

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第9期

Vol.33 No.9

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

我国4个WMO/GAW本底站大气CH ₄ 浓度及变化特征	方双喜,周凌晔,许林,姚波,刘立新,夏玲君,王红阳	(2917)
我国东北地区大气降水稳定同位素特征及其水汽来源	李小飞,张明军,马潜,李亚举,王圣杰,汪宝龙	(2924)
2010年广州亚运期间空气质量与污染气象条件分析	李婷苑,邓雪娇,范绍佳,吴兑,李菲,邓涛,谭浩波,蒋德海	(2932)
厦门市冬春季灰霾期间大气PM ₁₀ 中多环芳烃的污染特征及来源分析	钱冉冉,闫景明,吴水平,王新红	(2939)
气溶胶OCEC切割点确定方法改进及应用	王莉华,董华斌,闫才青,曾立民,郑玫,张延君,刘久萌,Weber R J	(2946)
松花江上游夹皮沟金矿土壤与大气汞污染特征	张刚,王宁,王媛,刘特,艾建超	(2953)
河北农居环境颗粒态汞污染特征及健康评估研究	赵亚娟,龚巍巍,栾胜基	(2960)
印刷电路板(PCB)厂挥发性有机物(VOCs)排放指示物筛选	马英歌	(2967)
烹调油烟中挥发性有机物的排放初探	何万清,田刚,聂磊,曲松,李靖,王敏燕	(2973)
生物滴滤塔降解甲苯废气长期运行生物膜相特性研究	胡俊,郑江玲,吴越新,张丽丽,陈建孟	(2979)
分期布液生物滴滤床净化H ₂ S废气性能研究	刘春敬,李坚,刘佳,彭淑婧,李超,陈英,何洪	(2987)
粉煤灰综合利用过程中汞的二次释放规律研究	孟阳,王书肖	(2993)
太湖、巢湖水体总悬浮物浓度半分析反演模型构建及其适用性评价	刘忠华,李云梅,檀静,郭宇龙,周莉,刘阁	(3000)
巢湖水质与流域农业投入的关联性研究	张燕,高翔,张洪	(3009)
巢湖十五里河水花生长区沉积物及间隙水中营养盐的基本特性	李如忠,李峰,周爱佳	(3014)
巢湖沉积物中磷蓄积时空变化及人为污染定量评价	刘恩峰,杜臣昌,羊向东,沈吉	(3024)
巢湖周边表土中有机质、全氮和全磷空间分布及其相关性	陈书琴,储昭升,胡社荣,刘俊,王长春,王曼	(3031)
丹江口水库典型入库支流氮磷动态特征研究	雷沛,张洪,单保庆	(3038)
水温分层对三峡水库香溪河库湾春季水华的影响	刘流,刘德富,肖尚斌,孔松,陈媛媛,方小凤	(3046)
平水期和丰水期殷村港污染物浓度时空变异比较研究	杨晓英,罗兴章,郑正,方淑波	(3051)
江苏西部湖泊沉积物营养盐赋存形态和释放潜力差异性分析	刘涛,胡志新,杨柳燕,肖琳,席北斗,许其功	(3057)
太湖西岸湖滨带沉积物氮磷有机质分布及评价	甘树,卢少勇,秦普丰,金相灿,焦伟,王佩	(3064)
南四湖流域种植业面源污染氮磷源解析研究	刘静,路风,杨廷钊,徐娜,王田妮	(3070)
珠江水体中有机物分布、组成及与消毒副产物生成的关系	何洪威,周达诚,王保强,梁艳红	(3076)
东江流域典型乡镇饮用水源地重金属污染健康风险评价	王若师,许秋瑾,张炯,魏群山,颜昌宙	(3083)
深圳茅洲河表层沉积物卤代多环芳烃污染研究	孙建林,倪宏刚,丁超,曾辉	(3089)
福建罗源湾潮间带沉积物重金属含量空间分布及其环境质量影响	高文华,杜永芬,王丹丹,高抒	(3097)
渤海湾大型底栖生物群落结构变化及原因探讨	蔡文倩,刘录三,乔飞,林岍璇,周娟	(3104)
地下水污染防治区划体系构建研究	王俊杰,何江涛,陆燕,刘丽雅,张小亮	(3110)
北京市平原区地下水污染防治区划不确定性分析	陆燕,何江涛,王俊杰,刘丽雅,张小亮	(3117)
川东平行岭谷区典型岩溶含水系统中NO ₃ ⁻ 的存储和运移	杨平恒,袁道先,任幼蓉,谢世友,贺秋芳,胡晓风	(3124)
改性活性炭对水中PFOS的吸附去除研究	董锡臻,石宝友,解岳,王东升	(3132)
水溶液中臭氧和溴离子的反应研究	俞潇婷,张家辉,潘循哲,张仁熙,侯惠奇	(3139)
HPSEC-UV-TOC联用技术测定有机物相对分子质量分布	张晗,董秉直	(3144)
不同有机基质诱发的水体黑臭及主要致臭物(VOSC _s)产生机制研究	卢信,冯紫艳,商景阁,范成新,邓建才	(3152)
不同pH下纳米铁镍颗粒对生物降解苯酚的影响	况烨,周琰,王清萍,陈祖亮	(3160)
多级微氧生物流化床预处理高浓度丙烯酸废水	李莎,郑盛之,宋玉栋,周岳溪,朱长军,刘淑玲,潘玲,蒲文晶	(3167)
三级生物膜深度处理腈纶废水生化出水的脱氮研究	徐少阳,蒋进元,周岳溪,崔俊涛,段妮妮	(3172)
改性花生壳对水中镉的动态吸附研究	龙腾,易筱筠,党志	(3177)
硫氰酸根在粒状镁铝复合氧化物上的吸附性能	王秀娟,王海增,孙宝维,韩文军	(3182)
海水生物滤器氨氮沿程转化规律模型	罗荣强,侯沙沙,沈加正,陈珠,刘鹰	(3189)
营养物质缺乏引起的好氧颗粒污泥膨胀及其恢复	张著,高大文,袁向娟,勾倩倩	(3197)
生物表面活性剂强化污泥水解的研究	易欣,罗琨,杨麒,李小明,邓伟光,张植平	(3202)
厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定	刘冬英,邱艳玲,袁宪正,师晓爽,郭荣波	(3208)
阿特拉津降解菌株的分离、鉴定及降解特性研究	李绍峰,朱静,李铁晶	(3214)
农业废物堆肥中高产漆酶菌株的分离鉴定及酶学性质研究	任秀娟,范长征,鲁伦慧,王聪,曾光明	(3220)
糖蜜酒精废水脱色微生物的筛选及鉴定	李必金,刘幽燕,贺锴,滕芳明,何熙璞,李青云	(3228)
餐厨垃圾乳酸发酵过程中的微生物多样性分析	刘建国,汪群慧,王爽,孙晓红,仇天雷,李焕	(3236)
共价功能化对单壁碳纳米管产生DNA损伤和活性氧的影响研究	吴仁人,陶雪琴,党志,李开明,蔡美芳	(3241)
<i>Geobacter sulfurreducens</i> 对汞的甲基化及其影响因素研究	邹嫣,司友斌,颜雪,陈艳	(3247)
单一与复合胁迫下油菜对镉、铅的吸收效应	武文飞,南忠仁,王胜利,赵转军,周婷	(3253)
金铜矿下游农户家养番鸭体内重金属分布特征及其评价	杭小帅,梁斌,王文林,王霞,李维新	(3261)
环境激素氯菊酯对萼花臂尾轮虫繁殖的影响	董学兴,杨家新,吕林兰,赵卫红,於叶兵	(3266)
地聚物固化生活垃圾焚烧飞灰固化体抗氧化硫杆菌腐蚀性能的研究	金漫彤,孙鑫,董海丽,金赞芳	(3272)
焚烧飞灰高温过程中重金属的挥发及其氯化特征	刘敬勇,孙水裕	(3279)
城市废弃物处理温室气体排放研究:以厦门市为例	于洋,崔胜辉,林剑艺,李飞	(3288)
NPEOs及其代谢产物在城市污水处理厂中的归趋分析	连静,刘俊新	(3295)
《环境科学》征订启事(3037)	《环境科学》征稿简则(3151)	信息(2999,3030,3096,3227)

厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定

刘冬英^{1,2}, 邱艳玲^{1*}, 袁宪正¹, 师晓爽¹, 郭荣波¹

(1. 中国科学院青岛生物能源与过程研究所生物燃料重点实验室, 青岛 266101; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 采用传统培养方法与分子生物学方法相结合, 进行了厌氧氨氧化菌的分离培养与分子鉴定. 富集培养以 2 种不同反应器的厌氧氨氧化污泥作为分离源, 以亚硝酸盐与铵盐为底物. 经过 2 a 传代培养获得 2 个培养系, 对亚硝酸盐及铵盐具有稳定的去除能力, 氨氮去除率为 85% 左右. 通过 16S rRNA 克隆文库方法对培养系中浮霉菌门微生物群落结构进行了多样性解析, 结果表明 2 个培养系中的厌氧氨氧化菌是同一种微生物, 代表序列比对结果与“*Kuenenia stuttgartiensis*”同源率为 99%. 采用“*K. stuttgartiensis*”的特异探针针对培养系进行了荧光原位杂交分析 (FISH), 进一步证实“*K. stuttgartiensis*”是培养系中的优势厌氧氨氧化菌, 占总菌群数的 80% ~ 90%. 对反应器中“*K. stuttgartiensis*”的丰度变化进行了 FISH 跟踪检测, 发现原始接种污泥中“*K. stuttgartiensis*”为主要厌氧氨氧化菌, 经过 2 a 运行该菌在污泥中的丰度由 11% 提高到 24%.

关键词: 厌氧氨氧化菌; “*Kuenenia stuttgartiensis*”; 16S rRNA 克隆文库; 荧光原位杂交 (FISH)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)09-3208-06

Enrichment and Identification of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria

LIU Dong-ying^{1,2}, QIU Yan-ling¹, YUAN Xian-zheng¹, SHI Xiao-shuang¹, GUO Rong-bo¹

(1. Key Laboratory of Biofuels, Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) bacteria were investigated by cultivation and molecular approaches. Primary enrichments were made with NH_4HCO_3 and NaNO_2 as substrates and two types of sludge from ANAMMOX reactors as inoculum. Two stable enrichment cultures were obtained after two years of successive transfers, and ammonium removal rate was 85%. The ANAMMOX bacteria in the enrichment cultures were identified by Planctomycetales-specific 16S rRNA gene-cloning analysis and fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The clone analysis revealed that all the clonal sequences obtained from the two enrichment cultures were similar and closely related to *Candidatus* “*Kuenenia stuttgartiensis*” (99% similarities in 16S rRNA gene sequence). FISH with Planctomycetales-specific probe Pla46 and *K. stuttgartiensis*-specific probe Kst1275 revealed that the predominant ANAMMOX bacteria in the two enrichment cultures showed positive signals with the Pla46 and Kst1275 probes, respectively. To detect the variation in abundance of *K. stuttgartiensis* in the original inoculum reactor during two years of operation, FISH with Pla46 and Kst1275 probes was applied to the same sludge. The results showed that the abundance of *K. stuttgartiensis* in the sludge was increased from 11% to 24% within two years.

Key words: ANAMMOX; “*Kuenenia stuttgartiensis*”; 16S rRNA gene clone library; fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

20 世纪 90 年代, Mulder 等^[1]在生物处理系统中首先发现了厌氧氨氧化现象 (ANAMMOX: anaerobic ammonium oxidation). 自 2002 年首例工业化厌氧氨氧化反应器在荷兰建成并投入使用以来, 该工艺在污泥消化液、垃圾渗滤液等高氨氮废水脱氮处理方面已有成功的运用实例^[2]. 近年, 随着分子生物技术的迅速发展, 研究者发现厌氧氨氧化菌广泛存在于海洋、河流、湖泊底泥等自然环境中, 说明厌氧氨氧化菌在全球氮循环中发挥重要作用^[3-6]. 在海洋环境中, 厌氧氨氧化反应产生的氮气占整个海洋中氮气产生量的 30% ~ 50%^[7-9]. 目前, 采用分子生物学方法已鉴定出 5 属 10 种厌氧氨氧化菌, 即 *Candidatus* “*Anammoxoglobus propionicus*”、“*Brocadia*” (“*B. anammoxidans*”, “*B. fulgida*”, “*B. sinica*”)、“*Jettenia asiatica*”、“*Kuenenia stuttgartiensis*”及

