

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第8期

Vol.33 No.8

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

|                                                                                |                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 南海北部大气气相多溴联苯醚的含量及来源 .....                                                      | 李琦路, 李军, 刘向, 徐维海, 张干 (2533)                          |
| 河北张家口市大气污染观测研究 .....                                                           | 邵平, 王莉莉, 安俊琳, 周彦丽, 王跃思 (2538)                        |
| 大气中丙烷光氧化臭氧生成活性的烟雾箱模拟 .....                                                     | 黄丽华, 莫创荣, 徐永福, 贾龙 (2551)                             |
| 膜生物反应器处理甲苯性能及机制 .....                                                          | 叶杞宏, 魏在山, 肖盼, 李华琴, 张再利, 樊青娟 (2558)                   |
| 厨余垃圾堆肥过程中恶臭物质分析 .....                                                          | 张红玉, 邹克华, 杨金兵, 李国学, 杨青原, 张锋 (2563)                   |
| 北京城市生态系统地表水硝酸盐污染空间变化及其来源研究 .....                                               | 徐志伟, 张心昱, 任玉芬, 孙晓敏, 王效科, 王升忠 (2569)                  |
| 枯、平、丰水期长江3条支流表层水中多氯联苯的分布特征及风险评价 .....                                          | 李昆, 赵高峰, 周怀东, 曾敏, 廖柏寒, 吴正勇, 张盼伟, 柳敏 (2574)           |
| 三峡库区丰水期表层水中酚类的分布特征及潜在风险 .....                                                  | 吴正勇, 赵高峰, 周怀东, 李科林, 李昆, 张盼伟 (2580)                   |
| 东湖表层水体中全氟辛酸和全氟辛磺酸空间分布特征 .....                                                  | 陈静, 王琳玲, 朱湖地, 王贝贝, 刘黄诚, 曹梦华, 苗竹, 胡丽, 陆晓华, 刘光虹 (2586) |
| 三峡库区大宁河与磨刀溪重金属污染特征 .....                                                       | 安立会, 张艳强, 郑丙辉, 刘玥, 宋双双, 李子成, 陈浩, 赵兴茹, 林进 (2592)      |
| 长江水系表层沉积物重金属污染特征及生态风险性评价 .....                                                 | 王岚, 王亚平, 许春雪, 安子怡 (2599)                             |
| 江苏如东滩涂贝类养殖区表层沉积物中重金属来源分析及其潜在生物毒性 .....                                         | 李磊, 王云龙, 蒋玫, 袁璐, 沈新强 (2607)                          |
| 扰动强度对太湖沉积物中磷释放及其形态转化的影响 .....                                                  | 李大鹏, 黄勇 (2614)                                       |
| 干流倒灌异重流对香溪河库湾营养盐的补给作用 .....                                                    | 张宇, 刘德富, 纪道斌, 杨正健, 陈媛媛 (2621)                        |
| 常年淹水和干旱对三峡库区消落带菖蒲生长恢复的影响 .....                                                 | 李强, 高祥, 丁武泉, 朱启红, 欧媛, 刘瑜 (2628)                      |
| 温州城市降雨径流磷的负荷及其初始冲刷效应 .....                                                     | 周栋, 陈振楼, 毕春娟 (2634)                                  |
| 沂蒙山区典型小流域降雨径流的磷素输出特征 .....                                                     | 于兴修, 李振炜, 刘前进, 井光花 (2644)                            |
| 城郊农业区小流域土地利用结构对氮素输出的影响 .....                                                   | 杨峰, 王鹏举, 杨珊珊, 吴金水, 胡荣桂 (2652)                        |
| 基于 AnnAGNPS 模型四岭水库小流域氮磷流失特征的模拟研究 .....                                         | 边金云, 王飞儿, 杨佳, 俞洁, 楼莉萍, 俞丹萍 (2659)                    |
| 基于 GIS 和 L-THIA 模型的深圳市观澜河流域非点源污染负荷变化分析 .....                                   | 白凤姣, 李天宏 (2667)                                      |
| 黄土丘陵区坡面水蚀对降雨和下垫面微观格局的响应 .....                                                  | 卫伟, 贾福岩, 陈利顶, 吴东平, 陈瑾 (2674)                         |
| 强化混凝对腐殖酸和富里酸去除对比研究 .....                                                       | 周玲玲, 张永吉, 叶河秀, 张一清 (2680)                            |
| 九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测 .....                                       | 王青, 林惠荣, 张舒婷, 于鑫 (2685)                              |
| 布吉河丰水期总细菌和氨氧化细菌的定性和定量研究 .....                                                  | 孙海美, 白姣姣, 孙卫玲, 邵军 (2691)                             |
| 曝气生物滤池工艺脱氮性能及反硝化细菌群落结构特征研究 .....                                               | 彭晓兰, 刘聪, 陈吕军 (2701)                                  |
| 城市污水处理厂氧化沟工艺微生物种群分析 .....                                                      | 郭云, 杨殿海, 卢文健 (2709)                                  |
| IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析 .....                                               | 朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 阮文权 (2715)                            |
| 原子力显微镜液池成像技术应用于微絮凝过滤工艺过程中的实验条件优化 .....                                         | 郑蓓, 葛小鹏, 于志勇, 原盛广, 张文婧, 孙景芳 (2723)                   |
| UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 法对印染废水生化出水中不同种类有机物的去除效果 .....                 | 李新, 刘勇弟, 孙贤波, 徐宏勇, 钱飞跃, 李欣珏, 李暮 (2728)               |
| 蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 的异养培养条件优化及污水养殖 .....                   | 王秀锦, 李兆胜, 邢冠岚, 李卓凝, 袁红莉, 杨金水 (2735)                  |
| “Fe <sup>0</sup> /优势脱氯菌”体系降解 2,4,6-TCP 特性及机制研究 .....                           | 戴友芝, 郭丽丽, 史雷, 刘智勇, 高宝钗 (2741)                        |
| 树脂 D201 上粗漆酶的固定化及对孔雀石绿的脱色 .....                                                | 戚绪亮, 刘翔, 刘波, 王林, 王小春, 方超 (2747)                      |
| TiO <sub>2</sub> /PS/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 光催化剂的低温制备及其光催化和磁回收性能 ..... | 王雪姣, 任学昌, 念娟妮, 肖举强, 王刚, 常青 (2752)                    |
| 微波加热下苯的催化氧化性能研究 .....                                                          | 张钰彩, 卜龙利, 王晓晖, 刘海楠, 张浩 (2759)                        |
| 纳米磁粉协同解偶联剂作用下活性污泥性能的研究 .....                                                   | 高丽英, 汤兵, 梁玲燕, 黄绍松, 付丰连, 罗建中 (2766)                   |
| 好氧颗粒污泥沉降选择实验研究与定量描述 .....                                                      | 苏德足, 邓绣坤, 郑丽, 王畅, 金旺江, 沈俊 (2773)                     |
| 超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中水解酶活性变化研究 .....                                               | 叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝建, 许燕滨, 占星星, 刘敬勇 (2780)              |
| 微生物营养剂浓度对生物沥浸法促进城市污泥脱水性能的影响 .....                                              | 宋永伟, 刘奋武, 周立祥 (2786)                                 |
| 实验室条件下蓝藻结皮对低温光照胁迫的响应与微结构变化 .....                                               | 饶本强, 李华, 熊瑛, 兰书斌, 李敦海, 刘永定 (2793)                    |
| 西南地区紫色水稻土活性碳库的季节动态 .....                                                       | 吴艳, 江长胜, 郝庆菊 (2804)                                  |
| 典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究 .....                                                   | 尹春艳, 骆永明, 滕应, 章海波, 陈永山, 赵永刚 (2810)                   |
| 土壤铜硒复合污染中金属形态转化及其对生物有效性的影响 .....                                               | 胡斌, 梁东丽, 赵文龙, 缪树寅 (2817)                             |
| 土壤微生物群落对多环芳烃污染土壤生物修复过程的响应 .....                                                | 张晶, 林先贵, 刘魏魏, 尹睿 (2825)                              |
| 可可毛色二孢菌对焦化厂土壤多环芳烃污染修复 .....                                                    | 张志远, 王翠苹, 刘海滨, 孙红文 (2832)                            |
| 广西茶山梯矿尾砂中微量元素的淋滤实验研究 .....                                                     | 蔡永兵, 李玲, 魏晓飞, 张国平, 李海霞, 付志平 (2840)                   |
| 北京市近郊区土壤砷累积特征 .....                                                            | 戚洁, 王美娥, 汪自强, 欧阳志云 (2849)                            |
| 抗氧化酶基因作为多环麝香污染分子标志物研究 .....                                                    | 陈春, 周启星, 刘潇威 (2855)                                  |
| 臭气污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响 .....                                              | 寇太记, 于伟伟, 朱建国, 朱新开 (2862)                            |
| 尿素分解共沉淀法中反应时间对 ZnAl 类水滑石结构和磷吸附性能的影响 .....                                      | 陆英, 程翔, 邢波, 孙中恩, 孙德智 (2868)                          |
| 铅和铜离子在纳米羟基磷灰石上的竞争吸附动力学研究 .....                                                 | 胡田田, 仓龙, 王玉军, 司友斌, 周东美 (2875)                        |
| pH 和 Ni <sup>2+</sup> 对人工纳米氧化硅吸附菲的影响 .....                                     | 罗沛, 孙红文, 张鹏 (2882)                                   |
| 铀在凹凸棒石上的吸附特性与机制研究 .....                                                        | 刘娟, 陈迪云, 张静, 宋刚, 罗定贵 (2889)                          |
| 环丙沙星在潮土中的吸附特性 .....                                                            | 崔皓, 王淑平 (2895)                                       |
| 中高温区水合肼 SNCR 脱硝反应机制和特性研究 .....                                                 | 洪彦, 陈德珍, 王渡, 黄慷 (2901)                               |
| H <sub>2</sub> S 选择性催化氧化工艺及催化剂研究现状 .....                                       | 郝郑平, 冀广玉, 张鑫, 曲思秋 (2909)                             |
| 《环境科学》征稿简则 (2550)      《环境科学》征订启事 (2568)      信息 (2684, 2714, 2848, 2916)      |                                                      |

