环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社

2020
Vol.41 No.5
第41卷 第5期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第5期
2020年5月15日

目 次

环 境 科 学
Environmental Science
第41卷第5期 2020年5月
Vol.41, No.5 May, 2020

雄安新区-白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群落空间分布特征及驱动因素

周石磊, 孙悦, 岳哿丞, 张航, 王周强, 刘世崇, 彭瑞哲, 苑世超, 李再兴, 崔建升
(河北科技大学环境科学与工程学院, 河北省污染防治生物技术实验室, 石家庄 050018)

摘要: 为了定向精准地完成适于白洋淀低温期水体水质的好氧反硝化菌的筛选和分离,本文结合水质调查和好氧反硝化功能基因(*napA*)高通量测序技术,进行了水体水质、微生物群落 α 多样性、β 多样性分析以及微生物网络分析. 结果表明,该时期白洋淀不同采样点的水体水质存在显著差异,入淀河口区的氮素最高;各采样点 α 多样性存在显著差异($P<0.05$),藻苇淀(ZZD)和瀑河(BH)的菌群丰富度和多样性最低;与此同时,该时期水体的 OTU 主要属于变形菌门 (Protebacteria)中的 α-Proteobacteria 纲、β-Proteobacteria 纲和 γ-Proteobacteria 纲;韦恩图分析(Venn)表明各采样点水体好氧反硝化菌群组成存在明显差异;膨胀因子分析(VIF)和 RDA 分析显示,温度、溶解氧、氨氮、硝氮、溶解性总磷以及氧化还原电位是影响菌群组成的主要环境因子;网络分析表明,该时期微生物网络中物种间以共生关系为主;Mantel test 分析得出温度、氧化还原电位、硝氮、氨氮、溶解性总磷以及铁锰是影响模块群落结构演变的关键环境因子. 综上可知,基于好氧反硝化功能基因(*napA*)进行高通量测序来研究白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群落特征和环境驱动因素可行,为实现适于该时期水体水质的好氧反硝化菌"定向-精准-高效"的筛选提供技术支撑.

关键词:白洋淀; 好氧反硝化; 好氧反硝化功能基因(*napA*); 生物信息分析; 网络分析
中图分类号: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)05-2177-11 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201910195

Spatial Distribution Characteristics and Driving Factors of Aerobic Denitrification Bacterial Community Structure from Baiyangdian Lake in Xiong'an New Area During the Winter Freezing Period

ZHOU Shi-lei, SUN Yue, YUE Ge-cheng, ZHANG Hang, WANG Zhou-qiang, LIU Shi-chong, PENG Rui-zhe, YUAN Shi-chao, LI Zai-xing, CUI Jian-sheng
(Pollution Prevention Biotechnology Laboratory of Hebei Province, School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: To isolate the aerobic denitrification bacteria suitable for water quality in the low-temperature period of Baiyangdian Lake, a water quality investigation and bioinformatics analysis of the aerobic denitrification bacterial community were carried out using a MiSeq high-throughput sequencing technique based on *napA*. Moreover, α-diversity, β-diversity, and network analyses were also carried out. The results showed significant differences in the water quality of different sampling sites in Baiyangdian Lake, and the estuary area exhibited the highest nitrogen concentration. α-diversity exhibited significant differences ($P<0.05$), and the abundance and diversity of ZZD and BH were the lowest. The operational taxonomic units of the water body mainly belonged to Proteobacteria (α-Proteobacteria, β-Proteobacteria, and γ-Proteobacteria). Meanwhile, Venn diagram analysis indicated the community of aerobic denitrification bacteria exhibited significant differences, and variance inflation factor and redundancy analysis showed that temperature, dissolved oxygen, ammonia, nitrate, dissolved total phosphorus, and redox potential were the main environmental factors. Network analysis showed that symbiotic relationships accounted for a major proportion of the microbial network. Mantel test analysis shows that temperature, redox potential, nitrate, ammonia, dissolved total phosphorus, and iron and manganese are the key factors affecting the evolution of modular community structure. From all the results, the MiSeq high-throughput sequencing technique based on the *napA* gene was an effective tool to explore the changes of aerobic denitrification bacterial community structure, which could supply a reference to isolate the "directional-accurate-efficient" aerobic denitrification bacterial agent in the future.

Key words: Baiyangdian Lake; aerobic denitrification; *napA*; bioinformatics analysis; network analysis

20 世纪 80 年代,Robertson 等[1]首次从废水脱硫和反硝化系统中分离出 1 株好氧反硝化菌(*Thiosphaera pantotropha*). 相比于传统生物脱氮,好氧反硝化具有如下优势[2]: ① 可在同一反应系统中实现硝化与反硝化过程,降低生物脱氮的操作难度,大大降低投资和运行成本;② 硝化反应的产物可以直接作为反硝化反应的底物,避免硝酸态氮的积累对硝化反应过程的抑制,加速脱氮的进程;③ 反硝化反应产生的碱可以部分中和硝化过程产

收稿日期: 2019-10-26; **修订日期**: 2019-12-13
基金项目: 国家自然科学基金项目(51909056);河北科技大学引进人才科研启动基金项目(1181278);河北省研究生创新项目(CXZZSS2018084)
作者简介: 周石磊(1987~),男,博士,讲师,主要研究方向为好氧反硝化菌脱氮机制与调控机制,E-mail: ZSLZhouShilei@126.com

生的酸,能够使整个系统的 pH 值相对稳定. 鉴于好氧反硝化菌的独特优势,近年来研究者从土壤生态系统[3]、活性污泥系统[4]、污水处理厂[5,6]、湖泊[7,8]以及水库[2,9]等系统,分离了大量高效的好氧反硝化菌,并在污废水[6]、养殖废水[10]和河道底泥修复[11,12]等方面的研究越来越多.

由于天然水体独特的水质特征,目前针对天然水体应用好氧反硝化菌进行生物修复的应用鲜有报道. 随着在自然界环境中好氧反硝化现象的发现[13,14],使天然水体在好氧条件下实现氮素削减提供了新的可能. 比如,Liu 等[15]通过藻-菌生物膜法对改善富营养化水体水质进行了研究;Wen 等[16]研究了不同分子量的天然有机物和藻类有机物对好氧反硝化菌株脱氮特性的影响规律和作用机制;Zhou 等[17,18]利用扬水曝气技术对周村水库土著异养硝化-好氧反硝化菌进行原位强化,实现了水体氮素的高效去除. 然而,目前关于好氧反硝化菌的研究主要集中于高效菌株的分离以及在配水环境的脱氮特性研究,关于自然环境中好氧反硝化菌的分布特征以及影响因素的研究鲜见报道. 由于自然环境下好氧反硝化菌群的分布特征以及环境驱动机制,直接影响高效好氧反硝化菌的定向筛选以及高效菌的环境适应机制的研究,因此,基于 *napA* 功能基因进行生物标记物,开展天然环境中好氧反硝化菌群的分布特征以及影响因素的研究变得十分必要.

白洋淀作为华北地区最大的淡水湖泊,随着雄安新区的设立,被定义为"新三湖",其生态系统健康与否直接关乎新区的建设. 历史上,白洋淀的水体环境一直受到上游外源输入和淀区生活、养殖以及旅游的综合影响,造成淀区水体水质恶化和污染严重. 2016~2018 年夏秋季河北省监测白洋淀淀区及入淀河流水质为劣Ⅴ类,重度污染,特别是营养盐超标导致富营养化程度加剧. 白洋淀水体氮素和高锰酸盐指数超标严重,且氮素主要为氨氮和硝酸盐氮. 保持白洋淀水体生态系统的健康,首先要恢复水体的自然复氧功能,使水体呈现好氧状态. 因此,如何在好氧环境下实现"定向-精准-高效"的氮素削减是白洋淀水体自我修复功能恢复的关键. 白洋淀存在冬季冰封期,为了分离适应低温的高效好氧反硝化菌进行水体氮素削减;本文在该时期选取白洋淀典型区域(入淀河口区、自然区、旅游区、养殖区以及生活区)的水体样品,通过好氧反硝化菌功能基因(*napA*)的高通量测序来研究该时期水体好氧反硝化菌群分布特征;并结合网络分析等手段研究该时期好氧反硝化菌群分布的环境驱动因素,以期将来制定适应白洋淀不同典型区域水体特征的低温好氧反硝化菌的高效定向筛选策略提供必要的技术支持.

