应元素丰度值

图3 环境复杂样品的 FISH-NanoSIMS 分析

Fig. 3 FISH-NanoSIMS analysis of complex environmental samples

见图 3 中 C1 ~ C4、D1 ~ D4. 观察发现 C、D 中出现反硝化细菌(绿色),表明浅层土壤和厌氧污泥中均存在反硝化细菌;另外还发现 FISH 图中细菌分布区域(红色)内同位素碳氮(^{13}C 、 ^{15}N)的丰度值显著大于其自然丰度值,表明浅层土壤和厌氧污泥均能够代谢 ^{13}C - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 、 ^{15}N - NH_4Cl . 该技术在研究复杂环境体系中微生物对同位素碳源的代谢中已有应用,如 Li 等^[22]利用该技术证明反应器复杂微生物群落中的古菌能够代谢 ^{13}C -

CH_2OH .

为了探讨 FISH-NanoSIMS 技术对复杂环境体系中同位素碳氮含量的测定误差,以培养 10 d 后的浅层土壤和厌氧污泥为对象,分别对其 3 个平行区域中 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{12}\text{C}^{15}\text{N}/^{12}\text{C}^{14}\text{N}$ 值进行统计分析,结果见表 3. 4 组数据中,相对误差均在 10% ~ 20% 之间,说明 FISH-NanoSIMS 在测量复杂环境样品时的误差较纯菌培养样品大,表明该技术对纯菌培养样品中同位素碳氮含量的测定比复杂环境样品中更为准确.

表 3 环境样品的 NanoSIMS 分析误差

Table 3 NanoSIMS statistics analysis for environmental samples

项目	浅层土壤			厌氧污泥		
	含量/%	平均值 \pm 标准偏差	相对误差/%	含量/%	平均值 \pm 标准偏差	相对误差/%
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	6 646.00			5 987.00		
	8 599.00	7 729.67 \pm 993.99	\pm 12.87	5 659.00	5 305.00 \pm 915.48	\pm 17.26
	7 944.00			4 263.00		
$^{12}\text{C}^{15}\text{N}/^{12}\text{C}^{14}\text{N}$	13 220.00			5 221.00		
	10 000.00	10 788.33 \pm 2 148.84	\pm 19.92	6 611.00	5 185.00 \pm 716.68	\pm 13.82
	9 145.00			5 613.00		

2.2.2 反硝化细菌对同位素碳氮源的代谢

为探讨复杂环境体系中反硝化细菌对同位素碳氮的代谢情况,运用 Image J 软件画出反硝化菌轮廓,分析反硝化细菌体内碳氮的含量,每个样品选择 3 个平行区域,进行统计分析,结果见图 4. 对比发现土壤和污泥中反硝化细菌体内同位素氮的含量远远大于其在自然条件下的含量,说明该样品中的反硝化细菌能够利用 ^{15}N - NH_4Cl ,分析由于复杂环境体系中微环境的改变,使得浅层土壤和厌氧污泥中可能存在同步硝化反硝化过程^[23].

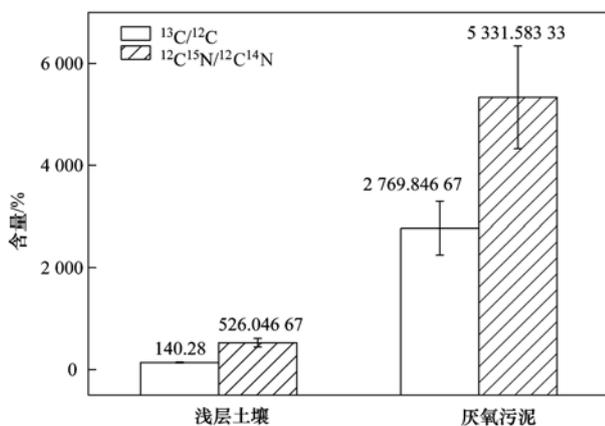
2.3 FISH-NanoSIMS 技术应用总结

FISH-NanoSIMS 技术的关键在于定位^[24],试验

过程中共尝试了以下 3 种定位方法: ①特殊形状定位. 根据样品的特殊形状,识别出观察区域. 但并非所有样品都有特殊形状,因此该方法具有很大的局限性. ②坐标转换定位. 在样品上标记参考点,利用 CLSM 读出参考点以及观察区域坐标,导出观察区域相对于参考点的相对坐标,在实际 NanoSIMS 检测下找到参考点,输入相对坐标,便找到对应的观察区域. 而由于显微镜下参考点的选取有差异,故该方法容易出现误差. ③位置定位. 在圆形玻片上刻上 $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ 的方格,运用 CLSM 拼出样品全图,找出观察区域所在格子的位置,在 NanoSIMS 上直接找出观察区域. 该方法准确可靠,故本试验最终采用该方法定位.