# 布吉河丰水期总细菌和氨氧化细菌的定性和定量研究

孙海美<sup>1,2</sup>, 白姣姣<sup>1,2</sup>, 孙卫玲<sup>2\*</sup>, 邵军<sup>1,2</sup>

(1. 北京大学深圳研究生院环境与能源学院, 城市人居环境科学与技术重点实验室, 深圳 518055; 2. 北京大学环境科学与工程学院, 水沙科学教育部重点实验室, 北京 100871)

**摘要:** 河流中微生物的数量和群落结构能在一定程度上反映水环境状况. 氨氧化细菌驱动的反硝化作用是氮素转化的主要机制, 为了解氮素污染河流中氨氧化细菌的群落组成及数量, 采用变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 和 Real-time PCR 技术分析了布吉河丰水期不同断面水样中总细菌和氨氧化细菌的群落结构以及数量变化. 结果表明, 水样中总细菌 (16S rRNA) 和氨氧化细菌 (16S rRNA) 数量变化范围分别为  $4.73 \times 10^{10} \sim 3.90 \times 10^{11}$  copies  $\cdot L^{-1}$  和  $5.44 \times 10^6 \sim 5.96 \times 10^8$  copies  $\cdot L^{-1}$ . 冗余度分析表明影响微生物数量和群落结构的水环境因子不同: 对于总细菌, 与其数量显著相关的环境因子是硝氮 ( $P < 0.05$ ), 与其群落结构显著相关的环境因子是氮素 (三氮) 和金属 (Mn 和 Zn) ( $P < 0.05$ ); 对于氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB), 与其数量显著相关的是氨氮和 Zn ( $P < 0.05$ ), 与其群落组成显著相关的是氨氮、Mn 和 Zn ( $P < 0.05$ ). 测序结果表明在布吉河水样中微生物属于变形菌门 (Proteobacterium) 的 Epsilon-Proteobacteria、Gamma-Proteobacteria、Beta-Proteobacteria 和 Delta-Proteobacteria 这 4 个纲, 氨氧化细菌与 *Nitrosomonas* sp. 和 *Nitrospira* sp. 属的细菌相似度较高, 且 *Nitrospira* sp. 为优势菌属. 由于污染影响, 布吉河上游和下游微生物群落结构明显不同.

**关键词:** Real-time PCR; DGGE; 总细菌; 氨氧化细菌; 布吉河

中图分类号: X172; X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)08-2691-10

## Quantitative and Qualitative Analysis of Total Bacteria and Ammonia-oxidizing Bacteria in Buji River in Wet Season

SUN Hai-mei<sup>1,2</sup>, BAI Jiao-jiao<sup>1,2</sup>, SUN Wei-ling<sup>2</sup>, SHAO Jun<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory for Urban Habitat Environmental Science and Technology, School of Environment and Energy, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China; 2. Key Laboratory of Water and Sediment Sciences, Ministry of Education, College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

**Abstract:** Microbial community structure and biomass in river water can reflect the situation of water quality in some extent. Nitrogen removal was mainly achieved by the nitrification and denitrification processes, and ammonia oxidation catalyzed by ammonia-oxidizing bacteria (AOB) is the first and rate-limiting step of nitrification. To explore the AOB community structure and biomass in nitrogen polluted river, water samples were collected from Buji River (Shenzhen) in wet season. Quantification of 16S rRNA copy numbers of total bacteria and AOB were performed by real-time PCR, and the microbial community structures were studied by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The results showed that the number of total bacterial 16S rRNA changed from  $4.73 \times 10^{10}$  -  $3.90 \times 10^{11}$  copies  $\cdot L^{-1}$  in the water samples. The copy numbers of AOB varied from  $5.44 \times 10^6$  -  $5.96 \times 10^8$  copies  $\cdot L^{-1}$ . Redundancy discrimination analysis (RDA) showed that the main factors affecting the structure and the numbers of bacteria were different. For total bacteria, nitrate influenced the biomass significantly ( $P < 0.05$ ) while nitrogen and heavy metals (Mn and Zn) were the main factors affecting the microbial community structures ( $P < 0.05$ ). For AOB, ammonia and Zn were the main factors influencing the biomass while ammonia nitrogen and heavy metals (Mn and Zn) were the main factors affecting the microbial community structures. 16S rDNA sequences from the water samples indicated that the bacteria generally belonged to Epsilon-Proteobacteria, Gamma-Proteobacteria, Beta-Proteobacteria, and Delta-Proteobacteria. *Nitrosomonas* sp. and *Nitrospira* sp. were the main AOB. Cluster analysis showed that water pollution in downstream resulted in evident difference in microbial community structure between upstream and downstream water samples.

**Key words:** Real-time PCR; DGGE; total bacteria; denitrifying bacteria; Buji River

硝化过程是氮生物地球化学循环中的关键步骤, 可以将环境中的铵盐经亚硝酸盐氧化为硝酸盐, 并提供反硝化过程的底物, 产生一系列的氮氧化气体或氮气, 在氮素循环中发挥着极其重要的作用<sup>[1,2]</sup>. 硝化作用过程包括两个独立的阶段: 氨氧化细菌进行氨的氧化, 亚硝酸氧化细菌完成亚硝酸盐

的氧化. 由氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 控制的第一步反应是整个过程的限速步骤, 也

收稿日期: 2011-10-20; 修订日期: 2011-12-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51079002)

作者简介: 孙海美 (1986 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水处理、环境微生物, E-mail: sunhaimei@iee.pku.edu.cn

\* 通讯联系人, E-mail: wlsun@pku.edu.cn

是最重要的一个环节<sup>[3]</sup>. 因此, AOB 的群落组成和数量对硝化过程的意义尤为重要.

目前已有大量关于生物处理反应器<sup>[4~9]</sup>、海洋<sup>[10,11]</sup>、河口<sup>[12,13]</sup>、湿地<sup>[1,14]</sup>等环境中 AOB 研究的报道, 但是河流中 AOB 的研究相对较少<sup>[15,16]</sup>. 虽然目前有关河流中微生物群落结构及其微生物定量的研究主要集中于总细菌<sup>[17,18]</sup>和氨氧化菌<sup>[15,16]</sup>, 但是同时使用定性和定量方法研究河流中总细菌和氨氧化细菌的报道几乎没有. 研究氨氧化细菌的菌种组成及其丰度有助于了解河流氮循环通量和环境自净能力, 对进一步研究氮的生物地球化学循环有重要意义.

本研究采用变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 和 Real-time PCR 技术分析氮素污染河流布吉河不同断面河水中总细菌和氨氧化细菌的群落结构和数量, 并探讨了微生物群落结构和数量与水环境因子的关系, 以期污染河流的治理与生态修复提供基础信息和理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 水样采集及水质分析

布吉河发源于我国广东省深圳市布吉镇黄竹沥, 由北向南穿过布吉镇和深圳市区, 汇入深圳河, 是深圳河的一级支流. 从发源地到河口全长 16.47 km, 干流全长 9.67 km, 汇水面积 63.41 km<sup>2</sup>. 虽然布吉河流域面积不大, 但其排入深圳河的污染物却约占深圳河总污染物的 40% (体积分数). 重度污染是布吉河最显著的问题. 目前, 布吉河污染负荷远远超过河流环境容量, 水体水质为劣 V 类, 全河黑臭异常.

河水 and 沉积物于 2008 年 8 月采集自深圳布吉河 (图 1). 从上游到下游共设 8 个采样点, 每个采样点采集 4 L 水样, 并用抓斗式采样器采集表层沉积物, 快速运到实验室 4℃ 冷藏保存. 水质指标一周内检测完, 水样 DNA 立即浓缩, 提取, -20℃ 保存. 水样 COD、TOC、pH、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 等指标检测参照文献<sup>[19]</sup>. 水样中重金属 Fe、Zn、Mn、Ni、Cu、Cr、Cd、Pb 采用火焰原子吸收仪测定 (AAS, Analytikjena Vario6, 德国). 为了检测实验操作的稳定性, 从水样采集到水质指标检测, DNA 提取、PCR、DGGE、Real-time PCR 实验均设 2 个平行样.

### 1.2 DNA 提取

用聚碳酸酯膜 (0.2 μm pore size, 50 mm

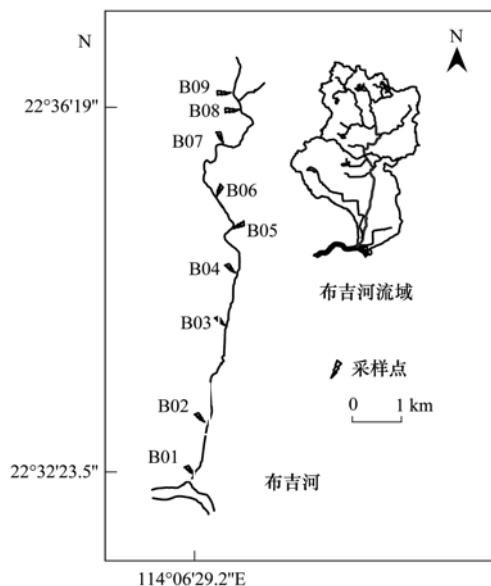


图 1 深圳布吉河采样点分布示意

Fig. 1 Distribution of sampling sites in Buji River

diameter, Millipore) 真空抽滤 50 mL 混匀的水样. 完成后再抽滤 2 mL 灭菌水, 洗涤滤膜. 将滤膜剪成碎片, 放入 10 mL 的聚乙烯离心管中, 加入 1.8 mL SET 缓冲液 (20% sucrose, 50 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA, 50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 7.6)<sup>[20]</sup>, 涡旋处理, -20℃ 保存, 用于后续的 DNA 提取<sup>[21]</sup>.