1 材料与方法

1.1 研究区域与样品采集

结合前期研究[19]和现场调研,白洋淀划分为 5 个典型区域,分别为入淀河口区、自然区、旅游区、养殖区以及生活区. 本文选取瀑河和府河两个采样点代表入淀河口区、藻苲淀采样点代表自然区、文化苑采样点代表旅游区、端村采样点代表养殖区以及捞王淀和北田庄采样点代表生活区,于 2019 年 1 月采集水样分析水体好氧反硝化菌群特征以及环境驱动因素,具体采样点如图 1 所示. 应用水质多功能测定仪 DS5 现场测定各采样点水体的温度(T)、溶解氧(DO)、pH、氧化还原电位(ORP)、电导率(EC)、叶绿素(Chl-a);水样中硝氮(nitrate, NO_3^-)、氨氮(ammonia, NH_4^+)、溶解性总氮(dissolved total nitrogen, TDN)、总氮(total nitrogen, TN)、总磷(total phosphorus, TDP)、高锰酸盐指数、总铁(Fe)和总锰(Mn)依据文献[20]测定.

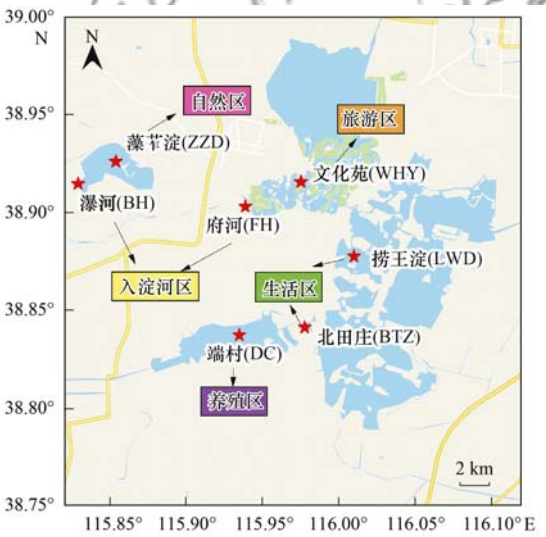

图 1 白洋淀冰封期采样点示意

Fig. 1 Distribution of the sampling sites in Baiyangdian Lake

1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

各个采样点用 0.22 μm 的醋酸纤维滤膜过滤 2 L 水体样品,收集水体微生物,并通过 E. Z. N. A.® Water DNA Kit(OMEGA, 美国)提取滤膜上的总 DNA,用 NanoDrop ND 2000(NanoDrop Technologies, 美国)测定 DNA 的浓度,将提取的 DNA 样品置于 -80℃保存,以备高通量测序. 前期研究表明,可以以 *napA* 功能基因为生物标记物来研究其群落特征[21]. 因此,本文利用提取的水体总 DNA 样本利用引物 V66F: 5′-TAYTTYYTNHSNAARATHATGTAYGG-3′和 V67R: 5′-DATNGGRTGCAT

YTCNGCCATRTT-3′)[22,23]对水体的 *napA* 基因进行 PCR 扩增,进而分析好氧反硝化菌微生物群落分布特征(上海美吉生物科技有限公司利用 MiSeq 进行高通量测序). 20 μL PCR 反应体系[23]为: 5 × FastPfu Buffer 4 μL, 2.5 mmol·L^{-1} dNTPs 2 μL, Forward Primer (5 μmol·L^{-1}) 0.8 μL, Reverse Primer (5 μmol·L^{-1}) 0.8 μL, FastPfu Polymerase 0.4 μL, BSA 0.2 μL, Template DNA 10 ng, ddH_2O 11.8 mL. 反应程序[23]为: 预变性温度 95℃ 3.0 min; 95℃变性 30 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 45 s, 循环 40 次; 72℃ 保温 10 min.

1.3　微生物生信分析

利用 R 语言分析微生物群落的 α 多样性以及 β 多样性分析(http://www.r-project.org/). 具体包括:基于 R 语言的 vegan 包计算 Chao1 指数、ACE 指数和 Richness 指数来评估菌群丰度[24], 采用香农指数(Shannon 指数)、辛普森指数(Simpson 指数)和 Pielou 指数来表征菌群的多样性[25], 用覆盖率指数(coverage)来表征测序深度[26];基于 R 语言的 vegan 包完成 Venn 图分析,来研究不同采样点好氧反硝化菌微生物群落的差异. 基于方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF)分析筛选影响因子[27],并通过冗余分析(redundancy analysis, RDA)得到环境因子与微生物群落之间的相关性[28];采用 Mantel test 分析来探讨环境因子对微生物群落的影响程度[29].

1.4　网络分析

通过 MENA 分析和 R 分析进行微生物网络的构建,利用 Gephi 软件进行微生物群落的网络可视化[30],并依据"度(degree) > 5"以及"中介中心值(betweenness centrality value) < 1000"的准则来筛选节点作为关键物种[31],并基于 Mantel test 分析以及斯皮尔曼相关性分析探讨环境因子对网络模块的影响[32,33]. 网络分析中对网络中节点进行如下分类[34]:模块核心($Z_i \geqslant 2.5$, $P_i \leqslant 0.62$),网络核心($Z_i \geqslant 2.5$, $P_i > 0.62$),外围节点(普通节点)($Z_i < 2.5$, $P_i \leqslant 0.62$),连接点($Z_i < 2.5$, $P_i > 0.62$). 有研究表明[35,36],除普通节点外均为网络中的关键节点,关键节点在模块内、模块间、全网络与其他节点的连接中发挥重要作用.

1.5　数据分析方法

本文中绘图所需的软件由 R 和 Origin 完成,数据统计分析由 SPSS 23 完成. 其中 P 值 < 0.05 表示存在显著差异, 0.001 < P 值 < 0.01 表示存在极显著差异, P 值 < 0.001 表示存在极其显著差异.

2　结果与讨论

2.1　水体水质分析

该时期各个采样点水体的环境因子和水质如表 1 和图 2 所示,其中表 1 为各采样点的温度、溶解氧、pH、氧化还原电位、电导率、铁和锰的变化情况;图 2 为水体氮磷以及有机物的变化情况. 该时期各个采样点的水体温度变化范围为 1.69 ~ 5.86℃,不同样点间存在差异,与该区域的水深以及入淀河流有关;溶解氧变化范围为 0.78 ~ 9.96 mg·L^{-1},特别是捞王淀、北田庄以及府河采样点的溶解氧较低,可能与该地区冰封阻止水体大气复氧和沉积物的高耗氧有关;pH 变化范围不大维持在 9.65 ~ 9.98,偏碱性;氧化还原电位维持在 115 ~ 366 mV;府河采样点的电导率最高,为10 198 μS·cm^{-1};自然区的藻苲淀采样点总铁含量最高为 0.092 mg·L^{-1},生活区的北田庄采样点总铁含量最低为 0.027 mg·L^{-1};入淀河口区的瀑河采样点总锰含量最高为 0.072 mg·L^{-1},生活区的北田庄采样点总铁含量最低为 0.032 mg·L^{-1}.