“*Scanlindia*” (“*S. sorokinii*”, “*S. brodae*”, “*S. wagneri*”, “*S. arabica*”). 其中, “*B. anammoxidans*”和“*K. stuttgartiensis*”的相关研究较多, 这两种微生物是污水处理系统中常被鉴定的优势厌氧氨氧化菌^[10-15]. “*B. anammoxidans*”于 1999 年在污水处理系统中发现, 是首例报道的厌氧氨氧化菌^[16]; “*K. stuttgartiensis*”于 2000 年在生物滤池中发现^[17]. Hu 等^[18]基于 16S rRNA 分析和荧光原位杂交技术鉴定了 8 种不同氨氮处理反应器中的厌氧氨氧化菌, 发现“*Brocadia*”及“*Kuenenia*”为反应器中主要厌氧氨氧

收稿日期: 2011-11-08; 修订日期: 2011-12-13

基金项目: 中国科学院重要方向项目 (KSCX2-YW-054, KSCX2-YW-G-052); 山东省自然科学基金项目 (Y2008F45); 国家科技支撑计划项目 (2010BAC67B03)

作者简介: 刘冬英 (1986 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: liudy@qibebt. ac. cn

* 通讯联系人, E-mail: qiuyl@qibebt. ac. cn

化菌. 作为一种新型生物脱氮技术,厌氧氨氧化工艺在废水生物脱氮领域受到广泛关注^[19]. 但是厌氧氨氧化菌生长缓慢,倍增时间较长(11d)^[20],难以维持较高生物浓度,导致反应器启动时间较长,工程应用较少. 厌氧氨氧化工艺发现 16 a 以来,至今未获得厌氧氨氧化菌的纯菌株. 因此,厌氧氨氧化菌的分离培养技术研究是厌氧氨氧化技术应用的重要课题. 本研究以 2 种不同反应器的厌氧氨氧化污泥为分离源,采用传统培养方法与分子生物学手法相结合,进行了厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定.

1 材料与方法

1.1 样品采集

厌氧氨氧化污泥取自 2 种 30℃ 附近实验室运行的反应器. 其中,一种污泥(代号 H)取自北京环境科学研究院一套运行 3 a 的推流式反应器,进水基质主要为人工配制的碳酸氢铵及亚硝酸钠^[21],污泥为红色颗粒,直径 0.5 ~ 3 mm. 另一种污泥(代号 S)取自北京排水集团运行半年的上流式厌氧流化床反应器(UASB),进水基质为污泥消化液及氯化铵和亚硝酸钠^[22],污泥为灰色细小颗粒.

1.2 富集培养及分离方法

以 2 种厌氧氨氧化污泥(约 0.1 g)作为接种源,污泥经 PBS 磷酸缓冲液清洗捣碎后分别加入 60 mL 血清瓶中,静置于 30℃ 黑暗培养箱中. 培养基如表 1 所示^[20],以氩气和二氧化碳混合气体(Ar: CO₂ = 80: 20, 体积比)置换液体培养基及瓶中的气体.

表 1 厌氧氨氧化菌培养基的组成

Table 1 Composition of medium for ANAMMOX bacteria		
项目	培养基成分	浓度/mg·L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	56.7
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	165
	CaCl ₂ ·6H ₂ O	300
	NaHCO ₃	104.9
微量元素 I	EDTA	5
	FeCl ₂ ·4H ₂ O	5
微量元素 II	EDTA	15
	ZnCl ₂	0.255
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.3
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.238
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.213
	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.238
	H ₃ BO ₃	0.014
	Na ₂ MO ₄ ·2H ₂ O	0.304
	NaWO ₄ ·2H ₂ O	0.063
	Na ₂ SeO ₃	0.0614

采用 NH₄HCO₃ 和 NaNO₂ 作为底物, NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 的浓度均为 4 mmol·L⁻¹ (56 mg·L⁻¹), 培养基 pH 为 7.5 ~ 8.0. 以底物亚硝酸盐及铵盐的去除为判断指标,采用离子色谱检测,当底物去除 50% 以上时,传代培养于新鲜培养基,接种量为 15% ~ 20%. 以高度富集的厌氧氨氧化培养系为接种源,采用液体系列稀释法、亨盖特滚管技术等各种传统分离培养方法进行厌氧氨氧化菌的分离纯化,固体培养基采用高纯琼脂(2%)、Gellen Gum (1%) 及琼脂糖(0.5%) 作为凝胶物质.

1.3 DNA 提取、PCR 扩增及克隆文库构建

DNA 提取采用蛋白酶 K 及苯酚提取法. 16S rRNA 基因的 PCR 反应采用浮霉菌目特异引物 Pla46f-1390r, PCR 扩增程序: 95℃ 预变性 9 min; 95℃ 变性 40 s, 59℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 2 min, 72℃ 延伸 10 min^[23]. 为减少 PCR 误差,PCR 扩增分别采用 20、25、28、30、35 循环,以确定最佳循环数. PCR 产物使用 TIAN quick Midi Purification Kit 进行纯化. 纯化的 PCR 产物与质粒载体 pGEM-T easy (Promega) 进行连接后,转入到 DH5α 大肠杆菌感受态细胞中,最后进行蓝白斑筛选. 阳性克隆的检验使用引物 Pla46f-1390r,随机挑取 10 个阳性克隆子进行 RFLP 分析,PCR 产物用 DNA 内切酶 *Hha* I 和 *Hae* III 分型,选择代表性克隆进行测序(上海桑尼生物科技有限公司). 将序列输入 GenBank 数据库比对,并使用 ARB 序列分析软件构建系统发育树.

1.4 荧光原位杂交检测(FISH)

FISH^[24] 采用浮霉菌门微生物特异探针 Pla46 及“*K. stuttgartiensis*”特异探针 Kst1275 对富集培养系样品进行荧光原位杂交(表 2)^[10, 25]. 为确定探针 Pla46 的杂交条件,以浮霉菌门微生物“*Thermopirellula anaerolimosa*” Vm20-7 菌株(DSMZ 24165)为正对照,以与 Pla46 探针有一个碱基不匹配的 *Lentisphaerae* 门微生物“*Oligosphaera ethanolica*” 8KG-4 菌株(DSMZ 24202)为负对照. 采用 FISH 法对接种污泥反应器运行过程中厌氧氨氧化菌的丰度变化进行了跟踪检测,分别选择 Pla46 和 Kst1275 特异探针针对同一污泥样品进行浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”的 FISH 杂交,同时进行 DAPI 染色,并在荧光显微镜(Olympus BX50F)下观察、计数,每个样品取 5 个视野,用 Pla46/DAPI 和 Kst1275/DAPI 的比值表征同一样品中浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”在反应器运行过程中的相对丰度.