试验对 FISH-NanoSIMS 技术的检测误差进行分析,发现该技术对纯菌培养体系和复杂环境体系中的元素分析均存在一定的误差,这种误差可归因于样品自身基质^[24]以及仪器本身^[25]的差异. 因此制定统一规范来校正分析过程中样品基质及仪器质谱结构对试验结果所造成的误差显得尤为重要^[26].

FISH 和 NanoSIMS 技术的联合使用,能够在原位上观察到微生物种群以及单细胞的位置分布,结合稳定同位素标记技术同时得到其功能代谢信息,为研究环境中同时监测多细胞以及单细胞表面形态、功能代谢、定量描述细胞行为变化打下了坚实的基础,使得环境微生物生态学研究取得了重大突破. 未来研究将着重于制定 NanoSIMS 试验规范校



误差线代表 3 个平行样品的标准偏差

图 4 培养 10 d 后反硝化细菌体内的同位素碳氮含量

Fig. 4 Contents of carbon and nitrogen isotopes inside denitrifying bacteria after 10 d cultivation

正分析误差,以及多种多样的胞外标记技术的开发.

3 结论

(1)将 FISH-NanoSIMS 技术用于检测微生物纯菌培养体系及复杂环境体系下特定微生物的分布特征及其体内元素的种类和分布,结果发现锰氧化菌 *Pseudomonas* sp. QJX-1、浅层土壤及厌氧污泥中的微生物均能够利用稳定同位素标记的化合物 $^{13}\text{C}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 和 $^{15}\text{N}-\text{NH}_4\text{Cl}$.

(2)通过 FISH-NanoSIMS 技术监测锰氧化菌培养过程中体内同位素碳氮含量变化,观察分析结果表明在 Mn^{2+} 存在条件下,当培养基中碳氮源被该菌消耗至较低浓度时才出现锰氧化现象.

(3)对 FISH-NanoSIMS 测定的 3 个平行样品中同位素碳氮含量进行误差分析,结果表明,该技术的测定误差在可接受范围内(相对误差 $< 20\%$),且对纯菌培养体系中同位素碳氮含量的分析误差小于复杂环境体系.因此该技术用于纯菌培养体系及复杂环境体系中元素的测定时,数据稳定可信,是一种能够广泛用于微生物分子生态学研究中的技术.

参考文献:

