

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第4期

Vol.33 No.4

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

碳同位素比技术定量估算城市大气 CO ₂ 的来源	刘卫, 位楠楠, 王广华, 姚剑, 曾友石, 范雪波, 耿彦红, 李燕 (1041)
广州大气降水中稳定同位素对 2008 年初华南地区冰雪灾害期间水汽来源的反映	廖聪云, 钟巍, 马巧红, 薛积彬, 尹焕玲, 龙昆 (1050)
北京雾霾天气期间气溶胶光学特性	于兴娜, 李新妹, 登增然登, 德庆央宗, 袁帅 (1057)
白马泉风景区夏季大气 PM _{2.5} 中二次有机物的初步研究	代东决, 李黎, 刘子芳, 赵敏, 冯加良, 赖玮, 曾燕梅, 周宇, 刘露云, 邓仕槐 (1063)
机动车尾气排放 VOCs 源成分谱及其大气反应活性	乔月珍, 王红丽, 黄成, 陈长虹, 苏雷燕, 周敏, 徐骅, 张钢锋, 陈宜然, 李莉, 陈明华, 黄海英 (1071)
法国梧桐叶片氮含量及氮同位素对城市大气湿沉降氮的响应研究	王燕丽, 肖化云, 肖红伟 (1080)
胶州湾及邻近海域表层海水中一氧化氮浓度分布及其影响因素探讨	薛超, 刘春颖, 杨桂朋, 祝陈坚, 张洪海 (1086)
基于不确定性分析的太湖水体多环芳烃的生态风险评价	郭广慧, 吴丰昌, 何宏平, 冯承莲, 张瑞卿, 李会仙 (1091)
流域水质时空分布特征及其影响因素初析	黄金良, 黄亚玲, 李青生, 周增荣, 冯媛, 张祯宇 (1098)
潮白河周丛生物群落元素组成与水质变化的生态计量学关系研究	崔经国, 单保庆, 王帅 (1108)
春季盘溪水质日变化规律及水质评价	张千千, 王效科, 郝丽岭, 逯非, 欧阳志云, 侯培强 (1114)
西南喀斯特流域风化作用季节性变化研究	肖琼, 沈立成, 杨雷, 伍坤宇, 陈展图 (1122)
三峡水库开县消落区水域冬季蓄水期间藻类群落结构与水质评价	郭劲松, 谢丹, 李哲, 陈园, 孙志禹, 陈永柏, 龙曼 (1129)
淀山湖水华高发期浮游植物群落变化特征研究	徐春燕, 杨洁, 马明睿, 胡雪芹, 由文辉 (1136)
三峡库区典型消落带草本植物氮磷养分浸泡释放实验	王建超, 朱波, 汪涛, 易礼军 (1144)
沂蒙山区典型小流域特殊降雨的磷素输出特征	李振伟, 于兴修, 刘前进, 井光花 (1152)
合肥城区地表灰尘氮磷形态分布及生物有效性	李如忠, 周爱佳, 童芳, 李峰, 钱家忠 (1159)
鹤地水库沉积物营养盐及重金属分布和污染特征分析	张华俊, 陈修康, 韩博平, 罗勇, 杨浩文, 曾艳, 陈敬安 (1167)
三门峡库区河流湿地沉积物重金属赋存形态和风险评价	敖亮, 单保庆, 张洪, 唐文忠 (1176)
黄河三角洲滨海湿地表层沉积物重金属区域分布及生态风险评价	刘志杰, 李培英, 张晓龙, 李萍, 朱龙海 (1182)
竺山湾重金属污染底泥环保疏浚深度的推算	姜霞, 王雯雯, 王书航, 金相灿 (1189)
雷州近海、流沙湾和深圳湾沉积物 PAHs 污染特征分析	赵利容, 孙省利, 柯盛 (1198)
中国与印度典型城市道路街尘中多环芳烃与黑碳的对比研究	潘苏红, 张千, 孙亚莉, 解启来 (1204)
三江平原典型灌区井灌地下水中铁的随水迁移特征	邹元春, 于晓菲, 霍莉莉, 吕宪国, 姜明 (1209)
海水淡化水在既有管网输配的铁释放控制研究	田一梅, 刘扬, 赵鹏, 单金林, 杨所印, 刘伟 (1216)
新生态铁的混凝作用探索	杨雪, 张景成, 关小红 (1221)
饮用水中甲羟孕酮的臭氧氧化降解研究	岳婵媛, 缪恒峰, 任洪艳, 阮文权 (1227)
核壳式磁性碳纳米吸附剂的制备及其对水环境中金霉素的吸附研究	王懿萱, 张娣, 牛红云, 孟昭福, 蔡亚岐 (1234)
络合-超滤耦合工艺去除水中镍离子的研究	秦妹, 邵嘉慧, 何义亮, 李雯玺 (1241)
赤铁矿光助类 Fenton 降解有毒有机污染物	张钰, 顾彦, 杨慧, 何燕, 李瑞萍, 黄应平, 张爱清 (1247)
掺氮 Ta ₂ O ₅ 诱发可见光-类 Fenton 体系降解阿特拉津研究	赵璐, 邓一荣, 杜瑛珣, 傅翔 (1252)
O ₃ /H ₂ O ₂ 降解水中扑灭通效能研究	李绍峰, 孙楚 (1260)
Pr-N 共掺杂 TiO ₂ 光电催化降解孔雀石绿动力学	沙爽, 周少奇, 张小娜, 周晓 (1267)
铜陵相思谷尾矿用于处理酸性矿山排水的实验研究	张楠, 陈天虎, 周跃飞, 黎少杰, 金杰, 王延明 (1272)
聚合铝铁对 A ² /O 系统 EPS 及生物絮凝性能的影响	温沁雪, 刘爱翠, 陈志强, 施汉昌, 吕炳南 (1278)
温度对污水脱氮系统污染物去除效果及氧化亚氮释放的影响	张婷婷, 张建, 杨芳, 谢慧君, 胡振, 李一冉 (1283)
温度对厌氧氨氧化反应器脱氮效能稳定性的影响	李祥, 黄勇, 郑宇慧, 袁怡, 李大鹏, 潘杨, 张春蕾 (1288)
好氧颗粒污泥处理制糖工业废水厌氧出水的除磷特性研究	王硕, 于水利, 时文歆, 暴瑞玲, 衣雪松, 李建政 (1293)
除磷颗粒污泥系统中不同粒径颗粒的理化特性分析	李志华, 张玉蓉, 杨帆, 李胜, 姬晓琴 (1299)
利用氧化亚氮还原酶基因 (nosZ) 评价人工湿地系统中的反硝化菌	王晓君, 陈少华, 张兆基, 肖俊超 (1306)
紫外诱变法提高好氧反硝化菌降解性能的研究	于佳佳, 陈浚, 杨宣, 陈建孟 (1313)
1 株异养硝化菌胞外聚合物的研究	陈哲, 张斌, 湛志强, 邱志刚, 郭迎庆, 李君文, 王景峰 (1318)
氨氮对稀有鮕鲫胚胎及卵黄囊期仔鱼的毒性效应研究	王志坚, 鲁增辉, 石萍 (1323)
多年蔬菜连作对土壤氨氧化微生物群落组成的影响	孟德龙, 杨扬, 伍延正, 吴敏娜, 秦红灵, 朱亦君, 魏文学 (1331)
生物质炭施用对土壤中氯虫苯甲酰胺吸附及消解行为的影响	王廷廷, 余向阳, 沈燕, 张超兰, 刘贤进 (1339)
水稻光合同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究: ¹⁴ C连续标记法	聂三安, 周萍, 葛体达, 童成立, 肖和艾, 吴金水, 张杨珠 (1346)
油田污染土壤残油组成与特征参数分析	王坚, 张旭, 李广贺 (1352)
挥发性氯代烃在湿润土壤中的平衡吸附研究	孟凡勇, 刘锐, 小林刚, 万梅, 余素林, 陈吕军 (1361)
田间土壤外源铜镍在小麦中的累积及其毒害研究	黄锦孙, 韦东普, 郭雪雁, 马义兵 (1369)
中国磷消费结构的变化特征及其对环境磷负荷的影响	马敦超, 胡山鹰, 陈定江, 李有润 (1376)
基于 3MRA 模型的填埋场安全填埋废物污染物阈值评估方法与应用研究	袁英, 席北斗, 何小松, 魏自民, 李鸣晓, 姜永海, 苏婧, 安达 (1383)
填埋垃圾初始含水率对渗滤液产量的影响及修正渗滤液产量计算公式	兰吉武, 詹良通, 李育超, 陈云敏 (1389)
生物反应器填埋场中邻苯二甲酸二丁酯的迁移转化	方程冉, 龙於洋, 沈东升 (1397)
岩溶区峰丛洼地植被指数的克里格分析	杨奇勇, 蒋忠诚, 马祖陆, 曹建华, 罗为群, 李文军, 段晓芳 (1404)
《环境科学》征订启事 (1062) 《环境科学》征稿简则 (1107) 信息 (1135, 1215, 1396)	