表 1　白洋淀冬季冰封期采样点的环境参数

Table 1　Environmental parameters at the sampling sites in Baiyangdian Lake

区域	样本	T/℃	DO/mg·L^{-1}	pH	ORP/mV	EC/μS·cm^{-1}	Fe/mg·L^{-1}	Mn/mg·L^{-1}
入淀河口区	府河	1.69	2.18	9.98	337	10 198	0.082	0.057
	瀑河	4.05	9.43	9.75	360	4 762	0.067	0.072
自然区	藻苲淀	3.67	9.31	9.95	319	3 602	0.092	0.057
旅游区	文化苑	3.90	9.96	9.82	366	9 049	0.047	0.047
养殖区	端村	3.70	7.66	9.65	288	6 450	0.082	0.037
生活区	捞王淀	5.86	0.78	9.72	347	7 024	0.042	0.052
	北田庄	4.60	3.05	9.78	115	6 598	0.027	0.032

入淀河口区的瀑河和府河采样点的硝氮浓度最高,达到 4.97 mg·L^{-1}和 5.76 mg·L^{-1},生活区的捞王淀和北田庄采样点的硝氮浓度最低,为 0.70 mg·L^{-1}和 0.46 mg·L^{-1};表明入淀河流是该时期硝氮的主要来源,同时治理外源输入也是重中之重. 府河采样点的氨氮浓度最高,达到 0.45 mg·L^{-1},与府河包含保定市区生活污水有关. 总氮的变化情况和硝氮一致,入淀河口区的瀑河和府河采样点的浓度

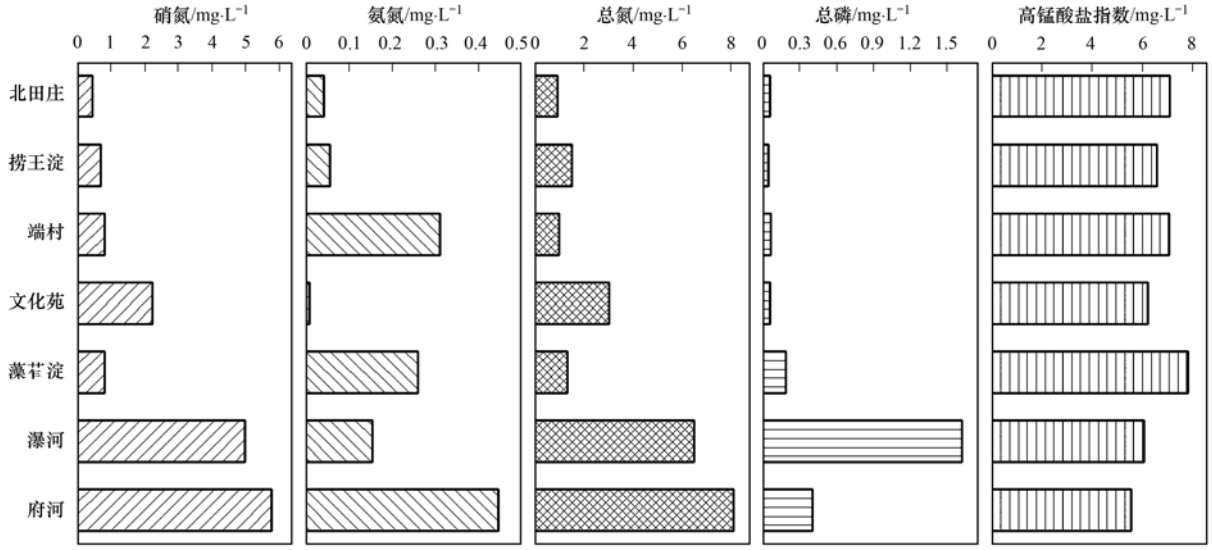

图 2 白洋淀冬季冰封期采样点水质的变化特征

Fig. 2 Changes in water quality of sampling sites in Baiyangdian Lake

最高,达到 6.52 mg·L^{-1}和 8.13 mg·L^{-1},远高于地表水环境质量标准Ⅴ类水总氮的限制(2 mg·L^{-1}). 总磷也是入淀河口区采样点最高,达到 1.62 mg·L^{-1}和 0.41 mg·L^{-1},远高于地表水环境质量标准Ⅴ类水总氮的限制(0.2 mg·L^{-1}). 该时期高锰酸盐指数变化范围为 5.56 ~ 7.82 mg·L^{-1},除府河外其他采样点均高于地表水环境质量标准Ⅲ类水限制(6.0 mg·L^{-1}). 综上分析,不同区域采样点的环境参数和水质指标存在较大差异,基于该环境的好氧反硝化菌群是否会存在差异需要进一步研究.

2.2 微生物 α 多样性分析

如表 2 所示,ACE 和 Chao1 指数反映微生物群落的丰富度,对于 ACE 指数而言:自然区的藻苲淀以及自然区的入淀河流瀑河采样点最小,为 106.54 和 136.03;其他采样点的 ACE 指数较高为 300.11 ~363.27,旅游区的文化苑最高. Chao1 指数与 ACE 指数的变化特征相一致($R = 1.000$, $P < 0.001$),也是藻苲淀最小,文化苑最高. Richness 指数也是用来评估样本中被检查到的 OTU 量,本研究中 Richness 指数呈现自然区的藻苲淀以及自然区的入淀河流瀑河采样点最小的特征. 各个采样点间覆盖率指数维持在0.995 8 ~ 0.999 1之间,表明测序深度能够很好地覆盖物种信息. 各个采样点的 Shannon、Simpson 以及 Pielou 指数中,生活区捞王淀和北田庄采样点、养殖区端村采样点以及旅游区的文化苑采样点最高,明显高于自然区和入淀河口区的采样点;最高的为生活区北田庄采样点, Shannon、Simpson 以及 Pielou 指数达到 5.63、0.95 和 0.69;最低的为瀑河采样点, Shannon、Simpson 以及 Pielou 指数达到 0.53、0.10 和 0.08. 综上,无论是在菌群丰富度还是菌群多样性,白洋淀冬季冰封期不同采样点间好氧反硝化菌群 α 多样性存在差异.

表 2 白洋淀冬季冰封期好氧反硝化菌群生物多样性指数

Table 2 Microbial community diversity of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

区域	样本	ACE 指数	Chao1 指数	Richness 指数	覆盖率指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Pielou 指数
入淀河口区	府河	328.64	325.00	268	0.995 8	1.70	0.35	0.21
	瀑河	136.03	135.53	106	0.998 3	0.53	0.10	0.08
自然区	藻苲淀	106.54	105.75	87	0.998 2	0.57	0.11	0.09
旅游区	文化苑	363.27	383.32	330	0.996 1	3.95	0.73	0.47
养殖区	端村	300.86	299.24	272	0.997 3	4.79	0.90	0.59
生活区	捞王淀	320.73	317.97	310	0.999 1	5.13	0.91	0.62
	北田庄	300.11	299.00	286	0.998 9	5.63	0.95	0.69

2.3 细菌群落组成及 β 多样性分析

将异养硝化-好氧反硝化菌富集驯化过程中的样本进行数据库比对,同时分析在各个水平上的菌群结构. 结果显示属于 5 个门类 78 个属, 13 983 ~ 23 980个 OTU,具体结果如图 3 所示. 该时期各个采样点的好氧反硝化菌群主要属于 3 个门类(图 3),分别是变形菌门(Protebacterice)、未分类(unclassified_Bacteria)和其他少数细菌门类,其中

变形菌门为第一大门类，占比为 72.77%～99.41%；未分类菌在文化苑、端村以及北田庄采样点占比较高，达到 22.54%～27.12%．有研究表明在氮素的微生物代谢过程中变形菌门一直扮演重要的角色[37]．在纲水平上，α-Proteobacteria 是最大的纲，其中在入淀河口区和自然区采样点中占比高达 81.37%～97.31%，在氮磷的代谢过程中发挥重要作用[38]；而 β-Proteobacteria 为第二大纲，在旅游区、养殖区以及生活区占比为 17.42%～54.40%，并且因发现其大多具有脱氮特征[39]，广泛存在于各种污废水的处理系统中[40]．γ-Proteobacteria 为第三大纲，在养殖区以及生活区占比为 10.08%～33.92%，并且被发现在含盐废水反硝化过程中发挥关键作用[41]．综上，在纲水平上各个采样点的差异性逐渐显现，不同样点间好氧反硝化菌群存在差异．