### 1.3 Real-time PCR 检测

Real-time PCR 实验在 ABI Prim SDS 7300 仪 (Applied Biosystems, 美国) 上进行. 总细菌所用的引物为 1055f 和 1392r, 氨氧化细菌所用引物为 CTO189fA/B、CTO189fC、RT1r (表 1). 反应采用 20 μL 体系, 组分: PCR master mix (Applied Biosystems, 美国) 10 μL; 20 μmol·L<sup>-1</sup> 的上游、下游引物各 0.5 μL; DNA 模板 1 μL; ddH<sub>2</sub>O 8 μL. 反应条件: 50℃ 2 min (酶启动); 95℃ 10 min; 40 个循环 95℃ 15 s, 退火温度 (总细菌: 57.5℃, AOB: 54.5℃) 1 min, 72℃ 30 s; 最后以 0.1℃·s<sup>-1</sup> 的速度从 60℃ 升温到 95℃, 获得扩增 DNA 片段的解链曲线.

Real-time PCR 标准样品通过克隆实验获得. PCR 扩增环境样品基因组 DNA, 得到 PCR 产物纯化转接到 T4 质粒中, 再转移到大肠杆菌感受态细胞中. 通过蓝白斑筛选出阳性克隆, 提取质粒. 采用 A260/A280 核酸蛋白测定仪测量质粒浓度, 梯度稀释得到 Real-time PCR 实验所需的标准样品.

### 1.4 PCR-DGGE 分析

总细菌微生物群落结构研究: 采用梯降 PCR (touchdown PCR) 扩增, 引物为 357f-GC 和 518r (表

1). PCR 扩增采用 25  $\mu\text{L}$  反应体系,其组分为:10  $\times$  PCR 缓冲液(含  $\text{Mg}^{2+}$ )2.5  $\mu\text{L}$ ; dNTP(4 种脱氧核苷酸浓度各为 10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )2  $\mu\text{L}$ ; 上游引物 357f-GC,下游引物 518r 各 10  $\text{pmol}$ ; *Taq* 酶 0.5 U (Transgen,中国); 基因组 DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ (稀释 10 倍); 加灭菌的双蒸水( $\text{ddH}_2\text{O}$ )到总体积为 25  $\mu\text{L}$ . 反应条件:先 94 $^{\circ}\text{C}$  5 min 预变性; 然后进行 20 个如下循环:94 $^{\circ}\text{C}$  30 s,65 $^{\circ}\text{C}$  (每个循环后减少 0.5 $^{\circ}\text{C}$ )30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  45 s; 再进行 12 个循环:94 $^{\circ}\text{C}$  30 s,55 $^{\circ}\text{C}$  30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  45 s; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$  10 min.

表 1 Real-time PCR 与 PCR-DGGE 实验引物列表

| Table 1 Primers used in real-time PCR and DGGE |            |                                                              |      |
|------------------------------------------------|------------|--------------------------------------------------------------|------|
| 研究对象                                           | 引物         | 序列 (5'-3')                                                   | 文献   |
| bacterial 16S rDNA                             | 1055f      | 5'-ATGGCTGTCGTACGCT-3'                                       | [22] |
|                                                | 1392r      | 5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3'                                        | [22] |
|                                                | 357f-GC    | 5'-CGCCCCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGACGG<br>GGGGCTACGGGAGGCAGCAG-3' | [22] |
|                                                | 518r       | 5'-ATTACCGCGTCTGCTGG-3'                                      | [23] |
|                                                | CTO189fA/B | 5'-GGAGRAAAGCAGGGATCG-3'                                     | [24] |
| ammonia-oxidizing bacteria 16S rDNA            | CTO 189fC  | 5'-GGAGGAAAGTAGGGATCG-3'                                     | [24] |
|                                                | RT1r       | 5'-CGTCCTCTCAGACCACTACTG-3'                                  | [25] |
|                                                | CTO654r    | 5'-CTAGCY TTGTAGTTTCAA ACGC-3'                               | [24] |

AOB 微生物群落结构研究:采用嵌套 PCR 扩增,25  $\mu\text{L}$  反应体系,除引物不同外(AOB:上游引物 CTO189A/B 与 CTO189C 以 2:1 配比混合而成 10  $\text{pmol}$ ,下游引物 CTO653r 10  $\text{pmol}$ ),其它组分与总细菌 PCR 扩增体系相同. PCR 产物稀释 10 ~ 50 倍,作为第二步 PCR 扩增模板,采用总细菌 PCR 扩增体系进行第二轮 PCR 扩增. 为了检测 PCR 的可靠性,每次 PCR 实验均设空白对照组和平行样,PCR 产物经过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,用于后续 DGGE 分析实验.

DGGE 实验条件参考 Muyzer 等<sup>[23]</sup> 的实验. DGGE 仪为 Bio-Rad DGene system (Bio-Rad,美国). 总细菌和氨氧化细菌 PCR 扩增片段电泳使用的聚丙烯酰胺胶浓度为 8% (丙烯酰胺/双丙烯酰胺 = 37.5:1),其中 AOB 实验胶变性梯度范围为 30% ~ 55% (100% 的变性剂中含有 7  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的尿素和 40% 的去离子甲酰胺),总细菌实验变性梯度范围是 30% ~ 60%. 运行条件:在 1  $\times$  TAE 电泳缓冲液中,60 $^{\circ}\text{C}$  条件下,50V 运行 10 min,然后在 180 V 运行 5 h. 电泳完成后,用 1:10 000 的 Genefinder<sup>TM</sup> (Bio-V,中国)染色 20 min,再用去离子水漂洗 2 次,然后在紫外光(470 nm)照射下观察电泳结果并照相 (Molecular Imager Gel DOCTM XRSystem170-8171, Bio-Rad,USA). 将选定的 DGGE 条带切下,置于灭菌的 PCR 离心管中,加 50  $\mu\text{L}$  灭菌水,−4 $^{\circ}\text{C}$  保存过夜,然后取 5  $\mu\text{L}$  为模板进行相应的 PCR 扩增,产物电泳检测后送到生物技术公司进行条带的测序 (Shanghai Sangon Biological Engineering Technology

& Services Co). DGGE 图谱用 Quantity One 4.3.1 (Bio-Rad,USA) 软件处理.

1.5 统计分析

因子分析是一种常用的多变量统计分析方法. 其实质是在众多初始变量中提取若干均受某个共同因素(又称公共因子)影响而彼此之间相关性较高的变量,将它们归为同一类别,而不同类别的变量之间相关性则较低,以此达到变量降维的目的. 采用 SPSS 17.0 对数据进行因子分析.

多样性指数 Shannon-Weiner( $H'$ )常被用来分析微生物群落的多样性(种群丰度).  $H'$  需要考虑到条带的强度,每个条带相当于一个物种,带的强度代表物种含量. 计算公式:  $H' = - \sum P_i \ln(P_i)$ . 式中,  $P_i = n_i/N$  代表群体中  $i$  物种数量在总群落中的比例,  $n_i$  代表单个条带的强度,  $N$  代表一个泳道中所有条带的强度的总和<sup>[26]</sup>.

均匀性指数(EI)用来分析微生物群落中菌种分布情况. 计算公式:  $EI = H'/\ln N$ . 式中  $N$  是指群落中菌种的种类. EI 最大值为 1,意味着代表菌群中所有菌种含量都相等<sup>[27]</sup>.

冗余度分析(RDA)被用来评估环境因素对微生物群落变化的影响,采用 Monte Carlo 排列算法计算各个环境因素对微生物群落结构变化的影响程度 (CANOCO 4.53; Microcomputer Power).

2 结果与讨论

2.1 总细菌和氨氧化细菌定量分析

Real-time PCR 标准样品通过克隆分别含有

AOB 和 16S rDNA 插入片段的质粒获得,标准曲线质粒浓度变化范围为  $10^2 \sim 10^8 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ,总细菌和 AOB 标准曲线可决系数分别为  $R^2 = 0.984$  和  $R^2 = 0.968$ .

布吉河丰水期各采样点水样中总细菌数量变化在 1~2 个数量级,其变化范围为  $4.73 \times 10^{10} \sim 3.90 \times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$  (图 2). 从布吉河上游(B09)到下游(B01),总细菌数量略有升高. 本研究中总细菌量与温榆河丰水期总细菌数量相近<sup>[28]</sup>,且两条河流丰水期水样总细菌数量均比枯水期要高. 两条河流中枯水期总细菌数量变化范围均比丰水期大,这是因为枯水期水温相对较低,微生物的生长对种环境因子的变化比较敏感. 布吉河丰水期数量比受污水处理厂影响的塞纳河数量稍高<sup>[29]</sup>,但比市政污水处理厂中总细菌数量均值  $(1.6 \pm 0.7) \times 10^{12} \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$  低<sup>[5]</sup>.

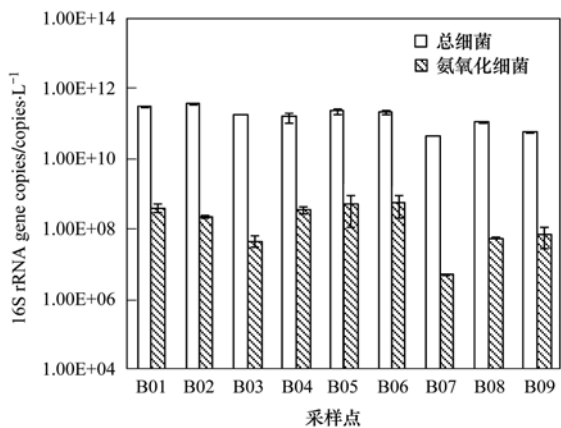


图 2 布吉河各采样点总细菌和氨氧化细菌 16S rRNA 基因拷贝数

Fig. 2 Copy numbers of 16S rRNA gene of total bacteria and AOB in water samples of Buji River

各采样点水样中 AOB 数量变化较大,在 1~3 个数量级,变化范围为  $5.44 \times 10^6 \sim 5.96 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ . 不同环境中检测的 AOB 数量变化也很

大,如 Geets 等<sup>[6]</sup>分析不同类型污水处理厂(分别处理医院废水、市政污水、制浆废水、制药废水等 6 种)活性污泥中 AOB 数量变化在 1~4 个数量级,为  $7.4 \times 10^7 \sim 2.7 \times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ; Cébron 等<sup>[29]</sup>定量分析了巴黎塞纳河上、下游 AOB 数量,其变化在 1~3 个数量级,上游自然河流中数量为  $9.7 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ,下游河流数量为  $7.3 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 邵军等<sup>[30]</sup>研究垃圾渗滤液处理系统中 AOB 数量变化在 1~2 个数量级,范围为  $1.33 \times 10^9 \sim 2.52 \times 10^{10} \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ .

水样中 AOB 的丰度(AOB 数量占总细菌的比例)变化范围为 0.01%~0.267%,这与塞纳河水样中 AOB 丰度(0.11%)相近<sup>[23]</sup>,但比污水处理厂污水中 AOB 丰度低. 如 Harms 等<sup>[5]</sup>研究一个市政污水处理厂反应器中 AOB 丰度为 2.9%,远高于河流水样中 AOB 丰度; Geets 等<sup>[6]</sup>研究 7 个不同污水处理厂活性污泥中 AOB 丰度为 0.01%~0.54%; 邵军等<sup>[30]</sup>研究垃圾渗滤液处理系统中 AOB 丰度为 0.1%~0.98%. 这是因为污水处理厂污水中氮含量高,为氨氧化细菌的生存和繁殖提供了大量底物,有利于其富集.

2.2 微生物数量与水环境因子的关系

布吉河河水各采样点 pH 和温度变化幅度很小,水质呈中性(表 2). 各采样点 TOC 在  $3.48 \sim 16.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间变化,从上游到下游 COD 各采样点之间变化较大,上游水样 COD(B06、B07、B08、B09)明显低于下游水样. 各采样点氨氮质量浓度差异不大,硝氮和亚硝氮质量浓度都很低. Pb、Cd、Cu、Cr 这 4 种重金属质量浓度低于检出限,其他金属质量浓度也较低. 与地表水环境质量标准(GB 3838-2002)对比(V 类水 COD  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,氨氮  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,Zn  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),布吉河有机物和氨氮污染严重,远高于 V 类标准.

表 2 布吉河河水各采样点水质参数<sup>1)</sup>

Table 2 Physicochemical properties of water samples from Buji River

| 采样点 | pH   | 温度 | COD | TOC   | 氨氮   | 硝氮   | 亚硝氮   | Fe   | Zn   | Mn   | Ni   |
|-----|------|----|-----|-------|------|------|-------|------|------|------|------|
| B01 | 6.59 | 29 | 120 | 16.95 | 12.7 | 0.02 | 0.079 | 0.75 | 0.92 | 0.07 | 0.13 |
| B02 | 7.20 | 29 | 200 | 16.24 | 18.9 | 0.15 | 0.069 | 1.47 | 0.21 | 0.64 | 0.63 |
| B03 | 7.44 | 28 | 180 | 8.05  | 20.7 | 0.20 | 0.107 | 0.72 | 0.30 | 0.35 | 0.49 |
| B04 | 7.43 | 27 | 400 | 8.57  | 17.5 | 0.26 | 0.099 | 4.92 | 0.73 | 0.62 | 0.99 |
| B05 | 7.42 | 28 | 80  | 5.65  | 15.2 | 0.15 | 0.050 | 1.40 | 0.76 | 0.50 | 1.30 |
| B06 | 7.58 | 28 | 63  | 4.57  | 17.7 | 0.19 | 0.056 | 4.73 | 0.38 | 0.77 | 1.30 |
| B07 | 7.39 | 28 | 106 | 3.48  | 21.1 | 0.33 | 0.053 | 1.53 | 0.06 | 1.48 | 0.94 |
| B08 | 7.21 | 28 | 110 | 7.87  | 18.2 | 0.22 | 0.054 | 6.63 | 0.33 | 0.98 | 2.79 |
| B09 | 7.36 | 28 | 90  | 8.00  | 24.3 | 0.20 | 0.003 | 3.05 | 0.02 | 0.81 | 3.62 |

1) 温度单位为℃,其余参数除 pH 外单位均为  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

对上述 11 项指标进行因子分析,为使具有较大因子载荷量的变量个数减少到最低限度,采用方差最大正交旋转.由表 3 可知选取特征值大于 1 的第一主成分(F1)、第二主成分(F2)和第三主成分(F3)作为主成分因子,旋转后其累积方差贡献率达 80.81%,说明这些指标能够反映整体的水环境状况.旋转后的因子载荷率绝对值能够说明主成分因子与水环境状况之间的相关性大小,即  $| \text{因子载荷率} | > 0.75$ ,表示两者相关性好; $0.75 \geq | \text{因子载荷率} | > 0.50$ ,表示两者相关性一般; $0.50 \geq | \text{因子载荷率} | > 0.30$ ,表示两者相关性

差; $| \text{因子载荷率} | \leq 0.30$ ,表示两者无相关性<sup>[31]</sup>.由表 4 可知,pH、TOC、Ni 因子载荷率的绝对值在 3 个主成分上均小于 0.75,表明其与水环境状况的相关性一般,不是表征布吉河水环境状况的主导因子.F1 的累积方差贡献率为 35.79%,硝氮、氨氮、Mn 在 F1 上有较强的正载荷,Zn 则有较强的负载荷,因此 F1 可以用氮素和金属污染来表征.F2 的累积方差贡献率为 22.60%,亚硝氮和 COD 在 F2 上有较高的正载荷.F3 的累积方差贡献率为 22.42%,Fe 在 F3 上有较强的正载荷,温度则有较强的负载荷.

表 3 布吉河水环境指标的因子特征值

| 因子 | 因子旋转前 |        |          | 因子旋转后 |        |          |
|----|-------|--------|----------|-------|--------|----------|
|    | 特征值   | 方差贡献率% | 累积方差贡献率% | 特征值   | 方差贡献率% | 累积方差贡献率% |
| F1 | 5.11  | 46.49  | 46.49    | 3.94  | 35.79  | 35.79    |
| F2 | 2.42  | 21.98  | 68.46    | 2.49  | 22.60  | 58.39    |
| F3 | 1.36  | 12.34  | 80.81    | 2.47  | 22.42  | 80.81    |

表 4 布吉河水环境指标旋转后因子载荷率

| 项目 | pH   | 温度    | TOC   | COD   | 氨氮    | 硝氮   | 亚硝氮   | Fe    | Zn    | Mn    | Ni    |
|----|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| F1 | 0.72 | -0.38 | -0.62 | -0.02 | 0.85  | 0.86 | -0.22 | 0.02  | -0.84 | 0.77  | 0.25  |
| F2 | 0.12 | -0.34 | 0.08  | 0.78  | -0.27 | 0.16 | 0.91  | -0.18 | 0.40  | -0.27 | -0.74 |
| F3 | 0.45 | -0.81 | -0.54 | 0.25  | -0.01 | 0.41 | -0.11 | 0.86  | 0.18  | 0.25  | 0.50  |

对 8 项水环境主导因子与丰水期水样中总细菌、AOB 生物量进行冗余度分析,结果如图 3 所示,用箭头表示环境因子,箭头连线的长度表示微生物量与该环境因子相关系数的大小,箭头连线与排序轴的角度表示该环境因子与排序轴相关系数的大小,箭头所处的象限则表示该水质指标与排序轴相关系数的正负.第一排序轴和第二排序轴的特征值分别为 0.79 和 0.21,它们共解释了微生物量总方差值的 100%.由此表明这 2 个排序轴能够真实反映水环境主导因子对布吉河微生物量的影响.从环境因子与微生物量之间的夹角以及箭头连线长度可以看出(以环境因子在微生物量射线的投影距离为比较对象,离原点距离越大表示相关性越大,与微生物量射线箭头方向相同表示正相关,反之为负相关),与总细菌数量显著相关的是硝氮( $P < 0.05$ ),与 AOB 数量显著相关的是氨氮和 Zn( $P < 0.05$ ).氨氮是 AOB 生存繁殖的所必需的底物,故其浓度明显影响 AOB 数量<sup>[11]</sup>.

虽然影响总细菌和 AOB 数量的环境因子稍有差异,但是总体来说环境因子对微生物量(总细菌、

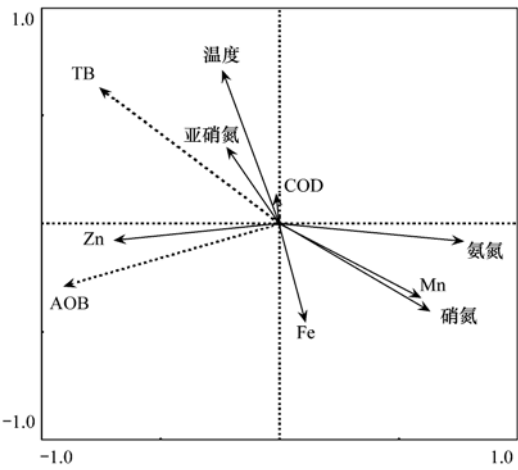


图 3 冗余度(RDA)分析环境因子对布吉河水样中细菌数量变化的影响

Fig. 3 Redundancy discrimination analysis relating environmental variables to the biomass in water samples of Buji River

AOB)影响的相关性大小为氨氮 > Zn > 硝氮 > Mn > 温度 > 亚硝氮 > Fe > COD.再通过蒙特卡罗检验可知,氨氮、Zn、硝氮对微生物量的影响非常显著( $P < 0.05$ ),由此可知氨氮、Zn、硝氮是影响布吉河中

微生物量的主要水环境因子. 布吉河中氨氮质量浓度很高,而氨氮是 AOB 进行生长繁殖的重要基质,也是硝化反应发生的物质基础<sup>[11]</sup>,氨氮为 AOB 的生长繁殖提供了丰富的底物. Chen 等<sup>[34]</sup>研究认为氨氮是影响不同施肥处理水稻土中 AOB 数量的主要因素,王海丽等<sup>[10]</sup>也发现各种形态的氮是影响象山港海域上覆水中硝化细菌丰度的重要因素.