利用氧化亚氮还原酶基因 (*nosZ*) 评价人工湿地系统中的反硝化菌

王晓君¹, 陈少华^{1*}, 张兆基¹, 肖俊超^{1,2}

(1. 中国科学院城市环境研究所城市环境与健康重点实验室, 厦门 361021; 2. 集美大学生物工程学院, 厦门 361021)

摘要: 应用人工潜流湿地净化微污染地表水, 出水用于补给人工景观河. 利用定量 PCR 测定了湿地植物根际土壤和景观河底泥中 16S rDNA 和 *nosZ* 的丰度, 并采用 PCR-DGGE 技术考察了样品中含 *nosZ* 基因的群落结构及其相似性. 定量 PCR 结果表明, 潜流湿地及人工景观河 16S rDNA、*nosZ* 平均绝对丰度 (以 DNA 计) 分别为 $1.91\text{E}+07$ 、 $1.26\text{E}+06$ 和 $2.68\text{E}+07$ 、 $8.37\text{E}+05$ copies·ng⁻¹, 以干土计时分别为 $1.45\text{E}+11$ 、 $9.31\text{E}+09$ 和 $5.31\text{E}+11$ 、 $1.45\text{E}+10$ copies·g⁻¹. 景观河底泥中微生物总量和反硝化菌数量要高于湿地根际土壤, 但是后者 *nosZ* 相对丰度 (3.8% ~ 10.1%) 则明显高于前者 (1.7% ~ 4.1%). 根际土壤和底泥样品聚类分析相似度低, 根际土壤优势菌种大部分与红杆菌目 (*Rhodobacterales*)、根瘤菌目 (*Rhizobiales*) 和伯克氏菌目 (*Burkholderiales*) 的细菌相似, 而底泥的优势菌种均为不可培养的微生物.

关键词: 人工湿地; *nosZ* 基因定量; *nosZ* 相对丰度; PCR-DGGE; 反硝化菌群落结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)04-1306-07

Denitrifying Bacteria of Constructed Wetland System Based on Nitrous Oxide Reductase Gene (*nosZ*)

WANG Xiao-jun¹, CHEN Shao-hua¹, ZHANG Zhao-ji¹, XIAO Jun-chao^{1,2}

(1. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 2. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: A horizontal subsurface flow constructed wetland was used to treat micro-pollution surface water and its effluent flowed into a landscape river as the water supplement. The abundance of the nitrous oxide reductase gene *nosZ* and 16S rDNA was investigated for the rhizosphere soil of the constructed wetland and the sediment of the landscape river by quantitative PCR. The diversity and similarity of denitrifiers were studied by using PCR-DGGE technique targeting the functional gene *nosZ*. The quantitative PCR results showed that the copy number of 16S rDNA and *nosZ* gene of the rhizosphere soil of the constructed wetland and the sediment of the landscape river were $1.91\text{E}+07$, $1.26\text{E}+06$ and $2.68\text{E}+07$, $8.37\text{E}+05$ copies·ng⁻¹ (by DNA), and $1.45\text{E}+11$, $9.31\text{E}+09$ and $5.31\text{E}+11$, $1.45\text{E}+10$ copies·g⁻¹ (by dry soil), respectively. Generally, the total bacterial count and denitrifiers in the sediment of the landscape river was higher than that of the constructed wetland, but the relative abundance of *nosZ* of the latter (3.8% - 10.1%) was significantly higher than that of the former (1.7% - 4.1%). There was low similarity between the two niches in cluster analysis. The predominant species of rhizosphere soil were mainly contained *Rhodobacterales*, *Rhizobiales* and *Burkholderiales*, although the predominant species of sediment were uncultured bacteria.

Key words: constructed wetland; *nosZ* gene quantity; relative abundance of *nosZ*; PCR-DGGE; community structure of denitrifying bacteria

人工湿地处理点源或面源氮污染均可达到较好的处理效果, 总氮的去除除依靠湿地植物的吸收同化作用外更重要的是微生物的作用, 后者主要包括反硝化及厌氧氨氧化等^[1], 探究湿地系统除氮微生物的群落结构及丰度对联系实际处理效果具有重要意义. 反硝化细菌具有 NO₃⁻ 向 N₂ 转化所需要的 4 种酶的编码基因, 分别是硝酸盐还原酶基因 *nar*, 亚硝酸盐还原酶基因 *nir*, 一氧化氮还原酶基因 *nor* 和氧化亚氮还原酶基因 *nos*. 其中, 氧化亚氮还原酶基因因其参与催化 N₂O 向 N₂ 转化这一减少温室气体排放的过程而受到关注. 目前, 已经展开不同生境下

以 *nosZ* 基因作为靶基因研究微生物种群反硝化能力的工作, 如自然河流沉积物、农业土壤、森林/草地土壤等^[2~5]. 基于 *nosZ* 基因的系统发育树在不同生境下变化非常大, 不同样品的土壤环境会影响反硝化菌的群落结构、活性及丰度.

