

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

16 届亚运会期间广州城区 PM _{2.5} 化学组分特征及其对霾天气的影响	陶俊, 柴发合, 高健, 曹军骥, 刘随心, 张仁健 (409)
北京地区秋季雾霾天 PM _{2.5} 污染与气溶胶光学特征分析	赵秀娟, 蒲维维, 孟伟, 马志强, 董璠, 何迪 (416)
上海市秋季大气 VOCs 对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究	王倩, 陈长虹, 王红丽, 周敏, 楼晟荣, 乔利平, 黄成, 李莉, 苏雷燕, 牟莹莹, 陈宜然, 陈明华 (424)
杭州市大气超细颗粒物浓度谱季节性特征	谢小芳, 孙在, 付志民, 杨文俊, 林建忠 (434)
保定市大气气溶胶中正构烷烃的污染水平及来源识别	李杏茹, 杜熙强, 王英锋, 王跃思 (441)
春节期间西安城区碳气溶胶污染特征研究	周变红, 张承中, 王格慧 (448)
华东区域高山背景点 PM ₁₀ 和 PM _{2.5} 背景值及污染特征	苏彬彬, 刘心东, 陶俊 (455)
基于电子鼻土壤与地下水污染修复现场 TVOC 和恶臭的评估	田秀英, 蔡强, 刘锐, 张永明 (462)
积融雪控制下土壤大气间汞交换通量特征	张刚, 王宁, 艾建超, 张蕾, 杨净, 刘子琪 (468)
靖海湾重金属污染及铅稳定同位素溯源研究	徐林波, 高勤峰, 董双林, 刘佳, 傅秀娟 (476)
正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究	欧杰, 王延华, 杨浩, 胡建芳, 陈霞, 邹军, 谢云 (484)
干旱区城市昌吉降雪及积雪中 PGEs 含量分布及其影响因素	刘玉燕, 刘浩峰, 张兰 (494)
降尘收集方法对降尘效率的影响	张正偲, 董治宝 (499)
海河流域水生生态功能一级二级分区	孙然好, 汲玉河, 尚林源, 张海萍, 陈利顶 (509)
长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究	时志强, 张运林, 王明珠, 刘笑茵 (517)
内陆水体叶绿素反演模型普适性及其影响因素研究	黄昌春, 李云梅, 徐良将, 杨浩, 吕恒, 陈霞, 王延华 (525)
溶氧对富集培养的河口湿地表层沉积物氨氧化菌多样性及氨氧化速率的影响	邱昭政, 罗专溪, 赵艳玲, 颜昌宙 (532)
自然条件下盐城海滨湿地土壤水分/盐度空间分异及其与植被关系研究	张华兵, 刘红玉, 李玉凤, 安静, 薛星宇, 侯明行 (540)
淮河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制	周亮, 徐建刚, 孙东琪, 倪天华 (547)
高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征	崔玉洁, 刘德富, 宋林旭, 陈玲, 肖尚斌, 向坤, 张涛 (555)
城市雨水径流水质演变过程监测与分析	董雯, 李怀恩, 李家科 (561)
复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果	任峰, 陆忆夏, 刘琴, 汤杨杨, 王世和, 高海鹰, 乔红杰, 王为进 (570)
给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究	郑琦, 陈超, 张晓健, 陆品品, 刘源源, 陈雨乔 (576)
1 株溶藻菌的部分生物学特性及溶鱼腥藻作用	李三华, 张奇亚 (583)
水生植物热解生物油中对肋骨藻抗氧化酶活性的影响	姚远, 李锋民, 李媛媛, 单时, 李杰, 王震宇 (589)
TiO ₂ 光催化联合技术降解苯酚机制及动力学	张轶, 黄若男, 王晓敏, 王齐, 丛燕青 (596)
皮革废水有机污染物生物降解特性研究	王勇, 李伟光, 杨力, 宿程远 (604)
链霉菌 FX645 对偶氮染料红 AR30 的降解机制研究	谢练武, 方继前, 郭亚平 (611)
一种负载型生物载体的制备及性能研究	杨基先, 曾红云, 周义, 邱珊, 马放, 王蕾, 肖大伟 (616)
基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻 (<i>Chlorella pyrenoidosa</i>) 培养研究	嵇雯雯, 夏会龙, 方治国, 刘惠君 (622)