### 2.3 群落结构分析

#### 2.3.1 河水中总细菌和氨氧化细菌群落结构

布吉河水样中总细菌和氨氧化细菌 DGGE 图谱如图 4 所示, DGGE 图谱聚类分析显示平行样间相似性很高 (Dice 系数 > 0.9), 说明 DGGE 实验较

稳定. 布吉河总细菌和 AOB 的多样性指数分别为 2.46 ~ 2.82 和 1.87 ~ 2.50 (表 5), 武进港水样中微生物多样性指数为 2.19<sup>[35]</sup>, 滇池水样中微生物多样性指数为 1.91 ~ 2.76<sup>[33]</sup>, 这说明布吉河丰水期水样微生物多样性较高. 而且, 总细菌和 AOB 菌种分布均匀性系数 (EI) 均较高 (表 5), 这说明水样中微生物系统生态功能稳定. 各个采样点总细菌检测到的条带数较多, 为 14 (6 ~ 19) 条, 多样性指数均值为 2.61. AOB 检测到的条带数为 10 (3 ~ 14) 条, 多样性指数平均为 2.30, 且有多条条带 (9、12、13、14、15) 在多数样品中均能检测到, 说明布吉河从上游到下游水样中 AOB 优势菌群相似性.

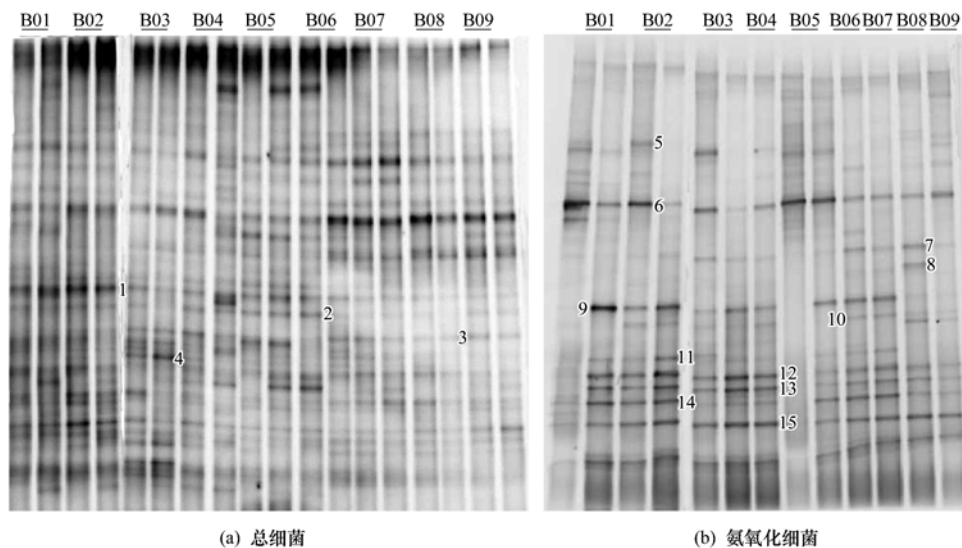


图 4 布吉河河水中总细菌和氨氧化细菌 DGGE 图谱

Fig. 4 Total bacteria and AOB DGGE fingerprint in water of Buji River

#### 2.3.2 DGGE 图谱测序

将 DGGE 图谱中优势条带切胶测序, 结果如表 6 所示. 总细菌 DGGE 图中仅有 4 条序列测序成功, 由图 4 (a) 可以看出每个泳道中检测出的条带很多, 单个条带有可能是几个物种的组合, 这种情况主要是由 DGGE 本身的特点造成的. 由于兼并引物、异源双链核酸分子的形成或多重异类 rRNA 操纵子的原因等<sup>[15]</sup>, DGGE 所产生的条带数量不能精确地反映出一个环境样品中不同序列的数量, 一个 DGGE 条带可能是几个物种的组合, 也可能一个物种产生几个条带. 测序结果表明在布吉河水样中的微生物属于变形菌门 (Proteobacterium) 的 4 个纲: Epsilon-Proteobacteria、Gamma-Proteobacteria、Beta-Proteobacteria 和 Delta-Proteobacteria. 变形菌门的细菌在淡水环境中普遍存在, 如长江河口<sup>[36]</sup>、德国易北河中的有机聚集体<sup>[37]</sup>、富营化的易北河及其支

流<sup>[38]</sup>等.

布吉河水样中氨氧化细菌 DGGE 序列多与 *Nitrosomonas* sp. 和 *Nitrosospira* sp. 属的细菌相似度较高, 且与 *Nitrosospira* sp. 相似度较高的 AOB 为优势菌. 有研究发现<sup>[39~41]</sup>, *Nitrosomonas* sp. 属的 AOB 主要存在于土壤、淡水、淡水沉积物环境, 更易在高氨氮环境中生长<sup>[42]</sup>. 而 *Nitrosospira* 属的 AOB 适合在自然淡水环境或低营养盐浓度环境生长<sup>[29,43]</sup>. AOB 测序结果中有些序列与 *Methylophilus* sp. 和 *Dechloromonas* sp. 相似度较高, 而这些菌与 AOB 并不相关, 它们只是与 AOB 亲缘关系很近的其它物种. 这是因为 CTO 引物有时也可以产生非特异性扩增<sup>[15]</sup>, Purkhold 等<sup>[44]</sup>在通过对各种 AOB 引物的对比研究中发现, 对于 AOB 在 DNA 分子水平上的研究, 还没有完美的引物既可以扩增出全部的  $\beta$  变形菌纲 AOB, 又可以完全排除非 AOB 物种.

表 5 总细菌和氨氧化细菌 DGGE 图谱优势条带切胶测序结果  
Table 5 Sequencing analysis of total bacteria and AOB DGGE bands of water samples

| 条带 | 项目    | GenBank 中相似菌种序列号、名称                                       | 纲、属                                         | 相似度<br>/% | 序列长度<br>/bp |
|----|-------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------|-------------|
| 1  | 总细菌   | FJ485015.1 Uncultured Epsilon-Proteobacterium             | Epsilon-Proteobacterium                     | 90        | 148         |
| 2  | 总细菌   | FJ950593.1 <i>Pseudomonas resinovorans</i> strain c87     | Gamma-Proteobacterium, <i>Pseudomonas</i>   | 98        | 167         |
| 3  | 总细菌   | GU074337.1 Uncultured <i>Curvibacter</i> sp. clone 2S60   | Beta-Proteobacterium, <i>Curvibacter</i>    | 99        | 165         |
| 4  | 总细菌   | AB081579.1 <i>Desulfovibrio</i> sp. A45                   | Delta-Proteobacterium, <i>Desulfovibrio</i> | 96        | 168         |
| 5  | 总细菌   | FJ439070.1 Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp. clone PII5C | Beta-Proteobacterium, <i>Nitrosomonas</i>   | 98        | 168         |
| 6  | 氨氧化细菌 | DQ133413.1 Uncultured <i>Methylophilus</i> sp.            | Beta-Proteobacterium, <i>Methylophilus</i>  | 98        | 168         |
| 7  | 氨氧化细菌 | FJ477301.1 <i>Dechloromonas</i> sp. UWNR2                 | Beta-Proteobacterium, <i>Dechloromonas</i>  | 92        | 168         |
| 8  | 氨氧化细菌 | EF042993.1 Uncultured <i>Nitrospira</i> sp.               | Beta-Proteobacterium, <i>Nitrospira</i>     | 92        | 165         |
| 9  | 氨氧化细菌 | EF632559.1 <i>Dechloromonas</i> sp. A34                   | Beta-Proteobacterium, <i>Dechloromonas</i>  | 98        | 166         |
| 10 | 氨氧化细菌 | FJ477301.1 <i>Dechloromonas</i> sp. UWNR2                 | Beta-Proteobacterium, <i>Dechloromonas</i>  | 98        | 167         |
| 11 | 氨氧化细菌 | EU819080.1 Uncultured <i>Nitrospira</i> sp.               | Beta-Proteobacterium, <i>Nitrospira</i>     | 98        | 167         |
| 12 | 氨氧化细菌 | AY277621.1 <i>Dechloromonas hortensis</i> strain MA-1     | Beta-Proteobacterium, <i>Dechloromonas</i>  | 98        | 168         |
| 13 | 氨氧化细菌 | EU819080.1 Uncultured <i>Nitrospira</i> sp.               | Beta-Proteobacterium, <i>Nitrospira</i>     | 99        | 169         |
| 14 | 氨氧化细菌 | EU819080.1 Uncultured <i>Nitrospira</i> sp.               | Beta-Proteobacterium, <i>Nitrospira</i>     | 98        | 170         |
| 15 | 氨氧化细菌 | GQ183189.1 Uncultured <i>Dechloromonas</i> sp.            | Beta-Proteobacterium, <i>Dechloromonas</i>  | 98        | 170         |

2.3.3 河水中总细菌和氨氧化细菌群落结构的空  
间变化

DGGE 图谱聚类分析结果如图 5 所示,总细菌群落结构的聚类分析揭示上游的 B06、B07、B08、B09 这 4 个位点聚为一类,且相似性较高;下游的 B01、B03、B04、B05 位点聚为一类,群落组成相似. AOB 群落结构的聚类分析显示出大致相同的规律:上游的 B06、B07、B08、B09 和上游的 B04 位点聚为一类;下游的 B02、B03、B05 聚为一类,B01 单

独聚为一类. 聚类分析结果表明布吉河上游和下游的群落组成不同,表明上游和下游的生态环境不同并对微生物存在选择作用. 这是因为从上游到下游污水排入量逐步增多,水中 COD 含量也越来越高,一些对有机物敏感的菌种可能被淘汰,耐污染的菌种则会富集从而导致上游和下游的微生物群落结构存在明显差异. 如巴黎 Seine 河由于受到污水处理厂出水的影响上游和下游的微生物组成也存在明显差异<sup>[29]</sup>.