- [1] Gutierrez-Zamora M L, Manfield M. An appraisal of methods for linking environmental processes to specific microbial taxa [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2010, **9** (2): 153-185.
- [2] 胡行伟, 张丽梅, 贺纪正. 纳米二次离子质谱技术 (NanoSIMS) 在微生物生态学研究中的应用 [J]. *生态学报*, 2013, **33** (2): 348-357.
- [3] 刘卫国, 梁存珍, 杨金生, 等. 16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性 [J]. *环境科学*, 2013, **34** (2): 767-772.
- [4] 胡稳奇, 张志光. PCR 技术在环境微生物检测中的应用 [J]. *环境科学*, 1994, **15** (4): 80-83, 96.
- [5] Halm H, Musat N, Lam P, *et al.* Co-occurrence of denitrification and nitrogen fixation in a meromictic lake, Lake Cadagno (Switzerland) [J]. *Environmental Microbiology*, 2009, **11** (8): 1945-1958.
- [6] Guerquin-Kern J L, Wu T D, Quintana C, *et al.* Progress in analytical imaging of the cell by dynamic secondary ion mass spectrometry (SIMS microscopy) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2005, **1724** (3): 228-238.
- [7] Hoppe P, Ott U, Lugmair G W. NanoSIMS, the new tool of choice: ^{26}Al , ^{44}Ti , ^{49}V , ^{53}Mn , ^{60}Fe , and more [J]. *New Astronomy Reviews*, 2004, **48** (1-4): 171-176.
- [8] Kailas L, Audinot J N, Migeon H N, *et al.* Surface segregational behaviour studied as an effect of thickness by SIMS and AFM in annealed PS-PMMA blend and block copolymer thin films [J]. *Composite Interfaces*, 2006, **13** (4-6): 423-439.
- [9] Hoppe P. NanoSIMS: A new tool in cosmochemistry [J]. *Applied Surface Science*, 2006, **252** (19): 7102-7106.
- [10] Liu X R, Eusterhues K, Thieme J, *et al.* STXM and NanoSIMS Investigations on EPS Fractions before and after Adsorption to Goethite [J]. *Environmental Science and Technology*, 2013, **47** (7): 3158-3166.
- [11] Bluhm H, Andersson K, Araki T, *et al.* Soft X-ray microscopy and spectroscopy at the molecular environmental science beamline at the Advanced Light Source [J]. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 2006, **150** (2-3): 86-104.
- [12] Behrens S, Lösekann T, Pett-Ridge J, *et al.* Linking microbial phylogeny to metabolic activity at the single-cell level by using enhanced element labeling-catalyzed reporter deposition fluorescence in situ hybridization (EL-FISH) and NanoSIMS [J]. *Applied and Environment Microbiology*, 2008, **74** (10): 3143-3150.
- [13] Ploug H, Adam B, Musat N, *et al.* Carbon, nitrogen and O_2 fluxes associated with the cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea [J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2011, **5** (9): 1549-1558.
- [14] Ploug H, Musat N, Adam B, *et al.* Carbon and nitrogen fluxes associated with the cyanobacterium *Aphanizomenon* sp. in the Baltic Sea [J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2010, **4** (9): 1215-1223.
- [15] Tourna M, Stieglmeier M, Spang A, *et al.* Nitrososphaera viennensis, an ammonia oxidizing archaeon from soil [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108** (20): 8420-8425.
- [16] Adams L F, Ghiorse W C. Influence of manganese on growth of a sheathless strain of *Leptothrix discophora* [J]. *Applied and Environment Microbiology*, 1985, **49** (3): 556-562.
- [17] 陈瑛, 任南琪, 李永峰, 等. 微生物荧光原位杂交 (FISH) 实验技术 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, **40** (4): 546-549.
- [18] Maestre J P, Rovira R, Álvarez-Hornos F J, *et al.* Bacterial community analysis of a gas-phase biotrickling filter for biogas mimics desulfurization through the rRNA approach [J]. *Chemosphere*, 2010, **80** (8): 872-880.
- [19] Lechene C, Hillion F, McMahon G, *et al.* High-resolution quantitative imaging of mammalian and bacterial cells using stable isotope mass spectrometry [J]. *Journal of Biology*, 2006, **5** (6): 20.
- [20] Amann R, Fuchs B M. Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, **6** (5): 339-348.
- [21] 周娜娜, 柏耀辉, 梁金松, 等. *Pseudomonas* sp. QJX-1 的锰氧化特性研究 [J]. *环境科学*, 2014, **35** (2): 740-745.
- [22] Li T L, Wu T D, Mazéas L, *et al.* Simultaneous analysis of microbial identity and function using NanoSIMS [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10** (3): 580-588.
- [23] 杨麒, 李小明, 曾光明, 等. 同步硝化反硝化机理的研究进

- 展[J]. 微生物学通报, 2003, **30**(4): 88-91.
- [24] Herrmann A M, Ritz K, Nunan N, *et al.* Nano-scale secondary ion mass spectrometry — A new analytical tool in biogeochemistry and soil ecology: A review article [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, **39**(8): 1835-1850.
- [25] Slodzian G. Challenges in localized high precision isotope analysis by SIMS[J]. *Applied Surface Science*, 2004, **231-232**: 3-12.
- [26] Orphan V J, House C H. Geobiological investigations using secondary ion mass spectrometry: microanalysis of extant and paleo-microbial processes[J]. *Geobiology*, 2009, **7**(3): 360-372.