温和热处理对低有机质污泥厌氧消化性能的影响	陈汉龙, 严媛媛, 何群彪, 戴晓虎, 周琪 (629)
天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放 CH ₄ 的影响	姚敦璠, 陈天虎, 王进, 周飞跃, 岳正波 (635)
蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征	青宪, 韩静磊, 温炎桑 (642)
基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究	钟茂生, 姜林, 姚珏君, 夏天翔, 朱笑盈, 韩丹, 张丽娜 (647)
区域地下水污染风险评价方法研究	杨彦, 于云江, 王宗庆, 李定龙, 孙宏伟 (653)
地下水有机污染源识别技术体系研究与示范	王晓红, 魏加华, 成志能, 刘培斌, 纪轶群, 张干 (662)
祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究	朱凌宇, 潘剑君, 张威 (668)
黑土有机碳、氮及其活性对长期施肥的响应	骆坤, 胡荣桂, 张文菊, 周宝库, 徐明岗, 张敬业, 夏平 (676)
根茬连续还田对镉污染农田土壤中镉赋存形态和生物有效性的影响	张晶, 于玲玲, 辛木贞, 苏德纯 (685)
长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究	罗璐, 周萍, 童成立, 石辉, 吴金水, 黄铁平 (692)
外源 Cr(Ⅲ) 在我国 22 种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究	郑顺安, 郑向群, 李晓辰, 刘书田, 姚秀荣 (698)
某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征	潘峰, 王利利, 赵浩, 尤奇中, 刘林 (705)
大型炼锌厂周边土壤及蔬菜的汞污染评价及来源分析	刘芳, 王书肖, 吴清茹, 林海 (712)
天津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征	姚丹, 张鸿, 柴之芳, 沈金灿, 杨波, 王艳萍, 刘国卿 (718)
沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚 A 的测定	吴唯, 史江红, 陈庆彩, 张晖, 刘晓薇 (724)
动物饲料中砷、铜和锌调查及分析	姚丽贤, 黄连喜, 蒋宗勇, 何兆桓, 周昌敏, 李国良 (732)
氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究	王点点, 宋宁慧, 吴文铸, 由宗政, 何健, 石利利 (740)
2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性	倪雪, 刘娟, 高彦征, 朱雪竹, 孙凯 (746)
嗜盐拟香味菌 Y6 降解硝基苯的特性研究	厉阗, 钱坤, 肖伟, 王进军, 邓新平 (753)
固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响	唐阔, 马安周, 于清, 邓雪梅, 吕迪, 庄国强 (760)
16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性	刘卫国, 梁存珍, 杨金生, 王桂萍, 刘苗苗 (767)
氨氮浓度对 CANON 工艺功能微生物丰度和群落结构的影响	刘涛, 李冬, 曾辉平, 畅晓燕, 张杰 (773)
筒青霉 (<i>Penicillium simplicissimum</i>) 对木质纤维素的降解及相关酶活性特征	沈莹, 胡天觉, 曾光明, 黄丹莲, 尹璐, 刘杨, 吴娟娟, 刘晖 (781)
石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究	杨萌青, 李立明, 李川, 李广贺 (789)
土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响	王桂珍, 李兆君, 张树清, 马晓彤, 梁永超 (795)
生活垃圾填埋过程含水率变化研究	李睿, 刘建国, 薛玉伟, 张媛媛, 岳东北, 聂永丰 (804)
动物消化机制用于木质纤维素的厌氧消化	吴昊, 张盼月, 郭建斌, 吴永杰 (810)