在属水平上，*Leisingera* 是第一大属，占比范围为 13.49%～97.04%，入淀河口区和自然区最多（80.61%～97.04%），而且研究表明 *Leisingera daeponensis* DSM23529 具有 *napA* 基因，能够进行反硝化脱氮[42]；*Thauera* 和 *Azoarcus* 在捞王淀占比最大，达到 26.71% 和 1.53%，能够利用芳烃作为碳源进行反硝化[21,43]；*Shewanella* 在端村和北田庄占比最大，达到 23.60% 和 8.13%，研究中发现 *Shewanella baltica* OS678 具有好氧反硝化特性[44]，并且许多模式菌株包括 *Shewanella algae*、*Shewanella putrefaciens* 200 以及 *Shewanella violacea* DSS12 具有 *napA* 基因；*Aeromonas* 在端村、捞王淀以及北田庄采样点的丰度较高，占比为 4.43%～11.64%，能够利用各种碳水化合物为碳源进行反硝化脱氮[45]，在水库中被发现为主要的好氧反硝化菌[23]，而且研究发现 *Aeromonas* sp. VNT 是一个典型的耐低温高效异养硝化-好氧反硝化菌[46]；*Leptothrix_Burkholderiales* 菌在北田庄采样点的占比最高为 9.11%；*Bordetella* 菌端村、捞王淀以及北田庄采样点的丰度较高，占比为 3.50%～6.29%；*Paraburkholderia* 菌在捞王淀中最高，为 4.51%；*Pseudomonas* 菌在旅游区和生活区采样点的占比较大，达到 1.36%～2.58%，作为典型好氧反硝化菌广泛分布于污废水系统[6,47]和自然环境[48]，同时研究发现 *Pseudomonas* sp. VNT 是一个具有耐低温特性的好氧反硝化菌[46]；*Janthinobacterium* 菌在端村和北田庄采样点的丰度最大，达到 1.90%～2.43%，与此同时，研究者从松花江分离了一株耐低温的异养硝化-好氧反硝化菌 *Janthinobacterium* sp. M-11，能够在 2℃ 下实现硝氮 89% 的去除[49]．综上分析，白洋淀冬季冰封期自然区的藻苇淀及其入淀河流瀑河群落组成较相似，其他各

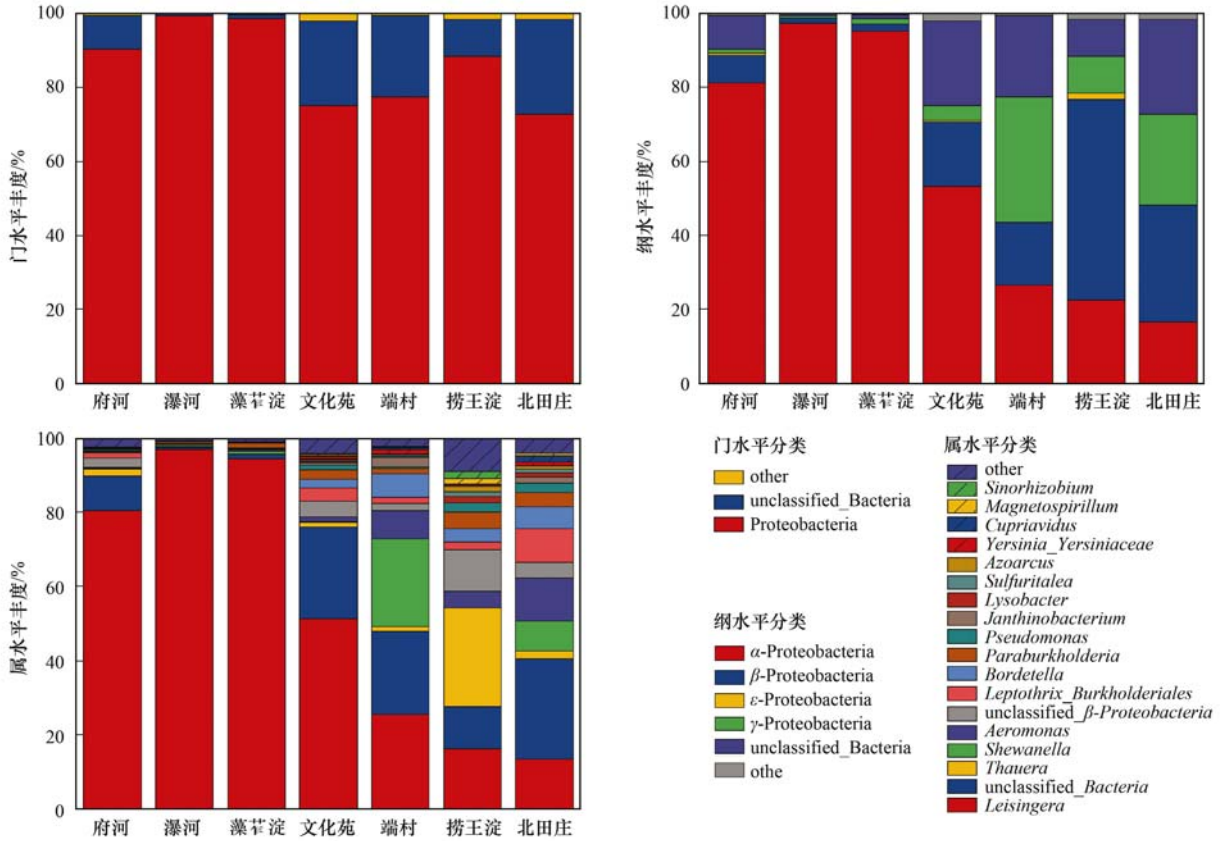

图 3　白洋淀冬季冰封期好氧反硝化菌群组成分析

Fig. 3　Community composition of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

采样点间水体好氧反硝化菌群呈现显著差异.

与此同时,本文通过 RDA 分析以及韦恩图分析来研究冬季冰封期不同区域采样点水体好氧反硝化菌群的差异. RDA 分析结果显示 RDA1 和 RDA2 共同解释了总体变化的 73.66%,其中 RDA1 为 46.90% 是决定菌群分布的主要因素;硝氮、氧化还原电位、氨氮、溶解氧以及溶解性总磷与 RDA1 的相关性为 −0.53 ~ −1.00,对采样点藻芊淀、瀑河、府河以及文化苑的排序影响大;温度与 RDA1 的相关性为 0.88,对采样点捞王淀、北田庄以及端村的排序影响大[图 4(a)]. 韦恩图分析显示 7 个采样点间的 OTU 种类存在显著差异,共有的 OTU 种类为 13 个,府河、瀑河、藻芊淀、文化苑、端村、捞王淀以及北田庄独有的 OTU 种类为 98 个、19 个、11 个、98 个、56 个、92 个以及 82 个;入淀河口区瀑河与府河共有的 OTU 种类为 54 个,瀑河与藻芊淀共有的 OTU 种类为 38 个,生活区捞王淀与北田庄共有的 OTU 种类为 129 个;其中瀑河与藻芊淀存在不少的共有 OTU 种类,与都位于同一区域有关;文化苑具有最高的 OTU 种类(330 个),自然区的藻芊淀具有最低的 OTU 种类(88 个). 显而易见,该时期不同区域采样点的好氧反硝化菌群存在显著差异[图 4(b)].