欢迎订阅 2015 年《环境科学》

《环境科学》创刊于 1976 年,由中国科学院主管,中国科学院生态环境研究中心主办,是我国环境科学学科中最早创刊的学术性期刊。

《环境科学》自创刊以来,始终坚持“防治污染,改善生态,促进发展,造福人民”的宗旨,报道我国环境科学领域内具有创新性高水平,有重要意义的基础研究和应用研究成果,以及反映控制污染,清洁生产和生态环境建设等可持续发展的战略思想、理论和实用技术等。

《环境科学》在国内外公开发行,并在国内外科技界有较大影响,被国内外一些重要检索系统收录,如美国医学索引 MEDLINE;美国化学文摘 CA;俄罗斯文摘杂志 AJ;美国生物学文摘预评 BP;美国医学索引 IM;日本科学技术情报中心数据库 JICST;英国动物学记录 ZR;剑桥科学文摘(CSA):Environmental Sciences;剑桥科学文摘(CSA):Pollution Abstracts;剑桥科学文摘(CAS):Life Sciences Abstracts 等;国内的检索系统有中国科技论文统计与引文数据库(CSTPCD);中文科技期刊数据库(维普);中国期刊全文数据库(CNKI);数字化期刊全文数据库(万方);中国科学引文数据库(CSCD);中国生物学文摘等。