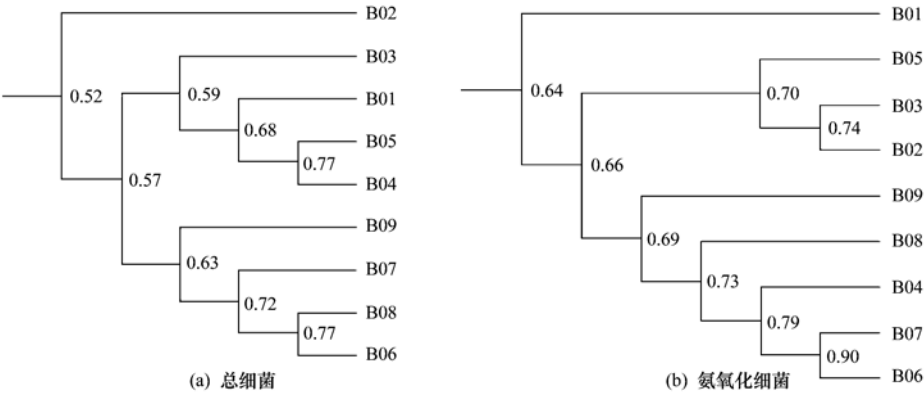


图 5 总细菌和氨氧化细菌 DGGE 图谱聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of DGGE fingerprint of total bacteria and AOB

2.3.4 群落结构与水环境因子的关系

采用冗余度分析方法,分析了表征布吉河水环境状况的 8 个主导因子对河水中总细菌和 AOB 微生物群落结构变化的影响,结果如图 6 所示. 对于总细菌,RDA 的前两轴分别代表了样本 38.6% 的总变异和 57.1% 菌种-环境的积累变异[图 6(a)]. 从不同采样点间的连线距离可以看出平行样品间具有很

好的相似性,而不同采样点间差异很大(连线长度越短代表差异性越小,反之越大). 从箭头的连线长度可以看出,主导因子对总细菌群落结构影响的相关性大小为 Mn > Zn > 亚硝氮 > 氨氮 > 硝氮 > 温度 > Fe > COD. 蒙特卡罗检验对其影响程度的显著性进行检验可知 Mn、Zn、氨氮对总细菌群落结构的影响非常显著( $P < 0.01$ ),亚硝氮、硝氮对总细菌群落

结构影响显著( $P < 0.05$ ). Yan 等<sup>[32]</sup>研究了三峡水库浮游细菌与水环境因子的相关性,结果表明硝氮、溶解氧和  $\text{SiO}_3^{2-}$ -Si 是影响细菌群落结构的主要水环境因子. 吕明姬等<sup>[33]</sup>对滇池浮游细菌与水环境因子的典型相关分析表明氮类无机营养物是影响浮游细菌

分布的关键因子. 而本研究表明,氮素(三氮)和金属(Mn 和 Zn)是影响总细菌群落结构的主要水环境因子. 氮素是微生物生长所必需的基础物质,故对总细菌群落结构有重要影响,而不同环境中由于生境的差异对总细菌产生主要影响的环境因子也会不同.

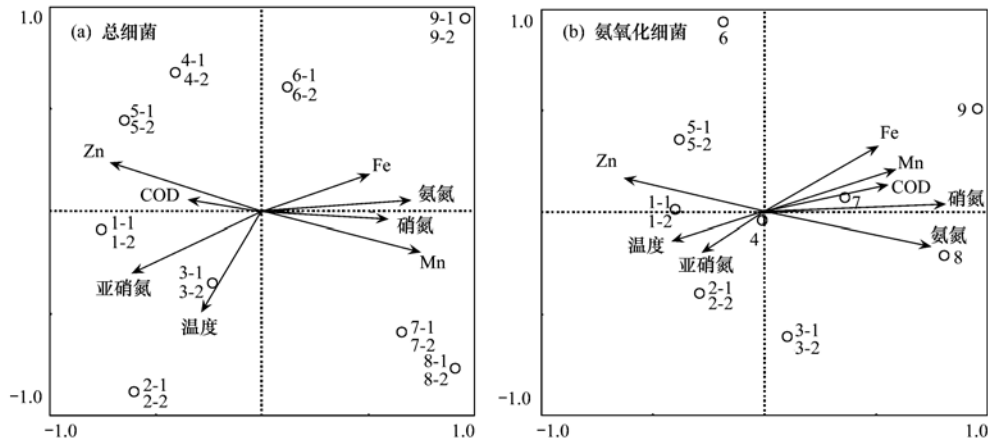


图 6 冗余度(RDA)分析环境因素对布吉河水样中总细菌和氨氧化细菌群落结构变化的影响

Fig. 6 Redundancy discrimination analysis relating environmental variables to the community structure of total bacteria and AOB in water samples of Buji River

AOB、RDA 的前两轴分别代表了样本 44.7% 的总变异和 56.0% 菌种-环境的积累变异[图 5 (b)]. 从箭头的连线长度可以看出,主导因子对 AOB 群落结构影响的相关性大小为:硝氮 > 氨氮 > Mn > Zn > Fe > COD > 温度 > 亚硝氮. 蒙特卡罗检验可知硝氮对 AOB 群落结构的影响非常显著( $P < 0.01$ ),氨氮、Mn 和 Zn 对 AOB 群落结构的影响显著( $P < 0.05$ ). 氨氮是 AOB 生长和繁殖的基础物质,而 AOB 驱动的反硝化反应对痕量的重金属污染反应也很灵敏<sup>[45]</sup>. Mn、Zn 和许多其他金属(Ni、Cu、Fe 等)是细菌细胞中普遍存在的超氧化物歧化酶的主要辅因子,负责抵御胞外的氧化压力,这些金属催化中心往往在同一个细胞内催化同一个反应<sup>[46]</sup>; Zn 在细胞中主要有 2 个作用:一是构成细胞的基本元素(如“锌-指”蛋白),二是许多水解酶的辅因子(如蛋白酶、磷酸酶等)<sup>[46]</sup>. 故氨氮和金属 Mn、Zn 是影响布吉河水样中 AOB 的主要环境因子.

冗余度分析表明影响微生物量和群落结构的主要环境因子不同,硝氮对总细菌数量的变化影响显著( $P < 0.05$ ),而氮素(三氮)和金属(Mn 和 Zn)是影响总细菌群落结构的主要水环境因子( $P < 0.05$ ). 氨氮和 Zn 对 AOB 数量影响显著( $P < 0.05$ ),而氨氮、硝氮、Mn 和 Zn 对 AOB 群落结构影响显著( $P < 0.05$ ). 这主要是因为微生物的数量

和菌种组成对外界环境变化的响应不同,如污染物的存在会使一些敏感的菌种逐步被耐污染的菌种所替代,群落结构会发生变化. 而随着时间的推移可降解污染物的菌种则会富集,这种菌种的数量会增加. 外界环境的变化会导致群落内数量和多样性的改变,而群落结构的多样性和数量对环境变化的响应也不同<sup>[47]</sup>.

### 3 结论

(1) 水样中总细菌 16S rRNA 数量变化范围为  $4.73 \times 10^{10} \sim 3.90 \times 10^{11}$  copies  $\cdot \text{L}^{-1}$ , AOB 16S rRNA 变化范围为  $5.44 \times 10^6 \sim 5.96 \times 10^8$  copies  $\cdot \text{L}^{-1}$ ; 从上游到下游总细菌数量略有升高,而 AOB 数量没有明显变化规律.

(2) 水样中总细菌和 AOB 菌种分布均匀性系数都很高,微生物系统生态功能稳定;布吉河中微生物与变形菌门(Proteobacterium) Epsilon-Proteobacterium、Gamma-Proteobacterium、Beta-Proteobacterium 和 Delta-Proteobacterium 这 4 个纲的细菌相似度较高. 氨氧化细菌 DGGE 序列与 *Nitrosomonas* sp. 和 *Nitrosospira* sp. 属的细菌相似度较高,且与 *Nitrosospira* sp. 相似度较高的 AOB 为布吉河水样中的优势菌. 聚类分析结果表明随着污染的增强下游微生物群落明显不同于上游.

(3)冗余度分析表明影响微生物数量和群落结构的主要环境因子不同:与总细菌数量显著相关的是硝氮,而 Mn、Zn、氨氮、亚硝氮和硝氮对总细菌群落结构影响显著;与 AOB 数量显著相关的是氨氮和 Zn,而硝氮、氨氮、Mn 和 Zn 对 AOB 群落结构影响显著。