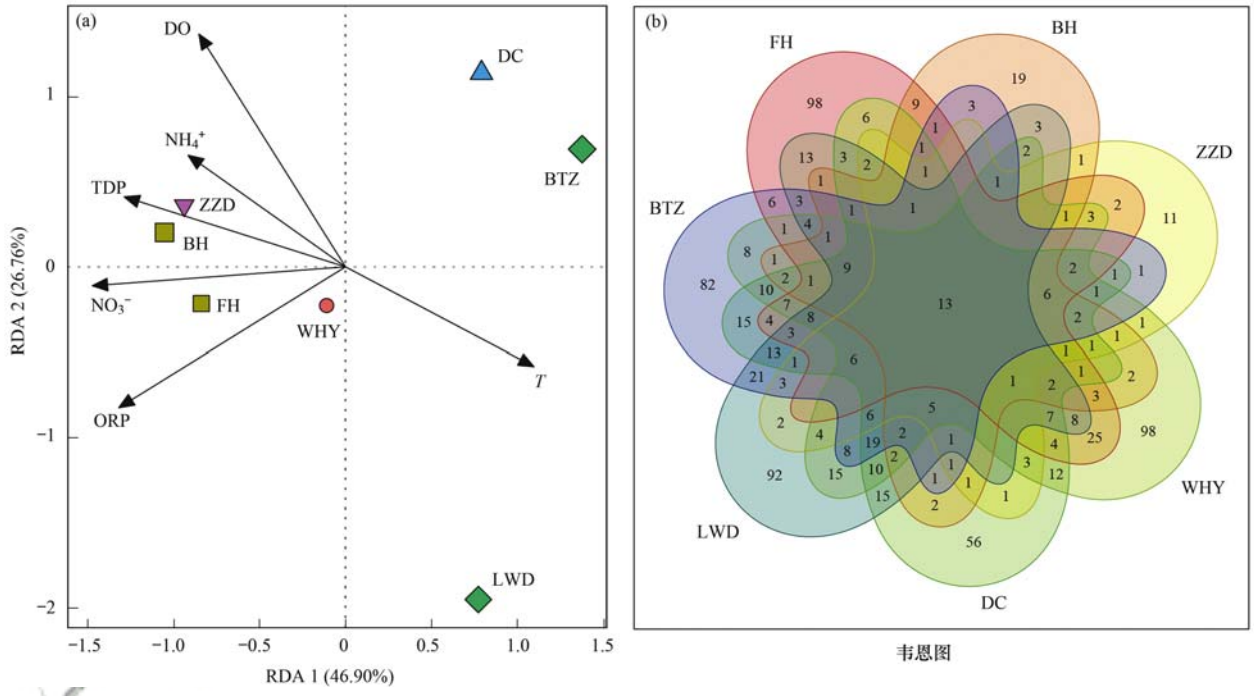

图 4 白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群差异分析

Fig. 4 Bacterial community difference in aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

2.4 微生物网络分析

基于丰度前 100 的 OTU,利用 R 完成物种间的相关性分析,选取物种(OTU 水平)间的斯皮尔曼相关性 $|r| > 0.8$,显著性 $P < 0.05$ 的物种,利用 Gephi 软件来构建白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌的微生物网络(图 5). 图 5 中节点大小与网络节点的度成比例,节点间边的颜色显示物种间的相关关系:红色为正向关系、绿色为负向关系,边的宽度与相关系数 $|r|$ 成比例. 有研究发现[36]:网络中的正负相关可以用于推断微生物之间的相互关系,正相关代表着生态位一致或共生关系,负相关代表着竞争或捕食关系.

微生物 OTU-OTU 网络结果表明:网络分析共得到 98 个节点 579 条边,正向边占比为 92.92%,负向相关的边所占比例为 7.08%,表明该时期水体好氧反硝化菌群物种间合作关系大于竞争关系[图 5(a)];网络的平均度为 11.82、网络直径为 7、图密度为 0.122、平均加权度为 12.19、平均聚类系数为 0.65,模块性为 0.48 > 0.4、表明网络具有模块结构[50];划分成 8 个模块,模块 0 占比 10.20%,模块 1 占比 24.49%,模块 2 占比 10.20%,模块 3 占比 6.12%,模块 4 占比 14.29%,模块 5 占比 16.33%,模块 6 占比 13.27%,模块 7 占比 5.10%. 有关节点的物种分类[图 5(b)],该网络分为 5 个模块,其中 Unclassified _ Bacteria 占比为 34.69%、β-Proteobacteria 占比为 28.57%、γ-Proteobacteria 占比为 25.51%、α-Proteobacteria 占比为 10.20%、ε-Proteobacteria 占比为 1.03%;β-Proteobacteria 和 γ-Proteobacteria 为主要的物种类别;结合模块分析,模块 1 中主要为未分类菌、β-Proteobacteria 和 γ-Proteobacteria,模块 5 主要为 β-Proteobacteria 和 γ-Proteobacteria. 与此同时,网络分析共得到 67 个关键

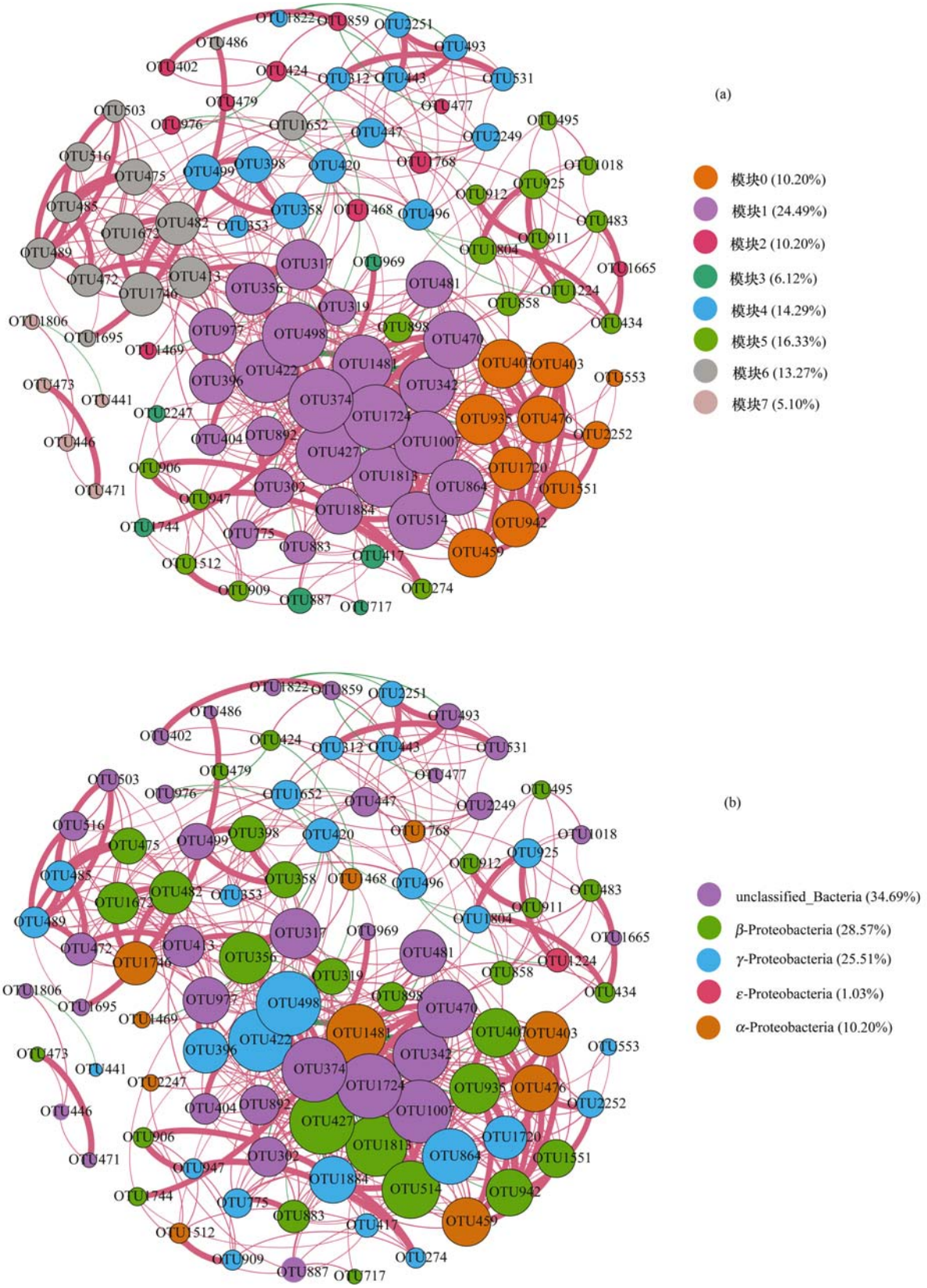

图 5　白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群微生物网络

Fig. 5　Network of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

物种 OTU，隶属于 α-Proteobacteria 的占比为 10.45%、β-Proteobacteria 的占比为 26.87%、γ-Proteobacteria 的占比为 29.85% 以及 Unclassified_Bacteria 的占比为 29.85%，隶属于模块 0 占比 13.43%、模块 1 占比 35.82%、模块 2 占比 2.99%、模块 3 占比 2.99%、模块 4 占比 19.40%、模块 5 占比 8.96%、模块 6 占比 16.70%，主要为 *Aeromonas*、*Azospira*、*Bordetella*、*Pseudomonas*、*Janthinobacterium*、

Leisingera、*Shewanella*、*Sulfuritalea*、*Thauera* 等 20 个属.