近年来, 人工湿地系统脱氮的研究主要集中在氮的去除机制及湿地类型、湿地基质、不同类型植物

收稿日期: 2011-06-16; 修订日期: 2011-09-28

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX2-YW-453); 国家科技支撑计划项目 (2009BAC57B02)

作者简介: 王晓君 (1987 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制技术, E-mail: xjwang@iue.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: shchen@iue.ac.cn

种植及比例、水力停留时间、污染物负荷和微生物的作用对去除效果的影响^[6-10],但是系统除氮效果与微生物的定量研究还相对较少. 研究湿地系统的 *nosZ* 基因能够表征系统彻底完成反硝化(即完全生成 N_2)的潜在能力,本研究对湿地植物根际土壤和人工景观河底泥氧化亚氮还原酶基因 *nosZ* 的丰度和反硝化群落结构进行了初步研究和探讨,以期为进一步利用分子生物学手段研究人工湿地污染物净化机制和水质自净机制提供基础数据和信息.

1 材料与方法

1.1 系统及采样

本实验对象为某科技园区内人工湿地系统,包括用于水源净化的人工湿地和景观河两部分,于2009年1月建成投入使用. 系统补水水源为园区外小河. 设计补水水源经人工湿地净化后出水水质主要指标应达到《城市污水再生利用 景观环境用水水质》(GB/T 18921-2002)观赏性景观环境用水标准. 人工湿地为碎石床潜流湿地,总面积为1 200 m^2 ,分为三段. 第一段为氧化塘,面积为400 m^2 ,第二段为碎石床,种植美人蕉及菖蒲,第三段碎石床种植菖蒲及部分伞草,由于湿地中没有土壤介质,植物直接种植在碎石上. 分别于湿地的前、中、后部的菖蒲根部采集3个根际土壤样品(CW1~CW3). 沿人工景观河上游至下游选择5个代表性样点,采集5个河底底泥样品(RS1~RS5),底泥泥龄为3 a,具体位置如图1所示.



CW 代表人工湿地,RS 代表景观河底泥

图1 人工湿地及景观河采样点

Fig. 1 Sampling sites of constructed wetland and landscape river

1.2 水质监测指标及方法

人工湿地的进水水样取自湿地配水井,出水水样取自湿地出水渠,分析的水质指标包括 COD、TN、 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N 和 TP 等,其中 COD 采用 5B-3C 型 COD 快速测定仪(连华科技,中国)测定, TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法, NH_4^+ -N

采用纳氏试剂光度法, NO_3^- -N 采用紫外分光光度法, NO_2^- -N 采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法,TP 采用钼酸铵分光光度法.

1.3 DNA 提取

直接称取 500 mg 土壤/污泥样品至 2 mL 灭菌离心管中,总 DNA 的提取和纯化按照 Soil DNA Kit (Omega, USA) 试剂盒说明步骤进行.

1.4 定量 PCR

Real-time PCR 相比于其他定量技术具有诸多方面的优点,比如相对高的精确性、重现性及快速分析的能力. 来自本实验室的 CloneG1 和 nos68 分别作为 16S rDNA 和 *nosZ* 的标准质粒,标准质粒的提取方法按照 Plasmid Mini Kit I (Omega, USA) 试剂盒说明步骤进行. 实验前,对标准质粒进行稀释. PCR 反应体系 (20 μ L) 使用 SYBR Green Real-time PCR Master Mix-Plus-(TOYOBO, Japan),DAN 样品 2 μ L,16S rDNA 和 *nosZ* 使用的基因引物分别为 338F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 518R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'),*nosZ*-F (5'-CGYTGTTC MTCGACAGCCAG-3') 和 *nosZ*1622R (5'-CGSACCTT STTGCCSTYGGC-3')^[11] 浓度分别为 0.6 μ mol·L⁻¹ 和 0.8 μ mol·L⁻¹. 采用 ABI PRISM 7500 定量 PCR 仪 (Applied Biosystem, USA),16S rDNA PCR 反应条件为 95℃ 60 s; 95℃ 15 s,55℃ 15 s,72℃ 45 s,循环 40 次. *nosZ* 基因 PCR 反应条件为 95℃ 60 s; 95℃ 15 s,53℃ 15 s,72℃ 45 s,循环 40 次. 实验均在 72℃ 进行荧光数据收集,所有样品重复 3 次并设置阴性对照. 溶解曲线分析和琼脂糖凝胶电泳鉴定产物的特异性.

1.5 *nosZ* 基因 DGGE 实验

1.5.1 PCR 扩增

使用反硝化细菌编码氧化亚氮还原酶基因特异性引物 *nosZ*-F:*nosZ*-1622R-GC 对样品进行扩增,50 μ L 的 PCR 反应体系组成如下:5 μ L 10 × PCR buffer; 1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂; 1.5 U *Taq* polymerase (Fermentas, Canada); 200 μ mol·L⁻¹ dNTPs; 0.125 μ mol·L⁻¹ (each) primer; DNA 10~100 ng,无菌去离子水补齐至 50 μ L. 降落 PCR 扩增条件:95℃ 预变性 15 min; 94℃ 变性 30 s,66~56℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min,前 10 次循环每次循环退火温度降低 1℃,后 30 次循环退火温度维持在 56℃ 不变; 72℃ 最终延伸 10 min. 扩增片段长度为 470 bp 左右,产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测.

1.5.2 DGGE 凝胶电泳

PCR 扩增产物采用 BIO-RAD 公司 Dcode system 进行变性梯度凝胶电泳分析,采用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶,变性梯度范围为 50% ~ 80%, $1 \times \text{TAE}$ 电泳缓冲液在 60℃、140 V 下运行 13 h^[12]. 电泳结束后,将凝胶用 SYBR GREEN I 工作液染色,使用荧光成像系统 (Ettan DIGE Imager, GE Healthcare) 拍照分析.

1.5.3 PCR-DGGE 图谱分析及片段序列测定

用 Bio-Rad Quantity One 软件进行图像处理及分析. 根据 Bio-Rad Quantity One 条带检测系统的检测结果,采用 UPGAMA 算法考察人工湿地和景观河底泥这 2 个生态系统间微生物聚类的相似性.

选取代表性的 DGGE 条带进行 PCR 扩增,扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检验后测序 (上海美吉生物医药技术有限公司). 测序结果输入 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 中进行

比对,采用 MEGA4 软件 NJ 算法绘制系统进化树.

2 结果与讨论

2.1 人工湿地对污染物的去除效率

人工潜流湿地对于 COD、TN、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 及 TP 的平均去除率分别为 23.4%、57.0%、57.3%、39.5%、80.0% 和 40.9%, 其中 TN、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 及 TP 的去除率均在一般人工湿地去除率的范围区间内^[8,13]. 有效去除水中的有机污染物是人工湿地的显著特点之一,人工湿地处理生活污水和其他废水 COD 的去除率一般都在 60% ~ 90%, 而本实验的湿地进水为地表水 (表 1), 由于有机物浓度比较低,水力停留时间较短,因此去除率相对于生活污水来说要低一些,这与刘红等^[14]的研究结果一致.