表 2 本研究使用的探针

Table 2 Fluorescently labeled oligonucleotide probes used in this study

探针名称	寡核苷酸名称	特异性	探针序列(5'-3')	荧光标记	甲酰胺(%) / NaCl / mmol · L ⁻¹
Pla46	S-P-Planc-0046-a-A-18	Planctomycetales	GACTTGCATGCCTAATCC	Cy3	30/900
Kst1275	S-*Kst-1275-a-A-20	<i>K. stuttgartiensis</i>	TCGGCTTATAGGTTTCGCA	Cy3	25/900

2 结果与讨论

2.1 富集培养结果及脱氮特性

以 2 种实验室运行的厌氧氨氧化反应器中的污泥为分离源,以亚硝酸钠及碳酸氢铵为底物,采用血清瓶微生物培养方法,进行了厌氧氨氧化菌的富集培养. 经过 2 a 连续传代培养,获得了 2 个稳定的厌氧氨氧化培养系(代号为 H、S),传代频率为 1 ~ 2 个月. 通过铵盐与亚硝酸盐的离子色谱检测,证实了培养系具有脱氮能力,15% ~ 20% 接种情况下,30 d 左右铵盐及亚硝酸盐的去除率达到 60% ~ 85% 左右. 但是培养系不能完全去除亚硝酸盐与铵盐,残留 0.5 ~ 1.5 mmol · L⁻¹ (图 1).

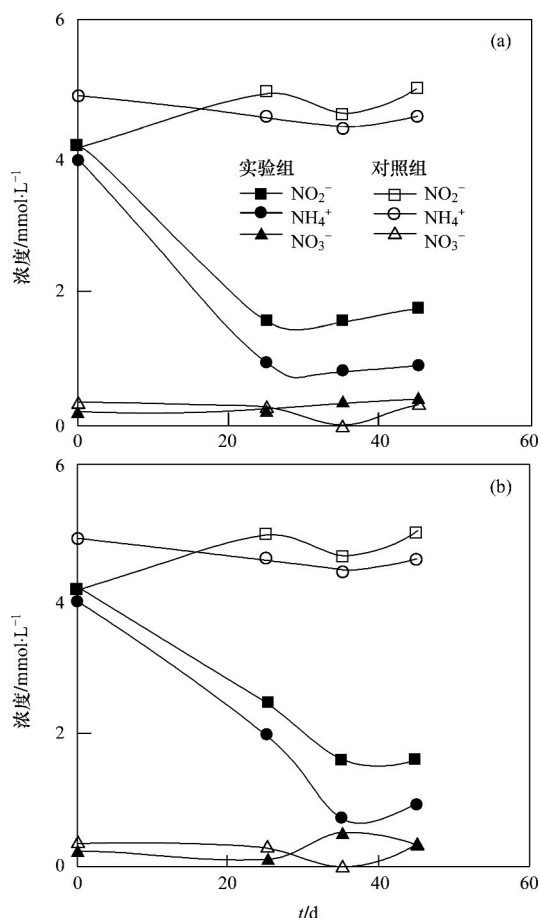


图 1 厌氧氨氧化富集培养系(H&S)的亚硝酸盐、铵盐及硝酸盐浓度的变化

Fig. 1 Consumption of nitrite & ammonium and production of nitrate by ANAMMOX enrichment cultures H and S

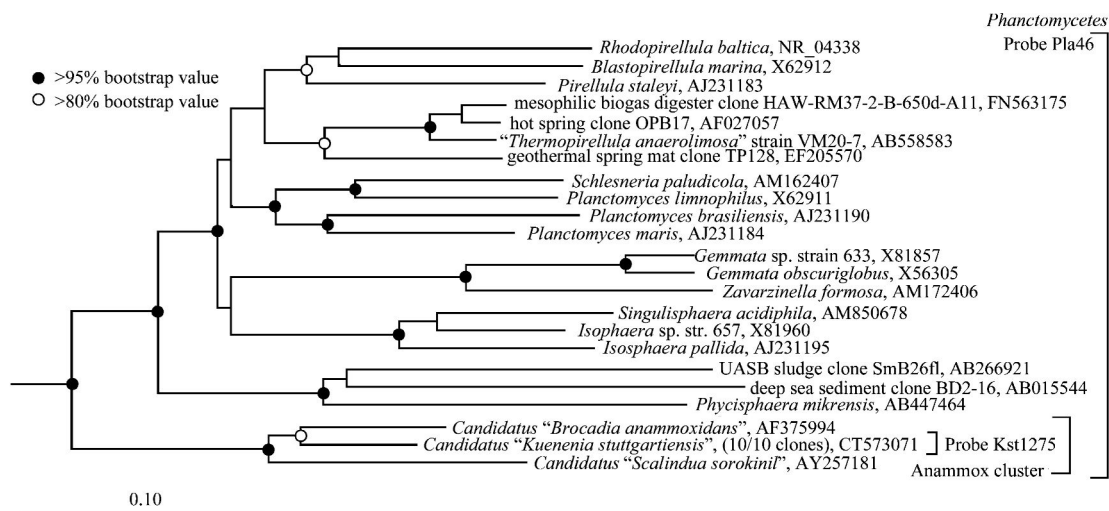
为提高厌氧氨氧化菌的生长速度,考察了各种电子供体、电子受体以及代谢中间产物羟胺、联氨对厌氧氨氧化菌生长的影响,但都没有明显促进效果. 厌氧氨氧化菌属于浮霉菌门,该门微生物的细胞壁中不含胞壁质,因此可以通过抗生素进行选择富集,已知的浮霉菌门微生物,如 *Planctomyces*、*Phycisphaera* 等菌属都是通过抗生素纯化获得^[26, 27]. 因此,本研究考察了卡那霉素、氨基霉素、氯霉素等抗生素对厌氧氨氧化培养系的影响,结果表明只有青霉素对厌氧氨氧化菌的抑制最低,可能成为筛选厌氧氨氧化菌的关键因素. 为了纯化厌氧氨氧化菌,还采用了液体系列稀释法及固体滚管培养法等传统微生物分离方法. 厌氧氨氧化培养系在稀释倍数 10⁻⁷ 仍然可以生长,但培养时间较长,需要 6 个月以上. 以高纯琼脂、Gellan Gum 及琼脂糖作为凝胶物质,对富集培养系进行了亨盖特滚管培养,在固体培养基上得到了单菌落,但是经 16S rRNA 系统鉴定均不是厌氧氨氧化菌. 目前,获得了高度富集的厌氧氨氧化培养系,但是无法获得纯菌株.