网络分析依据各节点 Z_i 值和 P_i 值将所有节点划分为模块核心,网络核心,外围节点(普通节点)和连接点四类. 如图 6 所示,本网络中仅包括普通节点和连接点. 其中,本网络中共包括 32 个关键节点(表 3),隶属于 α-Proteobacteria 的节点占比为 18.75%、β-Proteobacteria 占比为 28.13%、γ-Proteobacteria 占比为 12.50% 和 Unclassified 占比为 4.62%. 结合关键物种的 68 个 OTU,同时属于关键节点和关键物种的 OTU 共有 11 个,主要为 *Aeromonas*、*Azospira*、*Janthinobacterium*、*Leisingera*、*Lysobacter*、*Paraburkholderia*、*Rhodopseudomonas* 以及 *Shewanella* 属,其中除 OTU422 外,大多数的 OTU 丰度较低.

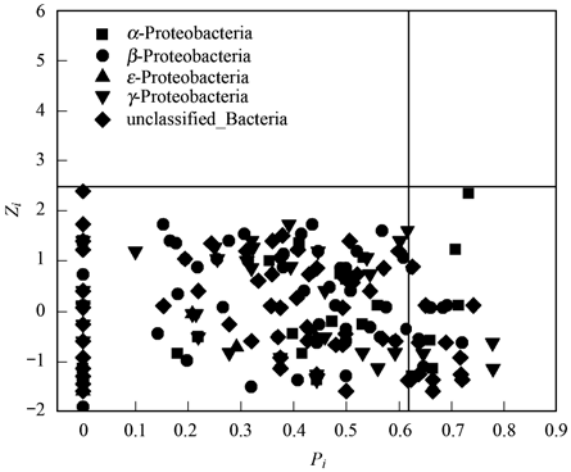

图 6 白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群分子生态网络节点分布

Fig. 6 Distribution of nodes of molecular ecological network of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

表 3 白洋淀冬季冰封期好氧反硝化菌群关键节点信息

Table 3 Information on key connectors of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

关键节点	纲	属	丰度/%	模块	度	中介中心值
OTU1768	α-Proteobacteria	*Rhodopseudomonas*	0.01 ~ 0.36	2	6	199.35
OTU1468	α-Proteobacteria	*Leisingera*	0.01 ~ 0.78	2	6	127.06
OTU476	α-Proteobacteria	*Rhodopseudomonas*	0.01 ~ 0.48	0	20	53.85
OTU483	β-Proteobacteria	*Azospira*	0.01 ~ 0.21	5	6	16.25
OTU482	β-Proteobacteria	*Janthinobacterium*	0.01 ~ 1.87	6	18	126.70
OTU407	β-Proteobacteria	*Paraburkholderia*	0.19 ~ 4.51	0	21	210.85
OTU1884	γ-Proteobacteria	*Lysobacter*	0.01 ~ 1.13	1	20	45.31
OTU422	γ-Proteobacteria	*Aeromonas*	0.01 ~ 10.19	1	29	391.00
OTU353	γ-Proteobacteria	*Shewanella*	0.01 ~ 1.17	4	6	71.28
OTU887	unclassified	unclassified	0.01 ~ 0.27	3	8	75.28
OTU342	unclassified	unclassified	0.01 ~ 1.85	1	25	40.22

2.5 环境因子与微生物群落的关系

与此同时,本研究基于 Mantel test 分析环境因子对冬季好氧反硝化菌群落的影响. 模块 0 ~ 3 以及模块 4 ~ 7 的物种群落与环境因子的关系分别如图 7 所示. 其中显示环境因子温度(T)、溶解氧(DO)、硝氮(NO_3^-)、氨氮(NH_4^+)和总铁(Fe)是影响模块 0 物种群落的主要因素,其中 T、DO、NO_3^-、NH_4^+ 和 Fe 与物种群落的相关系数为 0.60($P < 0.001$)、0.37

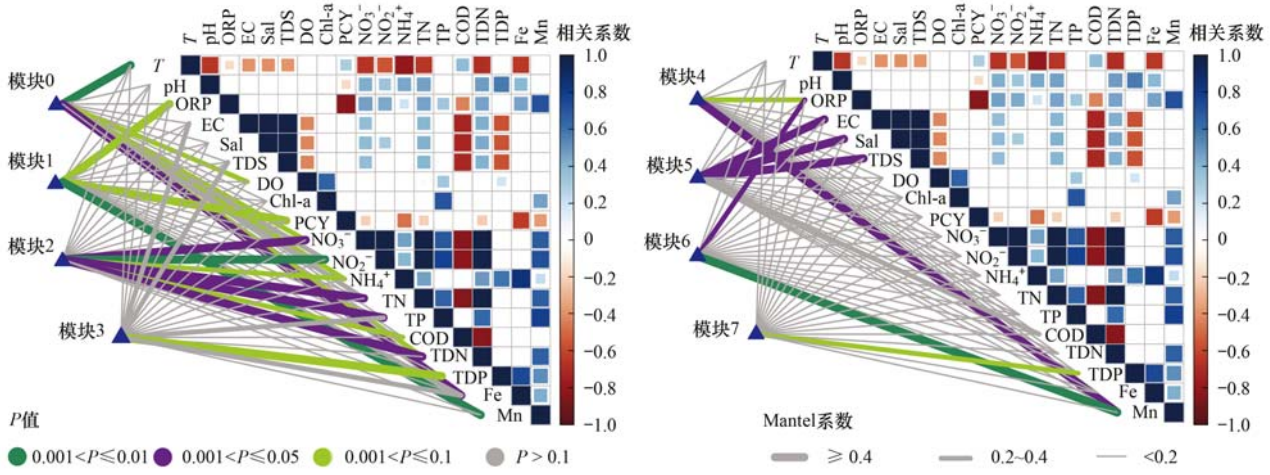

图 7 白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群环境驱动因子分析

Fig. 7 Environmental drivers of aerobic denitrification bacteria in Baiyangdian Lake

($P=0.07$)、0.31($P=0.09$)、0.32($P=0.09$)和0.48($P<0.05$)；氧化还原电位(ORP)、水体蓝绿藻(PCY)、总铁以及总锰(Mn)是影响模块1物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.48($P<0.05$)、0.40($P=0.07$)、0.31($P=0.11$)和0.61($P<0.01$)；NO_3^-、亚硝氮(NO_2^-)、总氮(TN)、总磷(TP)、高锰酸盐指数(COD)和溶解性总氮(TDN)是影响模块2物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.59($P<0.05$)、0.63($P<0.01$)、0.58($P<0.05$)、0.42($P<0.05$)、0.34($P=0.06$)和0.57($P<0.05$)；溶解性总磷(TDP)是影响模块3物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.48($P=0.06$)；Mn是影响模块4物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.41($P<0.05$)；电导率(EC)、盐度(Sal)以及总溶解性固体(TDS)是影响模块5物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.45($P<0.05$)、0.44($P<0.05$)和0.46($P<0.05$)；ORP以及Mn是影响模块6物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.24($P<0.05$)和0.71($P<0.05$)；TDP是影响模块7物种群落的主要因素，其与物种群落的相关系数为0.31($P=0.07$). 综上，该时期的主要环境驱动因素为温度、氧化还原电位、硝氮、氨氮、溶解性总磷以及铁锰. 不同区域采样点水质环境的不同造成了好氧反硝化菌群组成的差异，因此以后需针对各自区域水质特征，选取主要环境驱动因子定向筛选高效好氧反硝化脱氮菌株.