表 1 人工湿地进出水水质情况¹⁾ / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 1 Characteristics of the influent and effluent of the constructed wetland / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

项目	COD	TN	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$	$\text{NO}_3^- - \text{N}$	$\text{NO}_2^- - \text{N}$	TP
湿地进水	46.94 (26.04)	4.64 (1.61)	1.61 (1.11)	0.75 (0.52)	0.20 (0.13)	0.39 (0.10)
湿地出水	35.98 (19.98)	1.99 (0.78)	0.69 (0.20)	0.45 (0.35)	0.04 (0.03)	0.23 (0.12)

1) 表中数值表示为均值 (SD)

湿地的脱氮效率比较稳定,基本都在 50% 以上,最高可达到 80% 左右,这可能与反硝化细菌在湿地环境中较高的基因丰度有关,将在本研究中进一步的讨论. 但湿地的反硝化率难以进一步提高,这可能是由于进水中有机物浓度低,异养反硝化受到限制.

2.2 定量 PCR 结果

2.2.1 定量 PCR 标准曲线

16S rDNA 和 *nosZ* 基因数量范围从 $10^5 \sim 10^{10}$. 2 个基因的标准曲线都具有很好的线性关系 ($R^2 > 0.98$),并具有相似的斜率 (图 2). 16S rDNA 和 *nosZ* 基因 PCR 扩增效率分别为 95.5% 和 86.1%.

2.2.2 16S rDNA 和 *nosZ* 定量分析

人工潜流湿地及景观河底泥的 16S rDNA、*nosZ* 平均绝对丰度 (以 DNA 计) 分别为 $1.91\text{E} + 07$ 、 $1.26\text{E} + 06$ 和 $2.68\text{E} + 07$ 、 $8.37\text{E} + 05 \text{ copies} \cdot \text{ng}^{-1}$, 其中 *nosZ* 定量结果与 Ma 等^[15] 类似,但却比 Chon 等^[16] 的研究结果高出 2 个数量级. 从图 3 中也可看出,景观河底泥的 16S rDNA 含量略高于湿地,而湿地 *nosZ* 丰度则略高于景观河,这说明景观河底泥微环境中微生物总数占有一定优势. 而对于每克干重土壤,人工湿地及景观河底泥 16S rDNA、*nosZ* 平均绝对丰度分别为 $1.45\text{E} + 11$ 、 $9.31\text{E} + 09$ 和 5.31E

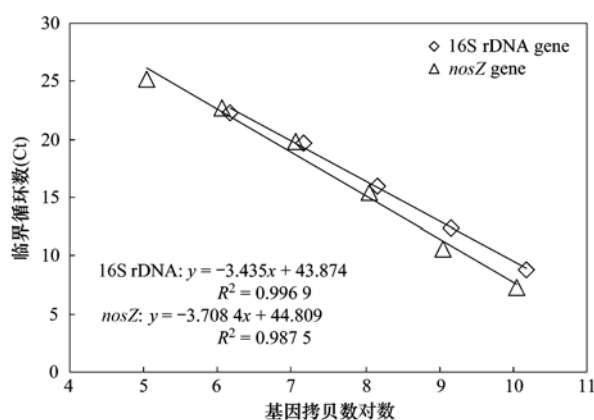
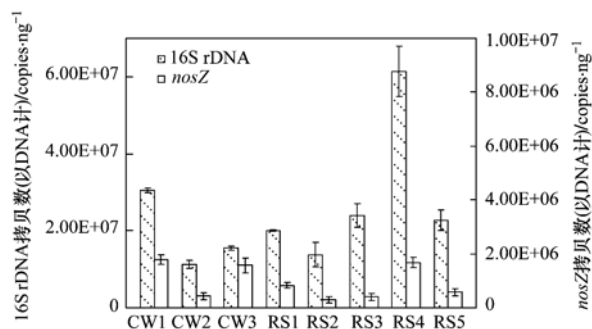
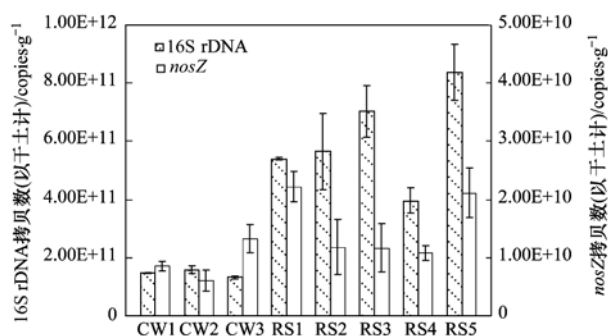


图 2 16S rDNA 和 *nosZ* 基因定量分析标准曲线

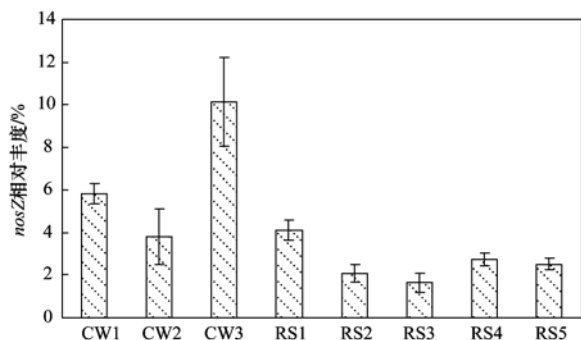
Fig. 2 Standard curves of 16S rDNA and *nosZ*

+ 11、 $1.45\text{E} + 10 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 明显高于用 MPN 计数法测得的湿地反硝化菌的数量^[17]. 景观河底泥 16S rDNA 与 *nosZ* 含量均高于人工湿地, (图 4), 这与用每纳克 DNA 表示的趋势不太一致,造成这种结果的原因是 2 种环境土壤含水率不同. 在 2 种环境内部, 16S rDNA 和 *nosZ* 的绝对丰度在空间上没有差异, 即人工潜流湿地进水端和出水端、景观河上游至下游 2 种基因的绝对丰度都没有明显的变化趋势, 这与 Chon 等^[16] 的研究结果类似.