石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究

杨萌青¹, 李立明¹, 李川¹, 李广贺^{1, 2*}

(1. 清华大学环境学院, 北京 100084; 2. 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 针对污染胁迫下土壤微生物群落结构与分布问题, 基于 PCR-DGGE 分析与系统发育树等现代分子生物学分析方法, 探讨典型油田区石油污染土壤微生物群落结构特征, 污染水平与微生物群落分布的关系。结果表明, 污染土壤石油含量的差异是造成微生物群落结构相似度差异的主要因素; 微生物群落结构相似性指数与土壤石油污染水平具有显著相关性; 随着土壤污染程度的增加, 微生物群落的均匀度指数降低, 菌属分布不均匀, 表现出土壤微生物群落结构和种属的污染胁迫与分异现象; 石油污染土壤中存在明显的优势菌属: *Gulosibacter*、*Halomonas*、*Petrobacter*、*Methylocystis*、*Pseudoalteromonas*。本研究结果为认识石油污染土壤微生物特性提供基础。

关键词: PCR-DGGE; 系统发育树; 石油污染水平; 微生物群落结构; 优势菌属

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)02-0789-06

Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil

YANG Meng-qing¹, LI Li-ming¹, LI Chuan¹, LI Guang-he^{1, 2}

(1. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Beijing 100084, China)

Abstract: Molecular biology methods such as PCR-DGGE combined with phylogenetic analysis were used for the soil microbial community structure and distribution profiling. Relationship of microbial community structure and distribution differed in a typical oil contaminated field was studied. Results showed that soil oil content was the main factor to the difference of microbial community structure similarity. The similarity index of microbial community structure and oil content had a significantly negative correlation. The contaminated soil microorganism genus had an uneven distribution. Thus, soil pollution had obvious stress and differentiation for microbial community structure and species relationship. Dominant species in oil contaminated soil were identified as *Gulosibacter*, *Halomonas*, *Petrobacter*, *Methylocystis*, and *Pseudoalteromonas*. The findings provide a basis for understanding the microbial characteristics of oil contaminated soil.

Key words: PCR-DGGE; phylogenetic tree; oil pollution levels; microbial community structure; dominant species

自然状态下, 土壤微生物群落结构保持较高的稳定性。污染环境, 由于微生态环境变化与污染胁迫作用, 土壤微生物代谢过程、微生物群落结构发生改变。已有研究表明, 土壤微生物群落对石油污染响应灵敏, 污染胁迫有助于改变土壤微生物群落结构, 形成较为适应污染土壤环境的优势菌群^[1~3]。

针对微生物群落结构与污染之间的响应关系, 由于微生物类别的测定技术和方法的限制, 难以准确、可靠地识别现场微生物群落结构^[4,5], 成为关系分析的限制性因素。传统的平板培养方法仅仅能分离出土壤微生物总数的 0.11% ~ 1%^[6] 的类别与数量, 大部分的微生物难以通过传统培养方法分离与识别, 因此所获取的微生物信息不能真实反映微生物原始生存状态。通过 DNA 提取的现代生物技术能够较为真实地得到微生物群落结构的信息^[7], 关键在于能否高质量地提取和纯化 DNA; 微生物群落结构与微生态环境密切相关, 在较大的时间尺度

上, 微生态环境的变化, 导致微生物群落结构随之发生改变^[8]。已有研究表明, 石油污染将降低土壤微生物的多样性, 使微生物群落结构发生变化^[9~12]。海洋沿岸石油污染土壤的微生物群落结构表现出差异性^[13]。

由此可见, 土壤石油污染与微生物群落结构的关系成为功能微生物资源开发与微生物群落分布方面关注的重点。基于此, 本研究利用现代分子生物学技术, 通过对典型油田石油开采区不同污染水平土壤微生物群落结构变化和差异性的调查与分析, 探讨石油污染与土壤微生物群落结构的关系, 识别主要微生物功能类群, 有助于理解和认识石油污染对

收稿日期: 2012-05-07; 修订日期: 2012-07-12

基金项目: 环境保护公益性行业科研专项(201009016); 国家科技支撑计划项目(2008BAC43B01)

作者简介: 杨萌青(1989~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为地下水与土壤, E-mail: ymqing1989@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: ligh@tsinghua.edu.cn

微生物生态环境的影响作用和意义。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集与分析

胜利油田地处山东北部渤海之滨的黄河三角洲地带,主要为盐碱地。为了研究不同石油污染水平下微生物群落结构的分布特性,根据土壤标准采样法,选择胜利油田面积为 1 km² 的典型开采区采集土样,共 3 组土壤,7 个土壤样品。分别代表不同污染水平和采样条件,具体为:第一组土样为在不同油井 SL-1、SL-2、SL-3 进行分散式采样(编号为 5、6、7 号);第二组分别在油井 SL-4 污染半径 5、20、50 m 的周边进行采样(编号 4、3、2 号);同时采集油田区耕地土壤 GD 作为未污染的背景样品(编号为 1 号)。采集的土壤保存在 -80℃ 低温冰箱中供使用。