全国各地邮局均可订阅,如有漏订的读者可直接与编辑部联系,办理补订手续。

《环境科学》2015 年为 16 开本,120 元/册,全年 12 期。

国内统一刊号:CN11-1895/X 国际标准刊号:ISSN 0250-3301

国外发行代号:M 205 国内邮发代号:2-821

编辑部地址:北京市海淀区双清路 18 号(2871 信箱) 邮编:100085

电话:010-62941102;传真:010-62849343;E-mail:hjcx@rcees.ac.cn;网址:www.hjcx.ac.cn

CONTENTS

Ozone Source Apportionment at Urban Area during a Typical Photochemical Pollution Episode in the Summer of 2013 in the Yangtze River Delta	LI Hao, LI Li, HUANG Cheng, <i>et al.</i>	(1)
Pollution Characteristics and Ozone Formation Potential of Ambient VOCs in Winter and Spring in Xiamen	XU Hui, ZHANG Han, XING Zhen-yu, <i>et al.</i>	(11)
Temporal and Spatial Characteristics of Atmospheric NO ₂ over Hainan Island and the Pollutant Sources in Recent 10 Years	FU Chuan-bo, CHEN You-long, DAN Li, <i>et al.</i>	(18)
Composition of Organic Carbon/Elemental Carbon and Water-soluble Ions in Rice Straw Burning	HONG Lei, LIU Gang, YANG Meng, <i>et al.</i>	(25)
Gas Chromatography with a Pulsed Discharge Helium Ionization Detector for Measurement of Molecular Hydrogen(H ₂) in the Atmosphere	LUAN Tian, FANG Shuang-xi, ZHOU Ling-xi, <i>et al.</i>	(34)
Partial Pressure of CO ₂ and CO ₂ Degassing Fluxes of Huayankou and Xiaolangdi Station Affected by Xiaolangdi Reservoir	ZHANG Yong-ling, YANG Xiao-lin, ZHANG Dong	(40)
Distribution of Biogenic Organic Dimethylated Sulfur Compounds and Its Influencing Factors in the East China Sea in Summer	LI Jiang-ping, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng	(49)
Remote Sensing Estimation of Total Suspended Matter Concentration in Xin'anjiang Reservoir Using Landsat 8 Data	ZHANG Yi-bo, ZHANG Yun-lin, ZHA Yong, <i>et al.</i>	(56)
Spatio-temporal Characteristics and Source Identification of Water Pollutants in Wenruiang River Watershed	MA Xiao-xue, WANG La-chun, LIAO Ling-ling	(64)
Effect of Hydrochemistry Characteristics Under Impact of Human Activity: A Case Study in the upper Reaches of the Xijiang River Basin	YU Shi, SUN Ping-an, DU Wen-yue, <i>et al.</i>	(72)
Annual Variation of Different Phosphorus Forms and Response of Algae Growth in Meiliang Bay of Taihu Lake	WANG Ming, WU Xiao-fei, LI Da-peng, <i>et al.</i>	(80)
Distribution of Transferable Nitrogen in Poyang Lake Sediments and Its Response to the Variation of River-Lake Relationship	SHEN Hong-yan, ZHANG Mian-mian, NI Zhao-kui, <i>et al.</i>	(87)
Effect of Environmental Factors on Macroinvertebrate Community Structure in the Huntai River Basin in the Huntai River Basin	LI Yan-li, LI Yan-fen, XU Zong-xue	(94)
Effects of Outbreak and Extinction of Algal Blooms on the Microbial Community Structure in Sediments of Chaohu Lake	DIAO Xiao-jun, LI Yi-wei, WANG Shu-guang	(107)
Impacts of Algal Blooms Accumulation on Physiological Ecology of Water Hyacinth	WU Ting-ting, LIU Guo-feng, HAN Shi-qun, <i>et al.</i>	(114)
Speciation and Spatial-temporal Variation of Mercury in the Xiaolangdi Reservoir	CHENG Liu, MAO Yu-xiang, MA Bing-juan, <i>et al.</i>	(121)
Spatial Distribution of Mercury in Soils of a Typical Small Agricultural Watershed in the Three Gorges Reservoir Region	WANG Ya, ZHAO Zheng, MU Zhi-jian, <i>et al.</i>	(130)
Temporal and Spatial Variation of Mercury in Water of Agro-forestry and Livestock Compound Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	ZHAO Zheng, WANG Ya, MU Zhi-jian, <i>et al.</i>	(136)
Effect of External Condition on the Static Migration and Release of Dibutyl-phthalate in the Soil of the Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir to the Overlying Water	SONG Jiao-yan, MU Zhi-jian, WANG Qiang, <i>et al.</i>	(143)
Ultraviolet-Visible(UV-Vis) and Fluorescence Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter(DOM) in Soils of Water-Level Fluctuation Zones of the Three Gorges Reservoir Region	GAO Jie, JIANG Tao, LI Lu-lu, <i>et al.</i>	(151)
Characterization of Chromophoric Dissolved Organic Matter(CDOM) in Zhoushan Fishery Using Excitation-Emission Matrix Spectroscopy(EEMs) and Parallel Factor Analysis(PARAFAC)	ZHOU Qian-qian, SU Rong-guo, BAI Ying, <i>et al.</i>	(163)
Pollution Characteristics and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organochlorine Pesticides in Groundwater at Xiaodian Sewage Irrigation Area, Taiyuan City	LI Jia-le, ZHANG Cai-xiang, WANG Yan-xin, <i>et al.</i>	(172)
Risk Assessment and Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Surface Sediments of Xinglin Bay Suburb Rivers of Xiamen	CHENG Qi-ming, HUANG Qing, LIAO Zhen-ni, <i>et al.</i>	(179)