2.2.3 *nosZ* 基因相对丰度

图3 不同样品每纳克 DNA 含 16S rDNA 和 *nosZ* 数量Fig. 3 16S rDNA and *nosZ* copy numbers per ng DNA in different samples图4 不同样品每克土壤(干重)含 16S rDNA 和 *nosZ* 基因数量Fig. 4 16S rDNA and *nosZ* copy numbers per gram dry soil in different samples

反硝化功能基因 *nosZ* 与 16S rDNA 二者绝对丰度的比值用来表示反硝化细菌占细菌总数的相对丰度. 人工湿地菖蒲根际土壤 *nosZ* 的相对丰度普遍高于景观河底泥样品(图 5), 平均值为 6.59% (SD = 3.22), 而景观河底泥相对丰度平均值为 2.63% (SD = 0.93), 人工湿地系统根际土壤 *nosZ* 占微生物总量比值较高. 景观河底泥样品和湿地系统土壤根际 *nosZ* 相对丰度范围分别为 1% ~ 4% 和 3% ~ 10%, 与文献报道的土壤中反硝化细菌占微生物总量的范

图5 不同环境样品中 *nosZ* 基因的相对丰度Fig. 5 Relative abundance of *nosZ* gene in different samples

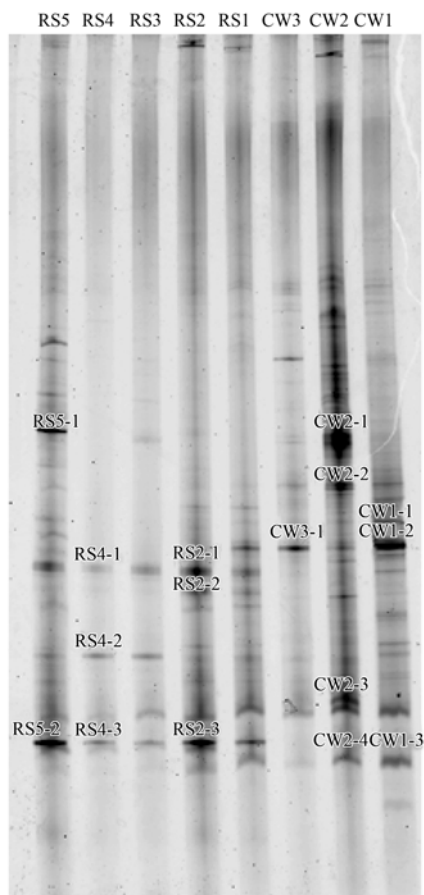
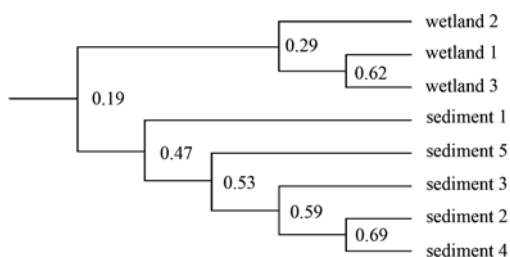
围吻合^[18], 其中后者 *nosZ* 相对丰度较大, 这可能是因为湿地植物(这里为菖蒲)根际环境更能为微生物提供良好的生存场所^[19], 根际较高的氧化还原电位利于硝化反应, 为后续反硝化反应提供电子受体, 而根部分泌的一些有机物质也有利于反硝化细菌的生长. Ibekwe 等^[7]发现 50% 的植物覆盖率能将 96.3% 的硝酸盐去除. 有报道指出菖蒲湿地较高的反硝化菌丰度可以控制 N_2O 的排放^[20].

利用 SPSS 统计分析软件对不同环境样品的 *nosZ* 基因丰度进行方差分析, 每纳克 DNA ($P = 0.301$) 和每克干土 ($P = 0.143$) 的 P 值均大于临界值 ($P = 0.05$), 表明环境条件与反硝化菌总数之间没有显著相关, 但是环境条件对反硝化菌的相对丰度有显著性影响 ($P = 0.036$).

但是值得注意的是, 环境样品中反硝化基因的存在并不代表反硝化细菌会表现出预期的反硝化活性, 基于 mRNA 的反转录定量 PCR 反应可以评价反硝化基因的转录活性, 而反硝化相关功能酶的研究可以用于评价翻译活性及不同环境下的酶活性. 因此要彻底探明反硝化反应的生物过程还需要深入研究.

2.3 *nosZ* 基因 DGGE 图谱分析

DGGE 图谱中的每一条带代表一个可能的细菌类群或可操作分类单元 (operation taxonomy unit), DGGE 图谱中电泳条带越多说明微生物多样性越丰富; 条带信号越强, 表示该种属的微生物数量就越多. 人工湿地和景观河底泥反硝化菌 DGGE 分离图谱如图 6 所示. 从中可知, 菖蒲根际土壤的反硝化菌多样性要好于底泥, 有报道也指出种植植物的湿地微生物多样性要好于对照组^[21]. 相对于进水端根际土壤, 人工湿地中端反硝化菌种类更多, Kjellin 等^[22]也发现随着营养水平的降低, 反硝化菌群的多样性反而增高. 每个样品都有较亮的条带出现, 表明在系统的不同位置均存在一定数量的反硝化优势种群. 从人工湿地到景观河, 一些条带的亮度减弱甚至消失, 如 CW1-2 和 CW2-3, 另一些条带仅存于底泥样品中, 如 RS2-1 和 RS5-2, 说明这些条带所代表的细菌种属对环境条件较为敏感, 环境变化时, 这类反硝化菌在优势和非优势种群之间相互转换. 聚类分析中(图 7), 相似性呈现较为明显的环境分布特征. 景观河底泥样品之间反硝化群落相似度较高, 为 0.47 ~ 0.69, 但与湿地根际土壤样品的相似度仅为 0.19, 这说明不同环境对群落的选择具有很大的作用.

图6 *nosZ* DGGE 图谱Fig. 6 DGGE fingerprints of *nosZ* gene in different samples图7 湿地土壤与景观河底泥样品基于 *nosZ* 基因反硝化菌的聚类分析Fig. 7 Cluster analysis of denitrifying bacteria based on *nosZ* gene in different samples

将 DGGE 图谱中优势条带进行切胶测序,并根据序列比对结果绘制系统进化树,结果如图 8 所示。由图 8 可知,湿地根际土壤样品已比对上的序列大部分与 α -变形菌纲 (Alpha-Proteobacteria) 细菌相似,一部分与 β -变形菌纲 (Beta-Proteobacteria) 细菌相似,包括红杆菌目 (Rhodobacterales) 的红杆菌属 (*Rhodobacter*) 和副球菌属 (*Paracoccus*),根瘤菌目 (Rhizobiales) 的慢生根瘤菌科 (Bradyrhizobiaceae) 以