1.2 土壤微生物群落结构分析方法

微生物群落结构的研究方法包括微生物总 DNA 的提取、16S rDNA 的 PCR 扩增、16S rDNA 片段 DGGE 分析方法、微生物的系统发育树分析这 4 个部分。

利用试剂盒 The FastDNA[®] SPIN Kit for Soil 并配合 FastPrep[®] 系统(MPbio)完成土壤总 DNA 的提取^[14]。利用 Nardrop 仪器检测 DNA 的浓度与质量。利用琼脂糖凝胶电泳对 DNA 提取物进行检验,并与相应 Marker 比较,检验提取是否成功。据对 3 组 7 个土样进行 DNA 提纯,50% 以上的样品提取的 DNA 浓度在 100 ng·μL⁻¹ 以上,90% 土样 DNA 波长 260/280 值达到 1.8 以上^[15],为 PCR 扩增提供基础。利用琼脂糖电泳实验检验提取 DNA 的完整性,通过 λDNA/Hind III Marker 判断电泳效果与 DNA 的长度。结果表明,提取的总 DNA 片段大小在 20 000 bp 左右。

利用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)对提取的总 DNA 进行 16S rRNA 基因的扩增。PCR 操作步骤主要为:首先是预变性(predenaturation),温度一般为 94 ~ 95℃,然后是 20 ~ 30 次的循环复制。复制包括变性、退火、延展。根据提取的目标 DNA 片段大小,试用了 3 对不同引物^[16~18],分别为 357f-518r、GC357f-518r 和 341f-518r。引物具体信息见表 1。通过对不同引物对的 PCR 程序的温度进行调整,341f-518r 为适合本研究的 PCR 引物,以此确定反应程序为预变性 300 s,变性 94℃ 60 s,复性 64℃ 60 s,延伸 72℃ 60 s,25 个循环,最后 72℃ 延伸 600 s 的 PCR 反应体系。

根据所确定的 PCR 体系与适合的引物和程序,进行 16S rDNA 的 PCR 扩增。采用的 DL2000 DNA Marker,PCR 电泳图谱显示为一行整齐的条带,杂带少,非特异性扩增多,长度在 100 ~ 250 bp 之间,得到了理论 PCR 产物(177 bp)。结果表明,PCR 产物质量好,获得了预期长度的 DNA 片段,特异性很好,可以进一步用于后续变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析。

表 1 引物信息

Table 1 Primer information

引物名称	序列(5'-3')	退火区域
357f	CCT ACG GGA GGC AGC AG	341 ~ 357
518r	ATT ACC GCG GCT GCT GG	518 ~ 534
341f	CCT ACG GGA GGC AGC AG	341 ~ 357
GC 夹	CGCCGCGCGCGCGCGCGGGCG GGGCGGGGACGCGGGGG	

采用 BIO-RAD 公司提供的 DGGE 系统,利用 30% ~ 70% 的变性剂梯度对 11 个 PCR 样品进行 DGGE 分离^[16,17]。通过对 DGGE 图谱的均匀度指数(EI)、相似性指数的计算,能够得出土壤微生物群落结构,并对不同石油污染程度下微生物群落结构的差异性进行对比,从而初步判断不同石油污染程度对微生物群落结构的影响^[19~21]。利用 Quantity One 软件对图谱进行信息分析,相似性指数直接由软件算出。均匀度指数由 Quantity One 软件读出来的条带亮度信息进行处理后算得^[22,23]。

将 DGGE 凝胶中的特征条带切割下来进行 DNA 溶出和 PCR 扩增实验。用琼脂糖电泳检验特征条带 DNA 的 PCR 扩增结果,扩增出单一的目标 DNA 亮带后,将 PCR 产物送往北京诺赛基因测序公司测序。利用 Chromas 软件对测序结果中的 ABI 图谱文件进行分析,筛选测序结果,判断出用于系统发育树绘制所需的目标序列片段。将筛选出来的目标序列通过 NCBI 核酸数据库进行比对,利用 MEGA3.1 软件构建污染土壤微生物的系统发育树^[24,25]。

2 结果与讨论

2.1 土壤石油污染特征分析

基于传统索氏抽提法^[26,27],结合超声波萃取,以超声波加索氏抽提法对土壤含油量进行测定。具体步骤如下。

(1)称取适量污染土壤,加入适量无水硫酸镁,脱水。

(2)将混合物放入锥形瓶中,加入适量氯仿,用膜封住锥形瓶口,防止氯仿挥发,超声振荡 30 min.