Comparative Analysis of Two Different Methods for Risk Assessment of Groundwater Pollution: A Case Study in Beijing Plain	WANG Hong-na, HE Jiang-tao, MA Wen-jie, <i>et al.</i>	(186)
Transportation and Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Water-Soil from the Riparian Zone of Daye Lake, China	ZHANG Jia-quan, LI Xiu, ZHANG Quan-fa, <i>et al.</i>	(194)
Arsenic Removal by Coagulation Process and the Field Expanding Experiments for Yangzonghai Lake	CHEN Jing, ZHANG Shu, YANG Xiang-jun, <i>et al.</i>	(202)
Efficient Oxidative Degradation of Tetrabromobisphenol A by Silver Bismuth Oxide	CHEN Man-tang, SONG Zhou, WANG Nan, <i>et al.</i>	(209)
Removal of Tetracycline by a Kind of Nano-Sized Amorphous Carbon	WU Yi-xiao, LI Ai-min, WANG Di-hua, <i>et al.</i>	(215)
Adsorption Behavior of Anionic Dyes onto Magnetic Chitosan Derivatives	ZHANG Cong-lu, HU Xiao-min, ZHAO Yan, <i>et al.</i>	(221)
Forming Mechanism of Humic Acid-Kaolin Complexes and the Adsorption of Trichloroethylene	ZHU Xiao-jing, HE Jiang-tao, SU Si-hui	(227)
Impact on the Microbial Community of Municipal Sewage in the ANAMMOX System During the Cooling Process	ZHAO Zhi-rui, MIAO Zhi-jia, LI Duo, <i>et al.</i>	(237)
Application of FISH-NanoSIMS Technique in Environmental Microbial Ecology Study	CHEN Chen, BAI Yao-hui, LIANG Jin-song, <i>et al.</i>	(244)
Influence of Microcystin-LR on Cell Viability and Surface Characteristics of <i>Pseudomonas putida</i>	DENG Ting-jin, YE Jin-shao, PENG Hui, <i>et al.</i>	(252)
Screening, Combination of Microbial Deodorizer and the Optimization of Its Deodorizing Conditions	ZENG Su, LI Nan-hua, SHENG Hong-chan, <i>et al.</i>	(259)
Distribution and Enrichment Characteristics of Organochlorine Pesticides in Water and Halobios from Qingbang Island in Zhoushan, China	ZHANG Ze-zhou, XING Xin-li, GU Yan-sheng, <i>et al.</i>	(266)
Levels of Polychlorinated Biphenyls in Tibetan and Yi Adolescents' Hair from Liangshan Prefecture, Sichuan Province	ZHOU Ying, SUN Yi-ming, JIN Jun, <i>et al.</i>	(274)
Effects of Single and Co-Exposure of Cu and Chlorpyrifos on the Toxicity of Earthworm	XU Dong-mei, WANG Yan-hua, WANG Nan, <i>et al.</i>	(280)
Effect of Exogenous Selenium on Accumulation and Chemical Forms of Cadmium in Cucumber(<i>Cucumis sativus</i> L.)	XIONG Shi-juan, LIU Jun, XU Wei-hong, <i>et al.</i>	(286)
Pollution Characteristics of Platinum Group Elements in Road Rust in Xiamen	HONG Zhen-yu, HONG You-wei, YIN Li-qian, <i>et al.</i>	(295)
Spatial Distribution of Se in Soils from Different Land Use Types and Its Influencing Factors Within the Yanghe Watershed, China	SHANG Jing-min, LUO Wei, WU Guang-hong, <i>et al.</i>	(301)
Immobilization Impact of Different Fixatives on Heavy Metals Contaminated Soil	WU Lie-shan, ZENG Dong-mei, MO Xiao-rong, <i>et al.</i>	(309)
Form Tendency and Bio-availability Dynamics of Cu and Zn in Different Farm Soils After Application of Organic Fertilizer of Livestock and Poultry Manures	SHANG He-ping, LI Yang, ZHANG Tao, <i>et al.</i>	(314)
Analysis of Composition Characteristics of Municipal Solid Waste in South China	ZHANG Hai-long, LI Xiang-ping, QI Jian-ying, <i>et al.</i>	(325)
Sewage Sludge Conditioning by Bioleaching Combined with Fenton-like Oxidation	LIU Chang-geng, ZHANG Pan-yue, JIANG Jiao-jiao, <i>et al.</i>	(333)
Applicability of Bisphenol A Detection by a Planar Waveguide Fluorescent Biosensor	XU Wei-qi, ZHANG Yong-ming, ZHOU Xiao-hong, <i>et al.</i>	(338)
A New "Turn-on" Fluorescent Probe for Visual Detection of Hydrogen Sulfide	LIU Chun-xia, MA Xing, WEI Guo-hua, <i>et al.</i>	(343)
Analysis of Sap Flow Characteristics of the Chinese Pine in Typical Loess Plateau Region of China	ZHANG Han-dan, WEI Wei, CHEN Li-ding, <i>et al.</i>	(349)
Simultaneous Production of Hydrogen and Volatile Fatty Acid from <i>Macrocystis pyrifera</i>	ZHAO Xiao-xian, FAN Xiao-lei, GUO Rong-bo, <i>et al.</i>	(357)
Behaviors of Engineered Nanoparticles in Aquatic Environments and Impacts on Marine Phytoplankton	LI Man-lu, JIANG Yue-lu	(365)

《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)

2015年1月15日 第36卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 1 Jan. 15, 2015

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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. 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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行