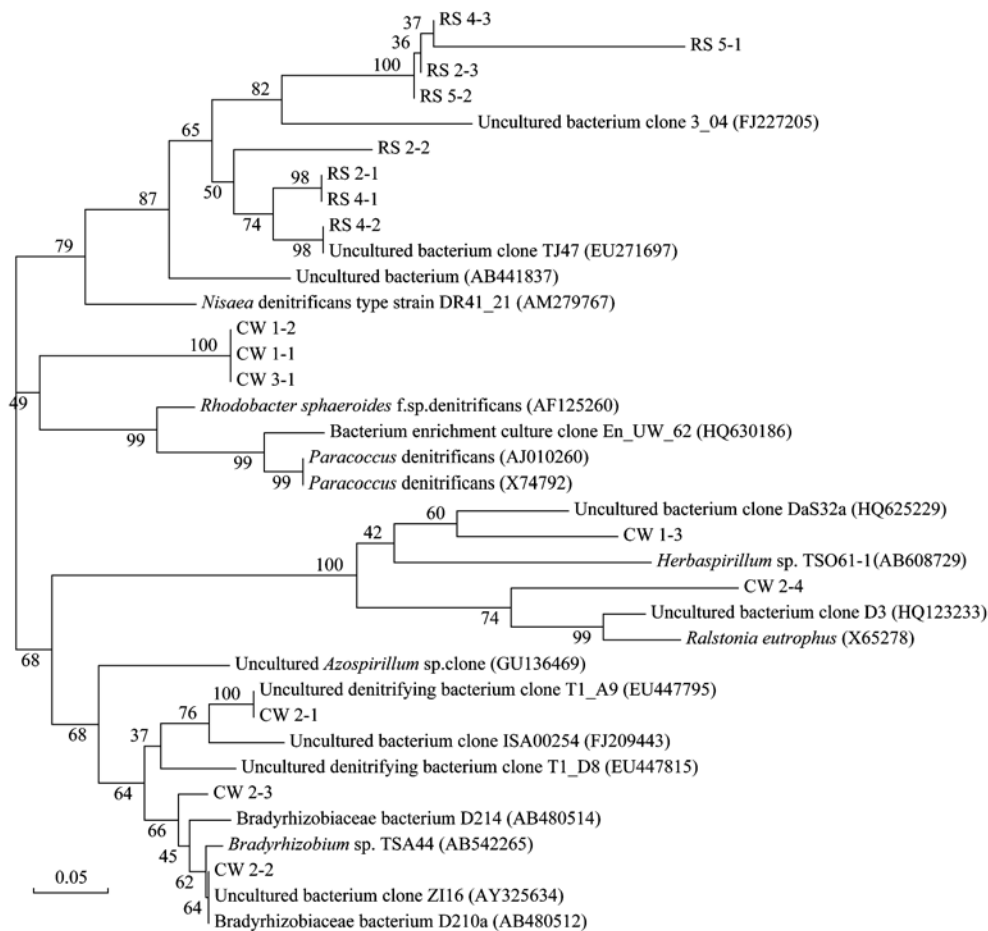
及伯克氏菌目 (Burkholderiales) 的伯克氏菌科 (Burkholderiaceae) 和草酸杆菌科 (Oxalobacteraceae)。景观河底泥 DGGE 条带没有比对上已知的反硝化细菌,说明底泥中存在大量不可培养的优势菌种。序列比对结果还表明,与根际土壤条带具有较高相似性的菌种,如 Uncultured bacterium clone D3 (HQ123233)、Uncultured bacterium clone DaS32a (HQ625229) 和 Uncultured denitrifying bacterium clone T1A9 (EU447795) 等均在草坪土壤、稻田土壤、活性污泥以及处理养猪废水的厌氧氧化塘等环境样品中检测到。而与底泥相似的菌种 Uncultured bacterium clone 3_04 (FJ227205) 和 Uncultured bacterium clone TJ47 (EU271697) 同样也在研究潮间带沉积物和人工湿地反硝化群落结构时作为优势菌种分离出来。文献[21]也指出人工湿地基于 *nosZ* 的 PCR-DGGE 获得的 *nosZ* 序列与自然河流沉积物、农业土壤及活性污泥中的同源性高,说明能进行反硝化作用的菌种在各个环境中均普遍存在且突变体存活率低。但是湿地不同植物种类、进水氨浓度和水力停留时间等因素均会影响不同样品中 *nosZ* 基因型的种类^[23,24]。此外,本系统中湿地优势菌种与 Satoshi 等^[25]分离出贫营养条件下的反硝化菌慢生根瘤菌 *Bradyrhizobium* sp. TSA44 (AB542265) 相似,这是因为湿地处理的是微污染地表水,其硝氮、亚硝氮浓度较低,这种环境条件下生长的反硝化菌可能多数属于对贫营养环境适应性较强的菌种。

3 结论

(1) 分子生物学的微观研究结果能够较好地解释湿地系统的反硝化效果。湿地系统脱氮效率比较稳定,这是因为系统中的反硝化菌具有较高的丰度以及稳定的群落结构。

(2) 无论用 $\text{copies} \cdot \text{ng}^{-1}$ (以 DNA 计) 还是 $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$ (以干土计) 表示,人工景观河底泥系统总细菌数量均高于湿地系统根际土壤,这说明相较于潜流湿地,底泥微环境更适合细菌总量的增长。但相对丰度结果显示,反硝化细菌更能够在根际环境中占较大比重,环境条件对反硝化菌的相对丰度有显著。

(3) 基于 *nosZ* 基因 PCR-DGGE 结果显示,不同环境样品有各自反硝化优势菌属。根际土壤和底泥样品聚类分析相似度低,说明环境对群落有选择作用。

图 8 根据 *nosZ* 基因构建的系统发育树Fig. 8 The *nosZ* gene-based phylogenetic tree

(4)测序结果表明,已比对上的序列多数属于红杆菌目、根瘤菌目和伯克氏菌目,而大量不可培养的优势菌种则与农业土壤、沉积物、人工湿地及活性污泥检测到的序列同源性高. 由于进水中总氮含量低,使得生长的反硝化菌可能多数属于对贫营养环境适应性较强的菌种.

参考文献:

- [1] 杨敦,周琪. 人工湿地脱氮技术的机理及应用[J]. 中国给水排水, 2003, **19**(1): 23-24.
- [2] Nogales B, Timmis K N, Nedwell D B, *et al.* Detection and diversity of expressed denitrification genes in estuarine sediments after reverse transcription-PCR amplification from mRNA [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(10): 5017-5025.
- [3] Rich J J, Heichen R S, Bottomley P J, *et al.* Community composition and functioning of denitrifying bacteria from adjacent meadow and forest soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(10): 5974-5982.
- [4] Dandie C E, Burton D L, Zebarth B J, *et al.* Changes in bacterial denitrifier community abundance over time in an agricultural field and their relationship with denitrification activity [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, **74**(19): 5997-6005.
- [5] Wallenstein M D, Myrold D D, Firestone M, *et al.* Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: insights from molecular methods [J]. Ecological Applications, 2006, **16**(6): 2143-2152.
- [6] Zhang D Q, Gersberg R M, Keat T S. Constructed wetlands in China [J]. Ecological Engineering, 2009, **35**(10): 1367-1378.
- [7] Ibekwe A M, Lyon S R, Leddy M, *et al.* Impact of plant density and microbial composition on water quality from a free water surface constructed wetland [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, **102**(4): 921-936.
- [8] Spieles D J, Mitsch W J. The effects of season and hydrologic and chemical loading on nitrate retention in constructed wetlands: a comparison of low-and high-nutrient riverine systems [J]. Ecological Engineering, 2000, **14**(1-2): 77-91.
- [9] 张虎成,俞穆清,田卫,等. 人工湿地生态系统中氮的净化机理及其影响因素研究进展 [J]. 干旱区资源与环境, 2004, **18**(4): 163-168.
- [10] 黄德锋,李田. 复合垂直流湿地氨氧化菌种群结构及活性的