(3)将物质经中速滤纸转移至索氏抽提器,再加以适量新鲜氯仿,75℃下水浴,抽提数小时.抽提时间以抽提筒中氯仿至无色为准,本实验中抽提过夜.

(4)将滤纸取出,将抽提筒中的氯仿倒入抽提瓶,70℃~75℃水浴加热回收氯仿,将残留液挥发尽氯仿,称重.

(5)同时称油污土 2~3 g,在 105℃烘箱内烘干 4 h,计算土样含水率.

土壤含油量按下式计算:

$$\text{含油率} = m_{\text{油}} \times \frac{1 + \text{含水率}}{m_{\text{湿土}}} \times 100\%$$

式中,土壤含油率以干土为基准进行计算; $m_{\text{油}}$ 为石油质量(mg); $m_{\text{湿土}}$ 为湿土质量(kg).

土壤样品含油率结果如表 2 所示.最高含油率高达 21.89% (5 号土样),最低含油率为 0.02~0.04% (1 号和 2 号土样).第一组土样是在 3 个不同油井附近采集,土壤含油率相差较大.每组土样的含油率都呈现明显的梯度,是在不同的石油污染水平下的土样.其中第二组土样为同一口油井不同污染距离的土样,可以看到,随着污染距离的增加,土样含油率呈现数量级降低的趋势,重污染半径主要在 5 m 以内,污染辐射范围约 50 m.

表 2 土样含油率¹⁾

Table 2 Oil content rates of soil samples

分组	土壤样品号	井号	含油率/%
第一组	5	SL-1	21.89
	6	SL-2	0.39
	7	SL-3	0.10
第二组	4	SL-4 (R=5)	1.54
	3	SL-4 (R=20)	0.31
	2	SL-4 (R=50)	0.02
第三组	1	GD	0.04

1) R 为取样点距石油开采井的距离(m),下同

2.2 微生物群落结构相似性与石油污染的关系分析

对采集的 7 个不同石油污染水平土样的微生物进行变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析,其图谱见图 1 所示.其中泳道编号即为相应的土壤样品号.

由图 1 可见,7 个不同污染程度的土壤样品经过变性梯度凝胶电泳的分离,可以得到数量不等的电泳条带,每个条带的亮度和迁移率具有差别.根据变性梯度凝胶电泳对 DNA 片段的分离原理,7 个土壤样品微生物 DNA 的 PCR 产物中含有片段大小相

等但是碱基组成不同的 DNA 片段.因为选取的扩增引物为 V3 区引物,因此推断它们是某些微生物的 16S rDNA 基因对应的 V3 区 DNA 片段^[28~31].每种土样的 DNA 片段在 DGGE 图谱上的位置不同,说明不同石油污染情况下微生物群落结构存在明显差异.将这些 DNA 片段进行测序,并输入 NCBI 核酸数据库进行比对,根据比对结果分析这些被 DGGE 分离的 DNA 片段所代表的微生物的种属关系.对比石油污染土样(2、3、4、5、6、7 号)和未污染土样(1 号),污染土壤与未污染土样均存在部分各自独有的 DGGE 条带,表现出石油污染土壤存在优势群落.重污染土壤(5 号土样)与轻微污染土壤(6 号和 7 号土样)微生物表现出各自群落特征,表现出不同程度石油污染土壤存在微生物群落结构的差异性.同样,第二组(4、3、2 号)这两组土样的电泳结果也出现了相同的结果,重污染土壤(4 号土样)与轻微污染土壤(3 号和 2 号土样)微生物也表现出各自群落特征,表现出不同程度石油污染土壤存在微生物群落结构的差异性.重污染土壤(5 号和 4 号土样)存在一些轻微污染土壤(6、7、3、2 号土样)没有的 DNA 片段.这些片段很有可能就是在石油污染的情况下土壤中出现的优势微生物,将这些 DNA 片段进行测序就可以确定石油污染土壤中的优势菌属.