3　结论

(1)冬季冰封期水体水质不同区域间存在显著差异，其中入淀河口区的水体硝氮和总氮最高. 冬季冰封期好氧反硝化菌群的α多样性存在显著差异，其中藻苇淀以及瀑河的菌群丰富度以及多样性最小.

(2)水体好氧反硝化菌共分为5个门类78个属，各个采样点的菌群组成存在显著差异；硝氮、氧化还原电位、氨氮、溶解氧、溶解性总磷以及温度是影响菌群分布的主要环境因子. 并且物种间以正相关关系为主，温度、氧化还原电位、硝氮、溶解性总磷以及铁锰是影响微生物不同模块群落的主要环境驱动因素.

参考文献：

[1] Robertson L A, Kuenen J G. *Thiosphaera pantotropha* gen. nov. sp. nov., a facultatively anaerobic, facultatively autotrophic sulphur bacterium[J]. Microbiology, 1983, **129**(9): 2847-2855.

[2] Huang T L, Zhou S L, Zhang H H, *et al*. Nitrogen removal characteristics of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier from oligotrophic drinking water reservoir, *Zoogloea* sp. N299[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, **16**(5): 10038-10060.

[3] He T X, Li Z L, Sun Q, *et al*. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Pseudomonas tolaasii* Y-11 without nitrite accumulation during nitrogen conversion[J]. Bioresource Technology, 2016, **200**: 493-499.

[4] Lu Z Y, Gan L, Lin J J, *et al*. Aerobic denitrification by *Paracoccus* sp. YF1 in the presence of Cu(II)[J]. Science of the Total Environment, 2019, **658**: 80-86.

[5] Yang J R, Wang Y, Chen H, *et al*. Ammonium removal characteristics of an acid-resistant bacterium *Acinetobacter* sp. JR1 from pharmaceutical wastewater capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. Bioresource Technology, 2019, **274**: 56-64.

[6] Zhao B, Cheng D Y, Tan P, *et al*. Characterization of an aerobic denitrifier *Pseudomonas stutzeri* strain XL-2 to achieve efficient nitrate removal[J]. Bioresource Technology, 2018, **250**: 564-573.

[7] Su J F, Shi J X, Ma F. Aerobic denitrification and biomineralization by a novel heterotrophic bacterium, *Acinetobacter* sp. H36[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, **116**(1-2): 209-215.

[8] Li C E, Yang J S, Wang X, *et al*. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24[J]. Bioresource Technology, 2015, **182**: 18-25.

[9] 周石磊，黄廷林，白士远，等. 贫营养好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 中国环境科学，2016，**36**(1)：238-248.
Zhou S L, Huang T L, Bai S Y, *et al*. Isolation, Identification, and nitrogen removal characteristics of oligotrophic aerobic denitrifiers[J]. China Environmental Science, 2016, **36**(1): 238-248.

[10] Padhi S K, Tripathy S, Mohanty S, *et al*. Aerobic and heterotrophic nitrogen removal by *Enterobacter cloacae* CF-S27 with efficient utilization of hydroxylamine[J]. Bioresource Technology, 2017, **232**: 285-296.

[11] Tang Y Q, Li M, Zou Y N, *et al*. Mechanism of aerobic denitrifiers and calcium nitrate on urban river sediment remediation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, **126**: 119-130.

[12] Tang Y Q, Li M, Xu D M, *et al*. Application potential of aerobic denitrifiers coupled with a biostimulant for nitrogen removal from urban river sediment[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, **25**(6): 5980-5993.

[13] Gao H, Schreiber F, Collins G, *et al*. Aerobic denitrification in permeable Wadden Sea sediments[J]. The ISME Journal, 2010, **4**(3): 417-426.

[14] Marchant H K, Ahmerkamp S, Lavik G, *et al*. Denitrifying community in coastal sediments performs aerobic and anaerobic respiration simultaneously[J]. The ISME Journal, 2017, **11**(8): 1799-1812.

[15] Liu J Z, Wu Y H, Wu C X, *et al*. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: a review[J]. Bioresource Technology, 2017, **241**: 1127-1137.

[16] Wen G, Wang T, Li K, *et al*. Aerobic denitrification performance of strain *Acinetobacter johnsonii* WGX-9 using different natural organic matter as carbon source: effect of

molecular weight[J]. Water Research, 2019, **164**: 114956.

[17] Zhou S L, Huang T L, Zhang H H, *et al*. Nitrogen removal characteristics of enhanced in situ indigenous aerobic denitrification bacteria for micro-polluted reservoir source water [J]. Bioresource Technology, 2016, **201**: 195-207.

[18] Zhou S L, Huang T L, Ngo H H, *et al*. Nitrogen removal characteristics of indigenous aerobic denitrifiers and changes in the microbial community of a reservoir enclosure system via *in situ* oxygen enhancement using water lifting and aeration technology [J]. Bioresource Technology, 2016, **214**: 63-73.

[19] 杜奕衡, 刘成, 陈开宁, 等. 白洋淀沉积物氮磷赋存特征及其内源负荷[J]. 湖泊科学, 2018, **30**(6): 1537-1551.
Du Y H, Liu C, Chen K N, *et al*. Occurrence and internal loadings of nitrogen and phosphorus in the sediment of Lake Baiyangdian[J]. Journal of Lake Sciences, 2018, **30**(6): 1537-1551.

[20] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.

[21] Feng W W, Liu J F, Gu J D, *et al*. Nitrate-reducing community in production water of three oil reservoirs and their responses to different carbon sources revealed by nitrate-reductase encoding gene (*napA*) [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, **65**(7): 1081-1086.

[22] Abed R M M, Lam P, De Beer D, *et al*. High rates of denitrification and nitrous oxide emission in arid biological soil crusts from the Sultanate of Oman[J]. The ISME Journal, 2013, **7**(9): 1862-1875.

[23] Zhou S L, Zhang Y R, Huang T L, *et al*. Microbial aerobic denitrification dominates nitrogen losses from reservoir ecosystem in the spring of Zhoucun reservoir[J]. Science of the Total Environment, 2019, **651**: 998-1010.

[24] Rogers M B, Firek B, Shi M, *et al*. Disruption of the microbiota across multiple body sites in critically ill children [J]. Microbiome, 2016, **4**(1): 66.

[25] Chen B S, Teh B-S, Sun C, *et al*. Biodiversity and activity of the gut microbiota across the life history of the insect herbivore *Spodoptera littoralis* [J]. Scientific Reports, 2016, **6**(1): 29505.

[26] Xin X D, He J G, Wang Y F, *et al*. Role of aeration intensity on performance and microbial community profiles in a sequencing batch reaction kettle (SBRK) for wastewater nutrients rapid removal[J]. Bioresource Technology, 2016, **201**: 140-147.

[27] Joshi D R, Zhang Y, Gao Y X, *et al*. Biotransformation of nitrogen-and sulfur-containing pollutants during coking wastewater treatment: correspondence of performance to microbial community functional structure[J]. Water Research, 2017, **121**: 338-348.

[28] Kernan M R, Helliwell R C. Partitioning the variation within the acid neutralizing capacity of surface waters in Scotland in relation to land cover, soil and atmospheric depositional factors [J]. Science of the Total Environment, 2001, **265**(1-3): 39-49.

[29] Groussin M, Mazel F, Sanders J G, *et al*. Unraveling the processes shaping mammalian gut microbiomes over evolutionary time[J]. Nature Communications, 2017, **8**(1): 14319.

[30] Sun W M, Xiao E Z, Pu Z L, *et al*. Paddy soil microbial communities driven by environment-and microbe-microbe interactions: a case study of elevation-resolved microbial communities in a rice terrace [J]. Science of the Total Environment, 2018, **612**: 884-893.

[31] Li Y, Wu H N, Shen Y, *et al*. Statistical determination of crucial taxa indicative of pollution gradients in sediments of Lake Taihu, China[J]. Environmental Pollution, 2019, **246**: 753-762.