- 空间分布 [J]. 环境科学, 2008, **29**(8): 1260-1265.
- [11] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis Å, *et al.* Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, **49**(3): 401-417.
- [12] Sundberg C, Tonderski K, Lindgren P E. Potential nitrification and denitrification and the corresponding composition of the bacterial communities in a compact constructed wetland treating landfill leachates [J]. Water Science and Technology, 2007, **56**(3): 159-166.
- [13] Vymazal J. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience [J]. Ecological Engineering, 2002, **18**(5): 633-646.
- [14] 刘红, 代明利, 刘学燕, 等. 人工湿地系统用于地表水水质改善的效能及特征 [J]. 环境科学, 2004, **25**(4): 65-69.
- [15] Ma W K, Bedard-Hanghn A, Siciliano S D, *et al.* Relationship between nitrifier and denitrifier community composition and abundance in predicting nitrous oxide emissions from ephemeral wetland soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, **40**(5): 1114-1123.
- [16] Chon K, Chang J S, Lee E, *et al.* Abundance of denitrifying genes coding for nitrate (*narG*), nitrite (*nirS*), and nitrous oxide (*nosZ*) reductases in estuarine versus wastewater effluent-fed constructed wetlands [J]. Ecological Engineering, 2011, **37**(1): 64-69.
- [17] 吴娟, 张建, 贾文林, 等. 人工湿地污水处理系统中氧化亚氮的释放规律研究 [J]. 环境科学, 2009, **30**(11): 3146-3151.
- [18] Chèneby D, Philippot L, Hartmann A, *et al.* 16S rDNA analysis for characterization of denitrifying bacteria isolated from three agricultural soils [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, **34**(2): 121-128.
- [19] 戴媛媛, 杨新萍, 周立祥. 芦苇根际微环境对潜流人工湿地氮与 COD 去除性能的影响 [J]. 环境科学, 2008, **29**(12): 3387-3392.
- [20] Park N, Lee J, Chon K, *et al.* Investigating microbial activities of constructed wetlands with respect to nitrate and sulfate reduction [J]. Desalination and Water Treatment, 2009, **1**(1-3): 172-179.
- [21] 魏成, 刘平. 人工湿地污水净化效率与根际微生物群落多样性的相关性研究 [J]. 农业环境科学学报, 2008, **27**(6): 2401-2406.
- [22] Kjellin J, Hallin S, Wörmann A. Spatial variations in denitrification activity in wetland sediments explained by hydrology and denitrifying community structure [J]. Water Research, 2007, **41**(20): 4710-4720.
- [23] Ruiz-Rueda O, Hallin S, Bañeras L. Structure and function of denitrifying and nitrifying bacterial communities in relation to the plant species in a constructed wetland [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, **67**(2): 308-319.
- [24] Truu M, Juhanson J, Truu J. Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands [J]. Science of the Total Environment, 2009, **407**(13): 3958-3971.
- [25] Satoshi I, Naoaki A, Shigeto O, *et al.* Isolation of oligotrophic denitrifiers carrying previously uncharacterized functional gene sequences [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **77**(1): 338-342.