#### 参考文献:

- [1] 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): 2160-2165.
- [2] 贺锋,吴振斌,陶菁,等. 复合垂直流人工湿地污水处理系统硝化与反硝化作用[J]. 环境科学, 2005, **26**(1): 47-50.
- [3] Prosser J I. Autotrophic nitrification in bacteria[J]. Advances in Microbial Physiology, 1990, **30**: 125-181.
- [4] Bustin S A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2000, **25**(2): 169-193.
- [5] Harms G, Layton A C, Dionisi H M, et al. Real-Time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant [J]. Environmental Science & Technology, 2003, **37**(2): 343-351.
- [6] Geets J, De Cooman M, Wittebolle L, et al. Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **75**(1): 211-221.
- [7] Lim J, Lee S, Hwang S. Use of quantitative real-time PCR to monitor population dynamics of ammonia-oxidizing bacteria in batch process [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2008, **35**(11): 1339-1344.
- [8] 王晓慧,文湘华, Craig C, 等. 城市污水处理厂活性污泥中氨氧化菌群落结构研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(10): 3002-3006.
- [9] 李红岩,张昱,高峰,等. 水力停留时间对活性污泥系统的硝化性能及其生物结构的影响[J]. 环境科学, 2006, **27**(9): 1862-1865.
- [10] 王海丽,杨季芳,陈吉刚,等. 象山港海域硝化细菌与反硝化细菌的时空分布特征及其与环境因子的关系[J]. 生态学杂志, 2011, **30**(4): 752-762.
- [11] 赵海萍,陶建华,李清雪. 渤海湾海域硝化、亚硝化细菌的生态研究[J]. 海洋技术, 2005, **24**(4): 44-49.
- [12] 陈立广,樊景凤,关道明,等. 辽河口沉积物中硝化细菌数量的时空变化分析[J]. 海洋环境科学, 2009, **29**(2): 174-178.
- [13] 李佳霖,白洁,高会旺,等. 长江口邻近海域夏季沉积物硝化细菌与硝化作用[J]. 环境科学, 2009, **30**(11): 3203-3208.
- [14] 白洁,陈春涛,赵阳国,等. 辽河口湿地沉积物硝化细菌及硝化作用研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(12): 3011-3017.
- [15] Cébron A, Coci M, Garnier J, et al. Denaturing gradient gel electrophoretic analysis of ammonia-oxidizing bacterial community structure in the lower Seine River: impact of Paris wastewater effluents[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(11): 6726-6737.
- [16] Cébron A, Garnier J. *Nitrobacter* and *Nitrospira* genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: detection, quantification and growth along the lower Seine River (France) [J]. Water Research, 2005, **39**(20): 4979-4992.
- [17] López-Archilla A I, Marín I, Amils R. Microbial community composition and ecology of an acidic aquatic environment: the Tinto River, Spain [J]. Microbial Ecology, 2001, **41**(1): 20-35.
- [18] Seitzinger S P. Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: ecological and geochemical significance [J]. Limnology and Oceanography, 1988, **33**(4): 702-724.
- [19] 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.
- [20] Sommerville C C, Knight I T, Straube W L, et al. Simple, rapid method for direct isolation of nucleic acids from aquatic environments [J]. Applied and Environment Microbiology, 1989, **55**(3): 548-554.
- [21] Rivera I N G, Lipp E K, Gil A, et al. Method of DNA extraction and application of multiplex polymerase chain reaction to detect toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 from aquatic ecosystems [J]. Environmental Microbiology, 2003, **5**(7): 599-606.
- [22] Ferris M J, Muyzer G, Ward D M. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community [J]. Applied and Environment Microbiology, 1996, **62**(2): 340-346.
- [23] Muyzer G, De Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. Applied and Environment Microbiology, 1993, **59**(3): 695-700.
- [24] Kowalchuk G A, Stephen J R, De Boer W, et al. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments [J]. Applied and Environment Microbiology, 1997, **63**(4): 1489-1497.
- [25] Hermansson A, Lindgren P E. Quantification of ammonia-oxidizing bacteria in arable soil by real-time PCR [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(2): 972-976.
- [26] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication [M]. California: University of California Press, 1958. 323-347.
- [27] Stamper D M, Walch M, Jacobs R N. Bacterial population changes in a membrane bioreactor for graywater treatment monitored by denaturing gradient gel electrophoretic analysis of 16S rRNA gene fragments [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(2): 852-860.
- [28] 孙海美,孙卫玲,邵军. 布吉河枯水期总细菌和反硝化功能基因定量研究[J]. 北京大学学报, 2012, **48**(4): 629-638.
- [29] Cébron A, Berthe T, Garnier J. Nitrification and nitrifying

- bacteria in the lower Seine River and estuary (France) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(12): 7091-7100.
- [30] 邵军, 孙海美, 孙卫玲, 等. 垃圾渗滤液处理系统中微生物群落结构变化研究[J]. *北京大学学报 (自然科学版)*, 2010, **46**(3): 435-441.
- [31] Kandeler E, Deiglmayr K, Tschirko D, *et al.* Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(9): 5957-5962.
- [32] Yan Q Y, Yu Y H, Feng W S, *et al.* Plankton community composition in the Three Gorges Reservoir Region revealed by PCR-DGGE and its relationships with environmental factors[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, **20**(6): 732-738.
- [33] 吕明姬, 汪杰, 范铮, 等. 滇池浮游细菌群落组成的空间分布特征及其与环境因子的关系[J]. *环境科学学报*, 2011, **31**(2): 299-306.
- [34] Chen X, Zhang L M, Shen J P, *et al.* Abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in an acid paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, **47**(3): 323-331.
- [35] 邹莉, 黄艺, 谢曙光. 武进港浮游微生物群落研究[J]. *北京大学学报 (自然科学版)*, 2011, **47**(3): 513-518.
- [36] Feng B W, Li X R, Wang J H, *et al.* Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **70**(2): 236-248.
- [37] Böckelmann U, Manz W, Neu T R, *et al.* Characterization of the microbial community of lotic organic aggregates ('river snow') in the Elbe River of Germany by cultivation and molecular methods[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, **33**(2): 157-170.
- [38] Brümmer I H M, Fehr W, Wagner-Döbler I. Biofilm community structure in polluted rivers: Abundance of dominant phylogenetic groups over a complete annual cycle [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(7): 3078-3082.
- [39] Stephen J R, McCaig A E, Smith Z, *et al.* Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to beta-subgroup ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, **62**(11): 4147-4154.
- [40] Stephen J R, Kowalchuk G A, Bruns M A V, *et al.* Analysis of  $\beta$ -subgroup proteobacterial ammonia oxidizer populations in soil by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and hierarchical phylogenetic probing [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(8): 2958-2965.
- [41] De Bie M J M, Speksnijder A G C L, Kowalchuk G A, *et al.* Shifts in the dominant populations of ammonia-oxidizing  $\beta$ -subclass Proteobacteria along the eutrophic Schelde estuary[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2001, **23**(2): 225-236.
- [42] Limpiyakorn T, Shinohara Y, Kurisu F, *et al.* Communities of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of various sewage treatment plants in Tokyo [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **54**(2): 205-217.
- [43] Bollmann A, Bär-Gilissen M J, Laanbroek H J. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(10): 4751-4757.
- [44] Purkhold U, Pommerening-Röser A, Juretschko S, *et al.* Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and *amoA* sequence analysis: implications for molecular diversity surveys[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(12): 5368-5382.
- [45] Broos K, Mertens J, Smolders E. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays: a comparative study[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, **24**(3): 634-640.
- [46] Reyes-Caballero H, Campanello G C, Giedroc D P. Metalloregulatory proteins: Metal selectivity and allosteric switching[J]. *Biophysical Chemistry*, 2011, **156**(2-3): 103-114.
- [47] Allison S D, Czimczik C I, Treseder K K. Microbial activity and soil respiration under nitrogen addition in Alaskan boreal forest [J]. *Global Change Biology*, 2008, **14**(5): 1156-1168.