[32] De Menezes A B, Prendergast - Miller M T, Richardson A E, *et al*. Network analysis reveals that bacteria and fungi form modules that correlate independently with soil parameters [J]. Environmental Microbiology, 2015, **17**(8): 2677-2689.

[33] Zhang B G, Zhang J, Liu Y, *et al*. Co-occurrence patterns of soybean rhizosphere microbiome at a continental scale[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **118**: 178-186.

[34] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, *et al*. Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO_2[J]. mBio, 2011, **2**(4): e00122-11.

[35] Guimerà R, Sales-pardo M, Amaral L A N. Classes of complex networks defined by role-to-role connectivity profiles[J]. Nature Physics, 2007, **3**(1): 63-69.

[36] 石文莉, 蒋如东, 马天海, 等. 太湖不同营养水平湖区沉积环境微生物分子生态网络特征及其环境响应分析[J]. 南京大学学报(自然科学版), 2018, **54**(5): 1045-1056.
Shi W L, Jiang R D, Ma T H, *et al*. Molecular ecological network analysis of sedimental microbial community and its response to environmental factors in different trophic status areas of Taihu Lake [J]. Journal of Nanjing University (Natural Science), 2018, **54**(5): 1045-1056.

[37] Hou L F, Zhou Q, Wu Q P, *et al*. Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant [J]. Science of the Total Environment, 2018, **625**: 449-459.

[38] Zhu L J, Zhou H X, Xie X Y, *et al*. Effects of floodgates operation on nitrogen transformation in a lake based on structural equation modeling analysis [J]. Science of the Total Environment, 2018, **631-632**: 1311-1320.

[39] Gao J, Duan Y, Liu Y, *et al*. Long-and short-chain AHLs affect AOA and AOB microbial community composition and ammonia oxidation rate in activated sludge[J]. Journal of Environmental Sciences, 2019, **78**: 53-62.

[40] Figuerola E L M, Leonardo E. Bacterial taxa abundance pattern in an industrial wastewater treatment system determined by the full rRNA cycle approach [J]. Environmental Microbiology, 2007, **9**(7): 1780-1789.

[41] Miao Y, Liao R H, Zhang X X, *et al*. Metagenomic insights into salinity effect on diversity and abundance of denitrifying bacteria and genes in an expanded granular sludge bed reactor treating high-nitrate wastewater [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, **277**: 116-123.

[42] Dogs M, Teshima H, Petersen J, *et al*. Genome sequence of *Phaeobacter daeponensis* type strain (DSM 23529^T), a facultatively anaerobic bacterium isolated from marine sediment, and emendation of *Phaeobacter daeponensis* [J]. Standards in Genomic Sciences, 2013, **9**(1): 142-159.

[43] Callaghan A V, Davidova I A, Savage-ashlock K, *et al*. Diversity of benzyl-and alkylsuccinate synthase genes in hydrocarbon-impacted environments and enrichment cultures[J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(19): 7287-7294.

[44] Caro-Quintero A, Auchtung J, Deng J, *et al*. Genome sequencing of five *Shewanella baltica* strains recovered from the oxic-anoxic interface of the Baltic Sea [J]. Journal of Bacteriology, 2012, **194**(5): 1236-1236.

[45] Zhang P F, Peng Y K, Lu J L, *et al*. Microbial communities and functional genes of nitrogen cycling in an electrolysis augmented constructed wetland treating wastewater treatment plant effluent [J]. Chemosphere, 2018, **211**: 25-33.

[46] Mohd Yasin N H, Sanchez-Torres V, MAEDA T. Enhanced reduction of waste activated sludge at a low temperature by locally isolated strains *Pseudomonas* sp. VNT and *Aeromonas* sp. VNT [J]. Bioresource Technology, 2014, **174**: 134-141.

[47] Yang L, Wang X H, Cui S, *et al*. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a metal resistant bacterium *Pseudomonas putida* strain NP5 [J]. Bioresource Technology, 2019, **285**: 121360.

[48] Huang T L, Guo L, Zhang H H, *et al*. Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir[J]. Bioresource Technology, 2015, **196**: 209-216.

[49] Yang M, Lu D W, Qin B D, *et al*. Highly efficient nitrogen removal of a coldness-resistant and low nutrient needed bacterium, *Janthinobacterium* sp. M-11 [J]. Bioresource Technology, 2018, **256**: 366-373.

[50] 沈烽, 黄睿, 曾巾, 等. 分子生态网络分析研究进展[J]. 环境科学与技术, 2016, **39**(S1): 94-98.
Shen F, Huang R, Zeng J, *et al*. Progress of the molecular ecology network analysis [J]. Environmental Science & Technology, 2016, **39**(S1): 94-98.

《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道成果要有创新性,论点明确,文字精炼,数据可靠. 全文不超过8 000字(含图、表、中英文摘要及参考文献). 国家自然科学基金项目、国家科技攻关项目、国际合作项目或其它项目请在来稿中注明(在首页以脚注表示). 作者投稿时请先登陆我刊网站(www. hjkx. ac. cn)进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面给出的提示信息投稿即可.

2. 稿件请按 GB 7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》中学术论文的规范撰写. 论文各部分的排列顺序为:题目;作者姓名;作者工作单位、地址、邮政编码;中文摘要;关键词;中图分类号;英文题目;作者姓名及单位的英译名;英文摘要;关键词;正文;致谢;参考文献.

3. 论文题目应简练并准确反映论文内容,一般不超过 20 字,少用副标题.

4. 中文摘要不少于 300 字,以第三人称写. 摘要内容包括研究工作的目的、方法、结果(包括主要数据)和结论,重点是结果和结论. 英文摘要与中文对应,注意人称、时态和语言习惯,以便准确表达内容.

5. 前言包括国内外前人相关工作(引文即可)和本工作的目的、特点和意义等. 科普知识不必赘述.

6. 文中图表应力求精简,同一内容不得用图表重复表达,要有中英文对照题目. 图应大小一致,曲线粗于图框,图中所有字母、文字字号大小要统一. 表用三线表. 图表中术语、符号、单位等应与正文一致.

7. 计量单位使用《中华人民共和国法定计量单位》(SI). 论文中物理计量单位用字母符号表示,如 mg(毫克),m(米),h(小时)等. 科技名词术语用国内通用写法,作者译的新名词术语,文中第一次出现时需注明原文.

8. 文中各级标题采用 1,1. 1,1. 1. 1 的形式,左起顶格书写, 3 级以下标题可用(1),(2)……表示,后缩 2 格书写.

9. 文中外文字母、符号应标明其大小写,正斜体. 生物的拉丁学名为斜体. 缩略语首次出现时应给出中文全称,括号内给出英文全称和缩略语.

10. 未公开发表资料不列入参考文献,可在出现页以脚注表示. 文献按文中出现的先后次序编排. 常见文献书写格式为:

期刊:作者(外文也要姓列名前). 论文名[J]. 期刊名,年,卷(期):起页-止页.

图书:作者. 书名[M]. 出版地:出版社,年. 起页-止页.

会议文集:作者. 论文名[A]. 见(In):编者. 文集名[C]. 出版地:出版社(单位),年. 起页-止页.

学位论文:作者. 论文名[D]. 保存地:保存单位,年份.

报告:作者. 论文名[R]. 出版地:出版单位,出版年.

专利:专利所有者. 专利题名[P]. 专利国别:专利号,出版日期.

11. 来稿文责自负,切勿一稿多投. 编辑对来稿可作文字上和编辑技术上的修改和删节. 在 3 个月内未收到本刊选用通知,可来电询问.

12. 投稿请附作者单位详细地址,邮编,电话号码,电子邮箱等. 编辑部邮政地址:北京市 2871 信箱;邮编:100085;电话:010-62941102,010-62849343;传真:010-62849343;E-mail:hjkx@ rcees. ac. cn;网址:www. hjkx. ac. cn

HUANJING K0EXUE Vol. 41 No. 5
Environmental Science (monthly) May 15, 2020

CONTENTS