CONTENTS

Quantitative Estimation Source of Urban Atmospheric CO ₂ by Carbon Isotope Composition	LIU Wei, WEI Nan-nan, WANG Guang-hua, <i>et al.</i> (1041)
Moisture Sources of Guangzhou During the Freezing Disaster Period in 2008 Indicated by the Stable Isotopes of Precipitation	LIAO Cong-yun, ZHONG Wei, MA Qiao-hong, <i>et al.</i> (1050)
Optical Properties of Aerosol During Haze-Fog Episodes in Beijing	YU Xing-na, LI Xin-mei, DENG Zen-grandeng, <i>et al.</i> (1057)
Secondary Organic Tracers in Summer PM _{2.5} Aerosols from Baima Spring Scenic Area, Yaan, Sichuan Province	DAI Dong-jue, LI Li, LIU Zi-fang, <i>et al.</i> (1063)
Source Profile and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Vehicle Exhaust	QIAO Yue-zhen, WANG Hong-li, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (1071)
<i>Platanus orientalis</i> Foliar N% and δ ¹⁵ N Responses to Nitrogen of Atmospheric Wet Deposition in Urban Area	WANG Yan-li, XIAO Hua-yun, XIAO Hong-wei (1080)
Distribution and Controlling Factors of Nitric Oxide Concentrations in Surface Seawater of Jiaozhou Bay and Adjacent Waters	XUE Chao, LIU Chun-ying, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (1086)
Uncertainty Characterization Approaches for Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Taihu Lake	GUO Guang-hui, WU Feng-chang, HE Hong-ping, <i>et al.</i> (1091)
Preliminary Analysis of Spatiotemporal Variation of Water Quality and Its Influencing Factors in the Jiulong River Watershed	HUANG Jin-liang, HUANG Ya-ling, LI Qing-sheng, <i>et al.</i> (1098)
Ecological Stoichiometric Relationships of Periphyton Community Elemental Composition and Variations of Water Quality in the Chaobai River	 CUI Jing-guo, SHAN Bao-qing, WANG Shuai (1108)
Diurnal Variation and Evaluation of Water Quality of Panxi River in Spring	ZHANG Qian-qian, WANG Xiao-ke, HAO Li-ling, <i>et al.</i> (1114)
Weathering Seasonal Variations in Karst Valley in Southwest China	XIAO Qiong, SHEN Li-cheng, YANG Lei, <i>et al.</i> (1122)
Algal Community Structure and Water Quality Assessment on Drawdown Area of Kaixian Waters in Three Gorges Reservoir During Winter Storage Period	 GUO Jing-song, XIE Dan, LI Zhe, <i>et al.</i> (1129)
Characteristics of Phytoplankton Community Changes in Dianshan Lake During Peak Period of Algal Blooms	XU Chun-yan, YANG Jie, MA Ming-rui, <i>et al.</i> (1136)
Nitrogen and Phosphorus Release from Herbaceous Vegetation Under Simulated Inundation Experiment of Water-Level Fluctuation Zone in the Three Gorges Reservoir Area	 WANG Jian-chao, ZHU Bo, WANG Tao, <i>et al.</i> (1144)
Output Characteristics of Non-point Phosphorus from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area Under the Special Rainfall	LI Zhen-wei, YU Xing-xiu, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (1152)
Distribution and Bioavailability of Nitrogen and Phosphorus Species in the Urban Dusts from Hefei City	LI Ru-zhong, ZHOU Ai-jia, TONG Fang, <i>et al.</i> (1159)
Distribution and Pollution Characteristics of Nutrients and Heavy Metals in Sediments of Hedi Reservoir	ZHANG Hua-jun, CHEN Xiu-kang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (1167)
Heavy Metals Distribution and Risk Assessment of Sediments in the Riverine Wetland of Sanmenxia Reservoir	AO Liang, SHAN Bao-qing, ZHANG Hong, <i>et al.</i> (1176)
Regional Distribution and Ecological Risk Evaluation of Heavy Metals in Surface Sediments from Coastal Wetlands of the Yellow River Delta	 LIU Zhi-jie, LI Pei-ying, ZHANG Xiao-long, <i>et al.</i> (1182)
Calculation of Environmental Dredging Depth of Heavy Metal Polluted Sediments in Zhushan Bay of Taihu Lake	JIANG Xia, WANG Wen-wen, WANG Shu-hang, <i>et al.</i> (1189)
Characteristics of PAHs Pollution in Sediments from Leizhou Coastal Marine Area, Liusha Bay and Shenzhen Bay	ZHAO Li-rong, SUN Sheng-li, KE Sheng (1198)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Black Carbon in Road Dusts from Typical Cities of China and India	PAN Su-hong, ZHANG Gan, SUN Ya-li, <i>et al.</i> (1204)
Waterborne Iron Migration by Groundwater Irrigation Pumping in a Typical Irrigation District of Sanjiang Plain	ZOU Yuan-chun, YU Xiao-fei, HUO Li-li, <i>et al.</i> (1209)
Research on Controlling Iron Release of Desalted Water Transmitted in Existing Water Distribution System	TIAN Yi-mei, LIU Yang, ZHAO Peng, <i>et al.</i> (1216)
Exploration of Newly-Formed Ferric as the Coagulant	YANG Xue, ZHANG Jing-cheng, GUAN Xiao-hong (1221)
Degradation of Medroxyprogesterone in Drinking Water by Ozone Oxidation	YUE Chan-yuan, MIAO Heng-feng, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (1227)
Synthesis of Core/Shell Structured Magnetic Carbon Nanoparticles and Its Adsorption Ability to Chlortetracycline in Aquatic Environment	 WANG Yi-xuan, ZHANG Di, NIU Hong-yun, <i>et al.</i> (1234)
Removal of Nickel from Aqueous Solutions Using Complexation-Ultrafiltration Process	QIN Shu, SHAO Jia-hui, HE Yi-liang, <i>et al.</i> (1241)
Degradation of Organic Pollutants by Photo-Fenton-Like System with Hematite	ZHANG Yu, GU Yan, YANG Hui, <i>et al.</i> (1247)
Study on the Degradation of Atrazine in Photo-Fenton-Like System Under Visible Light Irradiation Promoted by N-doped Ta ₂ O ₅	ZHAO Lu, DENG Yi-rong, DU Ying-xun, <i>et al.</i> (1252)
Degradation of Prometon by O ₃ /H ₂ O ₂	LI Shao-feng, SUN Chu (1260)
Photoelectrocatalytic Degradation Kinetics of Malachite Green by Pr-N Co-doped TiO ₂ Photocatalyst	SHA Shuang, ZHOU Shao-qi, ZHANG Xiao-na, <i>et al.</i> (1267)
Experimental Study on Acid Mine Drainage Treatment Using Mine Tailings of Xiangsi Valley, Tongling, China	ZHANG Nan, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (1272)
Effect of Polymeric Aluminum-iron on EPS and Bio-flocculation in A ² /O System	WEN Qin-xue, LIU Ai-cui, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1278)
Effect of Temperature on Pollutant Removal and Nitrous Oxide Emission of Wastewater Nitrogen Removal System	ZHANG Ting-ting, ZHANG Jian, YANG Fang, <i>et al.</i> (1283)
Effect of Temperature on Stability of Nitrogen Removal in the ANAMMOX Reactor	LI Xiang, HUANG Yong, ZHENG Yu-hui, <i>et al.</i> (1288)
Phosphorus Removal Characteristics by Aerobic Granules in Normal Molasses Wastewater After Anaerobic Treatment	WANG Shuo, YU Shui-li, SHI Wen-xin, <i>et al.</i> (1293)
Physicochemical Characteristics of Granules with Different Size in a Granular Sludge System for Phosphorus Removal	LI Zhi-hua, ZHANG Yu-rong, YANG Fan, <i>et al.</i> (1299)
Denitrifying Bacteria of Constructed Wetland System Based on Nitrous Oxide Reductase Gene (<i>nosZ</i>)	WANG Xiao-jun, CHEN Shao-hua, ZHANG Zhao-ji, <i>et al.</i> (1306)
Improving Degradation Ability of an Aerobic Denitrifier by Ultraviolet Mutagenesis	YU Jia-jia, CHEN Jun, YANG Xuan, <i>et al.</i> (1313)
Characteristics of the Extracellular Polymeric Substances of a Heterotrophic Nitrifying Bacterium Strain	CHEN Zhe, ZHANG Bin, SEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1318)
Study on Toxic Effects of Ammonia on Embryonic and Yolk-sac Stage Larvae of Rare minnow	WANG Zhi-jian, LU Zeng-hui, SHI Ping (1323)
Effects of Continuous Cropping of Vegetables on Ammonia Oxidizers Community Structure	MENG De-long, YANG Yang, WU Yan-zheng, <i>et al.</i> (1331)
Impact of Biochar Amendment on the Sorption and Dissipation of Chlorantraniliprole in Soils	WANG Ting-ting, YU Xiang-yang, SHEN Yan, <i>et al.</i> (1339)
Quantifying Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Photo-assimilated Carbon Input into Soil Organic Carbon Pools Following Continuous ¹⁴ C Labeling	NIE San-an, ZHOU Ping, GE Ti-da, <i>et al.</i> (1346)
Compositions and Diagnostic Ratios of Heavily Degraded Crude Oil Residues in Contaminated Soil in Oilfields	WANG Jian, ZHANG Xu, LI Guang-he (1352)
Study on Equilibrium Adsorption of Volatile Chlorinated Hydrocarbons on Humid Soils	MENG Fan-yong, LIU Rui, Kobayashi Takeshi, <i>et al.</i> (1361)
Toxicity and Accumulation of Copper and Nickel in Wheat Plants Cropped on Alkaline and Acidic Field Soils	HUANG Jin-sun, WEI Dong-pu, GUO Xue-yan, <i>et al.</i> (1369)
Change Traits of Phosphorous Consumption Structure in China and Their Effects on Environmental Phosphorous Loads	MA Dun-chao, HU Shan-ying, CHEN Ding-jiang, <i>et al.</i> (1376)
Research Based on 3MRA Model About the Risk Assessment Methods and Applications of the Landfill Waste	YUAN Ying, XI Bei-dou, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (1383)
Impacts of Initial Moisture Content of MSW Waste on Leachate Generation and Modified Formula for Predicting Leachate Generation	LAN Ji-wu, ZHAN Liang-tong, LI Yu-chao, <i>et al.</i> (1389)
Transformation of Dibutyl Phthalate in Bioreactor Landfill	FANG Cheng-ran, LONG Yu-yang, SHEN Dong-sheng (1397)
Kriging Analysis of Vegetation Index Depression in Peak Cluster Karst Area	YANG Qi-yong, JIANG Zhong-cheng, MA Zu-lu, <i>et al.</i> (1404)

《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)

2012年4月15日 33卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 4 Apr. 15, 2012

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科学出版社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科学出版社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行