2.2 富集培养系中厌氧氨氧化菌的 16S rRNA 系统解析

为确定富集培养系中厌氧氨氧化菌的种类,采用 16S rRNA 克隆文库方法对富集 2 a 的培养系中浮霉菌门细菌群落结构进行了解析. PCR 反应采用浮霉菌门特异引物 Pla46f-1390r,循环数 25. 对 2 个培养系分别选取 10 个阳性克隆进行 RFLP 分析,结果显示 2 种培养系中 10/10 克隆酶切结果相同. 代表序列比对结果表明 2 个培养系中浮霉菌门细菌为同一种厌氧氨氧化菌,与已发现的 *Candidatus* “*K. stuttgartiensis*” 有 99% 相似性(图 2). 该结果也说明 “*K. stuttgartiensis*” 是污水处理系统中较常见的优势厌氧氨氧化菌.

2.3 荧光原位杂交解析(FISH)

从克隆解析结果可知,2 个富集培养系中厌氧氨氧化菌均为 “*K. stuttgartiensis*”,为进一步验证克隆解析结果,采用浮霉菌门特异探针 Pla46-Cy3 和 “*K. stuttgartiensis*” 特异探针 Kst1275-Cy3,利用 FISH 法对培养系中厌氧氨氧化菌进行了定性和定量分析

图2 厌氧氨氧化菌“*Kuenenia stuttgartiensis*”在浮霉菌门的系统发育树Fig. 2 Phylogenetic position of “*Kuenenia stuttgartiensis*” in the phylum Planctomycetales

(表2). 首先为确定探针 Pla46 的杂交条件,以浮霉菌门微生物“*T. anaerolimosa*” Vm20-7 菌株 (GenBank, AB558583) 为正对照,以与 Pla46 探针有一个碱基不匹配的 *Lentisphaerae* 微生物“*O. ethanolica*” 8KG-4 菌株 (GenBank, AB558581) 为负对照,进行 0%、10%、20%、30%、40% 的甲酰胺 (FA) 梯度实验,最终确定探针 Pla46 的最佳 FA 浓度为 30% (NaCl 浓度为 $900 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). 同样,为确定探针 Kst1275 的杂交条件,进行了 FA 梯度浓度实验,以与探针 Kst1275 有 4 个碱基不匹配的“*T. anaerolimosa*” Vm20-7 作为负对照,最终确定 Kst1275-Cy3 的最佳 FA 浓度为 25% (NaCl 浓度为 $900 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). 采用上述 2 个探针,利用 FISH 法对培养系中微生物进行了解析,发现培养系中的球形菌与 Pla46 探针及 Kst1275 探针均有荧光现象,表明浮霉菌门特异探针 Pla46 是鉴定厌氧氨氧化菌的最初始而又有效的检测方法. FISH 结果也证实了克隆解析结果,即 2 个富集培养系中的厌氧氨氧化菌是“*K. stuttgartiensis*”;经过富集培养该菌占培养系中总菌群数的 80% 左右 (图3).

为了掌握“*K. stuttgartiensis*”在接种污泥中的存在情况,采用 FISH 法对 S 接种污泥反应器运行过程中厌氧氨氧化菌的丰度变化进行了跟踪检测,分别选择 Pla46 和 Kst1275 特异探针对同一污泥样品进行浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”的 FISH 实验,同时进行 DAPI 染色,以 Pla46/DAPI 和 Kst1275/DAPI 的比值表征同一样品中浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”在污泥中的相对丰度. 反应器运行 2 a 后的厌氧氨氧化污泥 FISH 结果如图 4 所示,

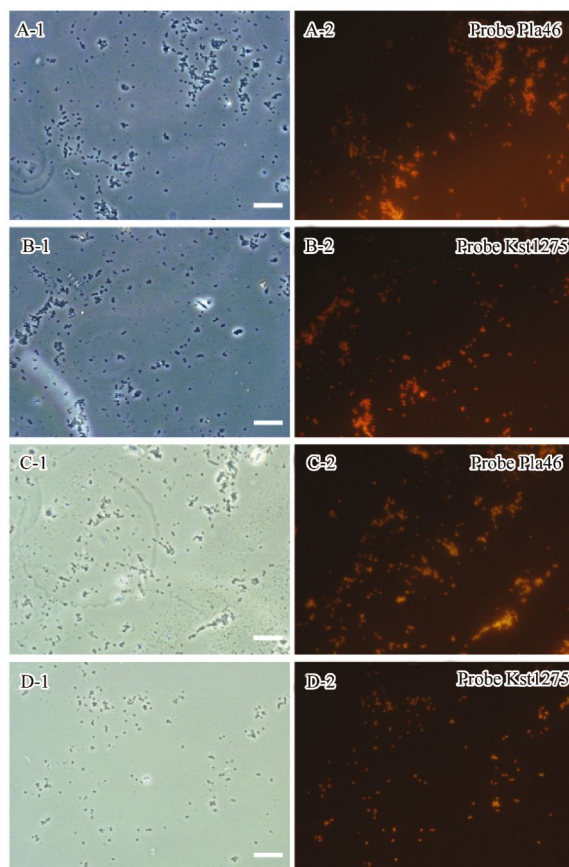
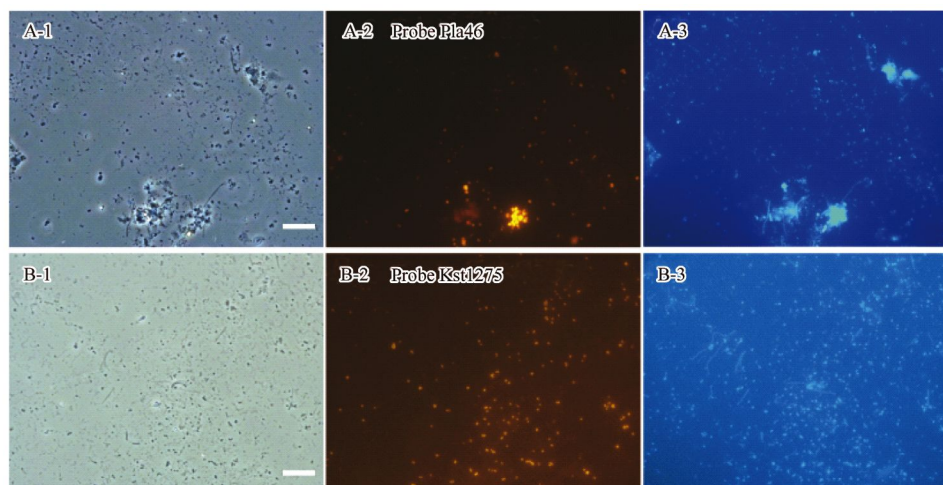
A&B: H 培养系, C&D: S 培养系; 1&2: 位相差图片、荧光原位杂交图片; 探针 pla46 及 kst1275 为 Cy3 标记; 比例尺 10 μm