## CONTENTS

|                                                                                                                                                                          |                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Levels and Sources of Gaseous Polybrominated Diphenyl Ethers in Air over the Northern South China Sea .....                                                              | LI Qi-lu, LI Jun, LIU Xiang, <i>et al.</i> (2533)                  |
| Observation and Analysis of Air Pollution in Zhangjiakou, Hebei .....                                                                                                    | SHAO Ping, WANG Li-li, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (2538)            |
| Smog Chamber Simulation of Ozone Formation from Atmospheric Photooxidation of Propane .....                                                                              | HUANG Li-hua, MO Chuang-rong, XU Yong-fu, <i>et al.</i> (2551)     |
| Mechanism and Performance of a Membrane Bioreactor for Treatment of Toluene Vapors .....                                                                                 | YE Qi-hong, WEI Zai-shan, XIAO Pan, <i>et al.</i> (2558)           |
| Analysis of Odor Pollutants in Kitchen Waste Composting .....                                                                                                            | ZHANG Hong-yu, ZOU Ke-hua, YANG Jin-bing, <i>et al.</i> (2563)     |
| Spatial Changes and Sources of Nitrate in Beijing Urban Ecosystem Surface Water .....                                                                                    | XU Zhi-wei, ZHANG Xin-yu, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (2569)         |
| Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from Three Tributaries of Yangtze River in Different Periods .....                              | LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2574)        |
| Distribution Characteristics and Potential Risks of Phenols in the Rainy Season Surface Water from Three Gorges Reservoir .....                                          | WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2580) |
| Spatial Distribution of Perfluorooctanoic Acids and Perfluorinate Sulphonates in Surface Water of East Lake .....                                                        | CHEN Jing, WANG Lin-ling, ZHU Hu-di, <i>et al.</i> (2586)          |
| Characteristics of Heavy Metal Pollution in Daninghe River and Modaoxi River of Three Gorges Reservoir Areas .....                                                       | AN Li-hui, ZHANG Yan-qiang, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2592)   |
| Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of the Yangtze River .....                                             | WANG Lan, WANG Ya-ping, XU Chun-xue, <i>et al.</i> (2599)          |
| Analysis of the Source, Potential Biological Toxicity of Heavy Metals in the Surface Sediments from Shellfish Culture Mudflats of Rudong Country, Jiangsu Province ..... | LI Lei, WANG Yun-long, JIANG Mei, <i>et al.</i> (2607)             |
| Effect of Disturbance Intensity on Phosphorus Release and Its Transformation in the Sediment from Taihu Lake .....                                                       | LI Da-peng, HUANG Yong (2614)                                      |
| Effects of Intrusions from Three Gorges Reservoir on Nutrient Supply to Xiangxi Bay .....                                                                                | ZHANG Yu, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2621)              |
| Influence of Perennial Flooding and Drought on Growth Restoration of <i>Acorus calamus</i> in Water-level-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir .....           | LI Qiang, GAO Xiang, DING Wu-quan, <i>et al.</i> (2628)            |
| Pollution Load and the First Flush Effect of Phosphorus in Urban Runoff of Wenzhou City .....                                                                            | ZHOU Dong, CHEN Zhen-lou, BI Chun-juan (2634)                      |
| Output Characteristics of Rainfall Runoff Phosphorus Pollution from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area .....                                           | YU Xing-xiu, LI Zhen-wei, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (2644)       |
| Influence of Land Use Structure on Nitrogen Output in the Watershed of Suburban Agriculture Regions .....                                                                | YANG Feng, WANG Peng-ju, YANG Shan-shan, <i>et al.</i> (2652)      |
| Simulation of Nitrogen and Phosphorus Loss in Siling Reservoir Watershed with AnnAGNPS .....                                                                             | BIAN Jin-yun, WANG Fei-er, YANG Jia, <i>et al.</i> (2659)          |
| GIS and L-THIA Based Analysis on Variations of Non-point Pollution in the Guanlan River Watershed, Shenzhen .....                                                        | BAI Feng-jiao, LI Tian-hong (2667)                                 |
| Response of Sloping Water Erosion to Rainfall and Micro-earth Pattern in the Loess Hilly Area .....                                                                      | WEI Wei, JIA Fu-yan, CHEN Li-ding, <i>et al.</i> (2674)            |
| Comparison Study of Enhanced Coagulation on Humic Acid and Fulvic Acid Removal .....                                                                                     | ZHOU Ling-ling, ZHANG Yong-ji, YE He-xiu, <i>et al.</i> (2680)     |
| Real-time PCR Detection and Quantification of Emerging Waterborne Pathogens (EWPs) and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in the Downstream Area of Jiulong River .....  | WANG Qing, LIN Hui-rong, ZHANG Shu-ting, <i>et al.</i> (2685)      |
| Quantitative and Qualitative Analysis of Total Bacteria and Ammonia-oxidizing Bacteria in Buji River in Wet Season .....                                                 | SUN Hai-mei, BAI Jiao-jiao, SUN Wei-ling, <i>et al.</i> (2691)     |
| Study on the Nitrogen Removal Performance and the Characteristics of Denitrification Bacterial Community Structure of Biological Aerated Filter .....                    | PENG Xiao-lan, LIU Cong, CHEN Li-jun (2701)                        |
| Analysis of Microbial Community Structure at Full-scale Wastewater Treatment Plants by Oxidation Ditch .....                                                             | GUO Yun, YANG Dian-hai, LU Wen-jian (2709)                         |
| Performance and Microbial Community Dynamic Characteristics of an Internal Circulation Reactor Treating Brewery Wastewater .....                                         | ZHU Wen-xiu, HUANG Zhen-xing, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (2715)   |
| Coupling AFM Fluid Imaging with Micro-Flocculation Filtration Process for the Technological Optimization .....                                                           | ZHENG Bei, GE Xiao-peng, YU Zhi-yong, <i>et al.</i> (2723)         |
| Study on Removal Effect of Different Organic Fractions from Bio-treated Effluent of Dye Wastewater by UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Process .....                     | LI Xin, LIU Yong-di, SUN Xian-bo, <i>et al.</i> (2728)             |
| Optimization of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 Photoheterotrophic Culture and Its Use in Wastewater Treatment .....                                                    | WANG Xiu-jin, LI Zhao-sheng, XING Guan-lan, <i>et al.</i> (2735)   |
| Characteristics and Mechanism of 2,4,6-TCP Degradation by the "Fe <sup>0</sup> /Enriched-Bacteria" System .....                                                          | DAI You-zhi, GUO Li-li, SHI Lei, <i>et al.</i> (2741)              |
| Immobilization of Crude Laccase onto Anion Exchange Resin and Its Application in Decoloration of Malachite Green .....                                                   | QI Xu-liang, LIU Xiang, LIU Bo, <i>et al.</i> (2747)               |
| Low-Temperature Preparation of TiO <sub>2</sub> /PS/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> and Its Photocatalytic Activity and Magnetic Recovery .....                           | WANG Xue-jiao, REN Xue-chang, NIAN Juan-ni, <i>et al.</i> (2752)   |
| Study on Catalytic Oxidation of Benzene by Microwave Heating .....                                                                                                       | ZHANG Yu-cai, BO Long-li, WANG Xiao-hui, <i>et al.</i> (2759)      |
| Synergistic Effects of Nano-sized Magnetic Particles and Uncoupler to the Characteristics of Activated Sludge .....                                                      | GAO Li-ying, TANG Bing, LIANG Ling-yan, <i>et al.</i> (2766)       |
| Experimental and Modeling Research on the Settlement of Aerobic Granular Sludge .....                                                                                    | SU Kui-zu, DENG Xiu-kun, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2773)            |
| Analysis of Hydrolytic Enzyme Activities on Sludge Aerobic/Anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment .....                                                          | YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2780)             |
| Effect of Microbial Nutrient Concentration on Improvement of Municipal Sewage Sludge Dewaterability Through Bioleaching .....                                            | SONG Yong-wei, LIU Fen-wu, ZHOU Li-xiang (2786)                    |
| Response of the Artificial Cyanobacterial Crusts to Low Temperature and Light Stress and the Micro-structure Changes Under Laboratory Conditions .....                   | RAO Ben-qiang, LI Hua, XIONG Ying, <i>et al.</i> (2793)            |
| Seasonal Dynamics of Soil Active Carbon Pool in a Purple Paddy Soil in Southwest China .....                                                                             | WU Yan, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2804)                      |
| Pollution Characteristics and Accumulation of Antibiotics in Typical Protected Vegetable Soils .....                                                                     | YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, <i>et al.</i> (2810)       |
| Transformation and Influences of Copper and Selenium Fractions on Heavy Metals Bioavailability in Co-contaminated Soil .....                                             | HU Bin, LIANG Dong-li, ZHAO Wen-long, <i>et al.</i> (2817)         |
| Response of Soil Microbial Community to the Bioremediation of Soil Contaminated with PAHs .....                                                                          | ZHANG, Jing, LIN Xian-gui, LIU Wei-wei, <i>et al.</i> (2825)       |
| Bioremediation of PAHs Contaminated Soil from Beijing Coking Plant by <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .....                                                              | ZHANG Zhi-yuan, WANG Cui-ping, LIU Hai-bin, <i>et al.</i> (2832)   |
| Leaching Experiments on the Release of Trace Elements from Tailings of Chashan Antimony Mine, Guangxi, China .....                                                       | CAI Yong-bing, LI Ling, WEI Xiao-fei, <i>et al.</i> (2840)         |
| Accumulation Characteristics of Arsenic in Suburban Soils of Beijing .....                                                                                               | QI Jie, WANG Mei-e, WANG Zi-qiang, <i>et al.</i> (2849)            |
| Antioxidant Enzyme Gene Expression as Molecular Biomarkers of Exposure to Polycyclic Musks .....                                                                         | CHEN Chun, ZHOU Qi-xing, LIU Xiao-wei (2855)                       |
| Effects of Ozone Pollution on the Accumulation and Distribution of Dry Matter and Biomass Carbon of Different Varieties of Wheat .....                                   | KOU Tai-ji, YU Wei-wei, ZHU Jian-guo, <i>et al.</i> (2862)         |
| Influence of Reaction Time of Urea Hydrolysis-Based Co-precipitation on the Structure of ZnAl Layered Double Hydroxides and the Phosphate Adsorption .....               | LU Ying, CHENG Xiang, XING Bo, <i>et al.</i> (2868)                |
| Competitive Adsorption Kinetics of Aqueous Pb <sup>2+</sup> and Cu <sup>2+</sup> on Nano-HAP Surfaces .....                                                              | HU Tian-tian, CANG Long, WANG Yu-jun, <i>et al.</i> (2875)         |
| Effects of pH and Ni <sup>2+</sup> on Sorption Behavior of Phenanthrene on Engineered Nano-Silica .....                                                                  | LUO Pei, SUN Hong-wen, ZHANG Peng (2882)                           |
| Adsorption Characteristics and Mechanism of Uranium on Attapulgite .....                                                                                                 | LIU Juan, CHEN Di-yun, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2889)            |
| Adsorption Characteristics of Ciprofloxacin in Ustic Cambosols .....                                                                                                     | CUI Hao, WANG Shu-ping (2895)                                      |
| Kinetic Mechanism and Characteristics Researches for Hydrazine-based NO <sub>x</sub> Removal at Moderate to High Temperatures .....                                      | HONG Liu, CHEN De-zhen, WANG Du, <i>et al.</i> (2901)              |
| Current Research Situation of H <sub>2</sub> S Selective Catalytic Oxidation Technologies and Catalysts .....                                                            | HAO Zheng-ping, DOU Guang-yu, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (2909)      |

# 《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8月15日 33卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 8 Aug. 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)<br>北京市环境保护科学研究院<br>清华大学环境学院                                                                                                                               | Co-Sponsored     | by | Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection<br>School of Environment, Tsinghua University                                                                                                          |
| 主 编     | 欧阳自远                                                                                                                                                                | Editor-in -Chief |    | OUYANG Zi-yuan                                                                                                                                                                                                          |
| 编 辑     | 《环境科学》编辑委员会<br>北京市2871信箱(海淀区双清路<br>18号, 邮政编码:100085)<br>电话:010-62941102, 010-62849343<br>传真:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn | Edited           | by | The Editorial Board of Environmental Science ( HUANJING KEXUE )<br>P. O. Box 2871, Beijing 100085, China<br>Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn |
| 出 版     | 科 学 出 版 社<br>北京东黄城根北街16号<br>邮政编码:100717                                                                                                                             | Published        | by | Science Press<br>16 Donghuangchenggen North Street,<br>Beijing 100717, China                                                                                                                                            |
| 印 刷 装 订 | 北京北林印刷厂                                                                                                                                                             | Printed          | by | Beijing Bei Lin Printing House                                                                                                                                                                                          |
| 发 行     | 科 学 出 版 社<br>电话:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com                                                                                                | Distributed      | by | Science Press<br>Tel:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com                                                                                                                                               |
| 订 购 处   | 全国各地邮电局                                                                                                                                                             | Domestic         |    | All Local Post Offices in China                                                                                                                                                                                         |
| 国外总发行   | 中国国际图书贸易总公司<br>(北京399信箱)                                                                                                                                            | Foreign          |    | China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China                                                                                                                      |

中国标准刊号: ISSN 0250-3301  
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人