图3 厌氧氨氧化培养系 H&S 的 FISH 检测

Fig. 3 Fluorescence in situ hybridization of ANAMMOX enrichment cultures H and S with Cy3-labeled probes pla46 and Kst1275

污泥中的球形微生物既与探针 Pla46-Cy3 产生荧光 (图4 A), 也与探针 Kst1275-Cy3 产生荧光 (图4 B), 说明厌氧氨氧化污泥中的浮霉菌门微生物主要



1, 2&3: 位相差、原位杂交、DAPI 荧光图片; 探针 pla46 及 kst1275 为 Cy3 标记; 比例尺 10 μm

图 4 运行 2 a 厌氧氨氧化污泥 S 的 FISH 检测

Fig. 4 Fluorescence *in situ* hybridization of ANAMMOX sludge S with Cy3-labeled probes pla46 and Kst1275 after two years of operation

是厌氧氨氧化菌“*K. stuttgartiensis*”。选取 5 个代表视野, 计算 Pla46/DAPI 和 Kst1275/DAPI 的比值, 得出运行 2 a 后的污泥中浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”的丰度分别为 30% 和 24%。采取同样方法, 得出浮霉菌门微生物和“*K. stuttgartiensis*”在接种污泥反应器运行过程中的丰度变化。反应器经过 2 a 运行, 浮霉菌门微生物丰度由 16% 提高到 30% 左右; *K. stuttgartiensis* 由 11% 提高到 24% 左右(表 3)。该结果说明厌氧氨氧化反应器中浮霉菌门微生物主要是厌氧氨氧化菌, 反应器运行过程中 *K. stuttgartiensis* 一直是优势厌氧氨氧化菌。

表 3 FISH 法检测 S 接种污泥反应器运行过程中浮霉菌门微生物及“*K. stuttgartiensis*”的丰度变化

Table 3 Abundance variation of Planctomycetales microbes and <i>K. stuttgartiensis</i> in the original inoculum reactor S detected by FISH			
探针/检测微生物	目标微生物的丰度/%		
	第 1 a	第 2 a	第 3 a
Pla46/Planctomycetales	16	18	30
Kst1275/ <i>K. stuttgartiensis</i>	11	16	24

3 结论

(1) 以 2 种实验室运行的厌氧氨氧化污泥为分离源, 采用血清瓶微生物培养方法, 获得了 2 个稳定培养系, 传代频率为 1~2 个月, 氨氮去除率为 85% 左右。尝试了各种电子供体/电子受体、代谢中间产物及采用各种抗生素都无法获得厌氧氨氧化菌的纯菌株。但是厌氧氨氧化菌在稀释倍数 10^{-7} 仍然可以生长, 表明厌氧氨氧化菌在细胞浓度较低时也可以慢慢生长, 逐步提高活性。

(2) 16S rRNA 克隆解析及荧光原位杂交结果表

明 2 个培养系中的厌氧氨氧化菌与“*K. stuttgartiensis*”同源率为 99%。采用 FISH 法对接种污泥反应器运行过程中厌氧氨氧化菌的丰度变化进行了跟踪检测, 结果表明反应器经过 2 a 运行浮霉菌门微生物丰度由 16% 提高到 30%, “*K. stuttgartiensis*”由 11% 提高到 24%。该结果也证实了 *K. stuttgartiensis* 是污水处理系统中较常见的优势厌氧氨氧化菌。

致谢: 感谢清华大学环境科学与工程系王凯军教授、北京市环境科学院杜兵副研究员及北京排水集团张树军博士提供污泥、反应器运行参数及在整个实验过程中提供大力支持。

参考文献:

- [1] Mulder A, Van de Graaf A A, Robertson L A, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, **16**(3): 177-184.
- [2] 郝晓地, 汪慧贞, 钱易, 等. 欧洲城市污水处理技术新概念——可持续生物除磷脱氮工艺[J]. *给水排水*, 2002, **28**(6): 6-11.
- [3] Kuypers M M M, Olav Sliekers A, Lavik G, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea[J]. *Nature*, 2003, **422**(6932): 608-611.
- [4] Dalsgaard T, Thamdrup B, Canfield D E. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment[J]. *Research in Microbiology*, 2005, **156**(4): 457-464.
- [5] Schubert C J, Durisch K E, Wehrli B, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika)[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(10): 1857-1863.
- [6] Jaeschke A, Opden Camp H J M, Harhangi H, *et al.* 16S rRNA

- gene and lipid biomarker evidence for anaerobic ammonium-oxidizing bacteria (anammox) in California and Nevada hot springs[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **67**(3): 343-350.
- [7] Dalsgaard T, Canfield D E, Petersen J, *et al.* N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica[J]. *Nature*, 2003, **422**(6932): 606-608.
- [8] Kuypers M M M, Lavik G, Woebken D, *et al.* Massive nitrogen loss from the Benguela upwelling system through anaerobic ammonium oxidation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(18): 6478-6483.
- [9] Kuenen J G. Anammox bacteria: from discovery to application [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, **6**(4): 320-326.
- [10] Schmid M, Twachtman U, Klein M, *et al.* Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2000, **23**(1): 93-106.
- [11] Egli K, Fanger U, Alvarez P J, *et al.* Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate [J]. *Archives of Microbiology*, 2001, **175**(3): 198-207.
- [12] Pynaert K, Smets B F, Wyffels S, *et al.* Characterization of an autotrophic nitrogen-removing biofilm from a highly loaded lab-scale rotating biological contactor [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(6): 3626-3635.
- [13] Strous M, Jetten M S. Anaerobic oxidation of methane and ammonium[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2004, **58**(1): 99-117.
- [14] Op den Camp H J M, Kartal B, Guven D, *et al.* Global impact and application of the anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria[J]. *Biochemical Society Transaction*, 2006, **34**(1): 174-178.
- [15] Tal Y, Watts J E, Schreier H J. Anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and associated activity in fixed-film biofilters of a marine recirculating aquaculture system [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(4): 2896-2904.
- [16] Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, *et al.* Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. *Nature*, 1999, **400**(6743): 446-449.
- [17] Kuenen J G, Jetten M S M. Extraordinary anaerobic ammonium-oxidizing bacteria[J]. *American Society for Microbiology News*, 2001, **67**(9): 456-463.
- [18] Hu B L, Zheng P, Tang C J, *et al.* Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors[J]. *Water Research*, 2010, **44**(17): 5014-5020.
- [19] Jetten M S M, Strous M, Katinka T, *et al.* The anaerobic oxidation of ammonium[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, **22**(5): 421-437.
- [20] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al.* The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, **50**(5): 589-596.
- [21] 刘寅, 杜兵, 司亚安, 等. 厌氧氨氧化菌的培养与推流式反应器氨厌氧工艺[J]. *环境科学*, 2005, **26**(2): 137-141.
- [22] 孟凡能, 张树军, 吕鑑, 等. 混合污泥接种的厌氧氨氧化处理污泥脱水液的启动[J]. *中国环境科学*, 2009, **29**(3): 318-324.
- [23] Quan Z X, Rhee S K, Zuo J E, *et al.* Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(11): 3130-3139.
- [24] Sekiguchi Y, Kamagata Y, Syutsubo, *et al.* Phylogenetic diversity of mesophilic and thermophilic granular sludges determined by 16S rRNA gene analysis[J]. *Microbiology*, 1998, **144**(9): 2655-2665.
- [25] Neef A, Amann R, Schlesner H, *et al.* Monitoring a widespread bacterial group: in situ detection of planctomycetes with 16S rRNA-targeted probes [J]. *Microbiology*, 1998, **144**(12): 3257-3266.
- [26] Hirsch P, Muller M. *Planctomyces limnophilus* sp. nov., a stalked and budding bacterium from freshwater[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1985, **6**(3): 276-280.
- [27] Fukunaga Y, Kurahashi M, Sakiyama Y, *et al.* *Phycisphaera mikurensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a marine alga, and proposal of *Phycisphaeraeaceae* fam. nov., *Phycisphaerales* ord. nov. and *Phycisphaerae* classis nov. in the phylum *Planctomycetes* [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2009, **55**(4): 267-275.

CONTENTS

CH ₄ Concentrations and the Variation Characteristics at the Four WMO/GAW Background Stations in China	FANG Shuang-xi, ZHOU Ling-xi, XU Lin, <i>et al.</i> (2917)
Characteristics of Stable Isotopes in Precipitation over Northeast China and Its Water Vapor Sources	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, MA Qian, <i>et al.</i> (2924)
Study on Air Quality and Pollution Meteorology Conditions of Guangzhou During the 2010 Asian Games	LI Ting-yuan, DENG Xue-jiao, FAN Shao-jia, <i>et al.</i> (2932)
Characteristics and Sources of PM ₁₀ -bound PAHs During Haze Period in Winter-Spring of Xiamen	QIAN Ran-ran, YAN Jing-ming, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (2939)
Improvement and Application of the Method for Determination of OCEC Split	WANG Li-hua, DONG Hua-bin, YAN Cai-qing, <i>et al.</i> (2946)
Characteristics of Mercury Pollution in Soil and Atmosphere in Songhua River Upstream Jia-pi-gou Gold Mining Area	ZHANG Gang, WANG Ning, WANG Yuan, <i>et al.</i> (2953)
Pollution Characteristics and Health Assessment of Particulate Mercury in Hebei Rural Households	ZHAO Ya-juan, GONG Wei-wei, LUAN Sheng-ji (2960)
Composition and Characteristics of Volatile Organic Chemicals Emission from Printed Circuit Board Factories	MA Ying-ge (2967)
Preliminary Study Concerning Emissions of the Volatile Organic Compounds from Cooking Oils	HE Wan-qing, TIAN Gang, NIE Lei, <i>et al.</i> (2973)
Characteristics of Biofilm Phase During the Long-term Degradation of a Toluene-contaminated Gas Stream Using BTF	HU Jun, ZHENG Jiang-ling, WU Yue-xin, <i>et al.</i> (2979)
Performance of Cross Flow Trickling Filter for H ₂ S Gas Treatment	LIU Chun-jing, LI Jian, LIU Jia, <i>et al.</i> (2987)
Study on Mercury Re-emissions During Fly Ash Utilization	MENG Yang, WANG Shu-xiao (2993)
Construction of Semi-analytical Model for Inversing Total Suspended Matter in Lake Taihu and Chaohu and Assessment of Its Applicability	LIU Zhong-hua, LI Yun-mei, TAN Jing, <i>et al.</i> (3000)
Association Study Between Water Quality of Chaohu Lake and Resources Input in Agriculture of Basin	ZHANG Yan, GAO Xiang, ZHANG Hong (3009)
Sediment and Pore Water Nutrient Characteristics in Growing Zones of <i>Alternanthera philoxeroides</i> in the Shiwuli River, Chaohu Lake	LI Ru-zhong, LI Feng, ZHOU Ai-jia (3014)
Enrichment Characteristic of Phosphorus in Surface and Core Sediments of Chaohu Lake and the Pollution Quantification	LIU En-feng, DU Chen-chang, YANG Xiang-dong, <i>et al.</i> (3024)
Spatial Distribution Characteristics and Correlation Analysis of Organic Matter, Total Nitrogen and Total Phosphorus in Topsoil Around Chaohu Lake	CHEN Shu-qin, CHU Zhao-sheng, HU She-rong, <i>et al.</i> (3031)
Dynamic Characteristics of Nitrogen and Phosphorus in the Representative Input Tributaries of Danjiangkou Reservoir	LEI Pei, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing (3038)
Effects of Thermal Stratification on Spring Blooms in Xiangxi Bay of the Three Gorges Reservoir	LIU Liu, LIU De-fu, XIAO Shang-bin, <i>et al.</i> (3046)
Explore the Spatial and Temporal Patterns of Water Pollution in the Yincungang Canal of the Lake Taihu Basin, China	YANG Xiao-ying, LUO Xing-zhang, ZHENG Zheng, <i>et al.</i> (3051)
Analysis on the Forms and Release Potential of Nutrients in Sediments from Lakes in the West Jiangsu Province	LIU Tao, HU Zhi-xin, YANG Liu-yan, <i>et al.</i> (3057)
Spatial Distribution and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Surface Sediments from Western Lakeside Belt of Lake Taihu	GAN Shu, LU Shao-yong, QIN Pu-feng, <i>et al.</i> (3064)
Source Apportionment of Nitrogen and Phosphorus from Cropping Non-point Source Pollution in Nansi Lake Basin	LIU Jing, LU Feng, YANG Yan-zhao, <i>et al.</i> (3070)
Relationship Between Dissolved Organic Carbon and DBP in the Pearl River Water	HE Hong-wei, ZHOU Da-cheng, WANG Bao-qiang, <i>et al.</i> (3076)
Health Risk Assessment of Heavy Metals in Typical Township Water Sources in Dongjiang River Basin	WANG Ruo-shi, XU Qiu-jin, ZHANG Xian, <i>et al.</i> (3083)
Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments of Maozhou River, Shenzhen	SUN Jian-lin, NI Hong-gang, DING Chao, <i>et al.</i> (3089)
Distribution Patterns of Heavy Metals in Surficial Sediment and Their Influence on the Environment Quality of the Intertidal Flat of Luoyuan Bay, Fujian Coast	GAO Wen-hua, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (3097)
Study on the Changes of Macrobenthos Communities and Their Causes in Bohai Bay	CAI Wen-qian, LIU Lu-san, QIAO Fei, <i>et al.</i> (3104)
Construction of Groundwater Contamination Prevention Mapping System	WANG Jun-jie, HE Jiang-tao, LU Yan, <i>et al.</i> (3110)
Uncertainty Analysis of Groundwater Protection and Control Zoning in Beijing Plain	LU Yan, HE Jiang-tao, WANG Jun-jie, <i>et al.</i> (3117)
Nitrate Storage and Transport Within a Typical Karst Aquifer System in the Paralleled Ridge-valley of East Sichuan	YANG Ping-heng, YUAN Dao-xian, REN You-rong, <i>et al.</i> (3124)
Adsorption of Perfluorooctanesulfonate (PFOS) onto Modified Activated Carbons	TONG Xi-zhen, SHI Bao-you, XIE Yue, <i>et al.</i> (3132)
Investigation of the Oxidation Reaction of O ₃ with Bromide Ion in Aqueous Solution	YU Xiao-ting, ZHANG Jia-hui, PAN Xun-xi, <i>et al.</i> (3139)
Determination of the Distribution of Relative Molecular Mass of Organic Matter by High Pressure Size Exclusion Chromatography with UV and TOC Detectors	ZHANG Han, DONG Bing-zhi (3144)
Black Water Bloom Induced by Different Types of Organic Matters and Forming Mechanisms of Major Odorous Compounds	LU Xin, FENG Zi-yan, SHANG Jing-ge, <i>et al.</i> (3152)
Effect of Fe and Fe/Ni Nanoparticles on the Biodegradation of Phenol by BFN at Different pH Values	KUANG Ye, ZHOU Yan, WANG Qing-ping, <i>et al.</i> (3160)
Pretreatment of High-Concentration Acrylic Acid Wastewater by the Multi-Stage Microaerobic Biological Fluidized Bed Reactor	LI Sha, ZHENG Sheng-zhi, SONG Yu-dong, <i>et al.</i> (3167)
Denitrification on Secondary Effluent of Acrylic Fiber Wastewater by Tri-Stage Biofilm Advanced Reactor	XU Shao-yang, JIANG Jin-yuan, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (3172)
Dynamic Adsorption of Cadmium (II) in Water on Modified Peanut Shells	LONG Teng, YI Xiao-yun, DANG Zhi (3177)
Adsorption Properties of Thiocyanate Anion on Granular Mg/Al Mixed Oxides	WANG Xiu-juan, WANG Hai-zeng, SUN Bao-wei, <i>et al.</i> (3182)
Model of Regularity of Ammonia Transformation Along Marine Biological Aerated Filter	LUO Rong-qiang, HOU Sha-sha, SHEN Jia-zheng, <i>et al.</i> (3189)
Aerobic Granular Sludge Bulking Due to the Lack of Nutrient and Its Recovery	ZHANG Zhu, GAO Da-wen, YUAN Xiang-juan, <i>et al.</i> (3197)
Enhanced Hydrolysis of Waste Activated Sludge by Biosurfactant	YI Xin, LUO Kun, YANG Qi, <i>et al.</i> (3202)
Enrichment and Identification of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria	LIU Dong-ying, QIU Yan-ling, YUAN Xian-zheng, <i>et al.</i> (3208)
Isolation, Identification and Characterization of an Atrazine Degrading Bacterium	LI Shao-feng, ZHU Jing, LI Tie-jing (3214)
Isolation, Identification and Enzymological Characterization of a New Fungal with High Laccase Production from Agricultural Waste Composting	REN Xiu-juan, FAN Chang-zheng, LU Lun-hui, <i>et al.</i> (3220)
Screening and Identification of Microorganisms for Decolorization of Molasses Spent Wash	LI Bi-jin, LIU You-yan, HE Kai, <i>et al.</i> (3228)
Analysis of Microbial Community Structure in Lactic Acid Fermentation from Kitchen Waste	LIU Jian-guo, WANG Qun-hui, WANG Shuang, <i>et al.</i> (3236)
Effect of Covalent Functionalization on DNA Cleavage Activity and ROS Formation of Single-Walled Carbon Nanotubes	WU Ren-ren, TAO Xue-Qin, DANG Zhi, <i>et al.</i> (3241)
Research on Mercury Methylation by <i>Geobacter sulfurreducens</i> and Its Influencing Factors	ZOU Yan, SI You-bin, YAN Xue, <i>et al.</i> (3247)
Uptake Effect of Cd and Pb by Rape Under Single Cd/Pb and Cd-Pb Combined Stress	WU Wen-fei, NAN Zhong-ren, WANG Sheng-li, <i>et al.</i> (3253)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in Farming Domestic Muscovy Duck Originated from Au/Cu Mining and Smelting Activities	HANG Xiao-shuai, LIANG Bin, WANG Wen-lin, <i>et al.</i> (3261)
Effects of the Environmental Hormone Cypermethrin on the Reproduction of <i>Brachionus calyciflorus</i>	DONG Xue-xing, YANG Jia-xin, LÜ Lin-lan, <i>et al.</i> (3266)
Research on Anti-Corrosion of <i>Thiobacillus</i> for the Geopolymer Solidification MSWI Fly Ash	JIN Man-tong, SUN Xin, DONG Hai-li, <i>et al.</i> (3272)
Chlorination Transformation and Volatilization of Heavy Metals in Fly Ash from the Incineration During the Disposal Process with Higher Temperature	LIU Jing-yong, SUN Shui-yu (3279)
Study on Greenhouse Gas Emissions from Urban Waste Disposal System; A Case Study in Xiamen	YU Yang, CUI Sheng-hui, LIN Jian-yi, <i>et al.</i> (3288)
Fate Analysis of NPEOs and Their Metabolites in Municipal Wastewater Plants	LIAN Jing, LIU Jun-xin (3295)

《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9月15日 33卷 第9期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol.33 No.9 Sep. 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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人