图 1 不同污染水平土壤样品微生物 DGGE 图谱

Fig. 1 DGGE profile of microorganism in different pollution levels soil

利用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱进行信息分析,分别计算得到均匀度指数 EI 与相似性指数^[32],其结果见表 3、表 4 所示.

表3 DGGE 图谱对应土样微生物均匀度指数(EI)

Table 3 DGGE profile corresponding soil sample microbial evenness indexes(EI)				
分组	土壤样品号	井号	含油率 /%	均匀度指数 (EI)
第一组	5	SL-1	21.89	0.788 6
	6	SL-2	0.39	0.879 8
	7	SL-3	0.10	0.970 1
第二组	4	SL-4(R=5)	1.54	0.838 0
	3	SL-4(R=20)	0.31	0.908 8
	2	SL-4(R=50)	0.02	0.829 3
第三组	1	GD	0.04	0.927 7

表4 DGGE 图谱相似性指数

Table 4 DGGE profiles similarity indexes							
	1	2	3	4	5	6	7
1	100.0	48.6	64.7	17.5	69.6	63.4	24.4
2		100.0	77.0	24.7	70.7	78.8	29.3
3			100.0	31.2	93.2	96.1	37.6
4				100.0	27.2	29.5	32.1
5					100.0	91.4	40.0
6						100.0	37.0
7							100.0

土样的微生物均匀度最小,分别为0.788 6、0.838 0,表明石油污染土壤中出现了优势菌属^[33]。

由表4的微生物相似性指数分析结果,SL-4油井周边的土壤样品油含量变化,表现出采样点逐渐向井场周边扩展,土样含油率下降,土样之间的微生物相似性指数减少。离油井50 m的土样与离油井20 m的土样的相似性指数高达77.0,但是离油井最远的轻污染土样2号与离油井最近的重污染土样4号的相似性指数只有24.7;土样5、6、7号也表现出类似规律。反映出随着石油污染程度差异性的增大,相似性指数变小,微生物群落结构差异明显。

2.3 土壤微生物种属与石油污染的关系分析

(1) 优势菌属识别

表5 优势菌属识别

Table 5 Dominant species identification			
土壤样品(含油率/%)	最相似已知菌株(GenBank ID)	相似度/%	所属的纲
5(21.89)	<i>Gulosibacter</i> sp. (321176080)	92	Actinobacteridae
5(21.89)	<i>Petrobacter</i> sp. (298162830)	91	beta-Proteobacteria
6(0.39)	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. (111075538)	86	gamma-Proteobacteria
7(1.54)	<i>Halomonas</i> sp. (281398236)	93	gamma-Proteobacteria
4(1.54)	<i>Methylocystis</i> sp. (281429947)	87	alpha-Proteobacteria

(2) 土壤石油含量与微生物种属关系分析

为了进一步了解土壤石油含量与微生物种属关系,利用系统发育树的分析方法,选择含油率分别为21.89%、0.39%、0.10%的3个土样(5、6、7号)和未污染土样(1号)进行微生物的种属关系分析。

均匀性是指同一 DGGE 凝胶泳道上所有条带的整体亮度分布情况,因此,均匀度指数的高低反映菌种分布均匀程度及优势菌属存在与否。由表3的均匀度指数可知,与污染土壤相比,未污染土样(1号)的均匀度指数为0.927 7,表明未污染土壤微生物群落的菌属分布较平均,不存在明显优势的菌属。石油含量相近的 SL-2(6号)和 SL-4(3号)的土样,其含油率分别为0.39%和0.31%,均匀度指数非常接近,表现出污染水平相近的土样的微生物群落的菌属的均匀度一致。石油污染最严重的5号和4号

基于测序结果,利用 Chromas 软件对图谱进行分析,筛选出可信片段,并利用 NCBI 核酸数据库进行分析,确定优势菌属。优势菌属识别结果见表5所示。

由表5可见,油污土壤微生物群落中优势菌属主要有5种:*Gulosibacter*、*Halomonas*、*Petrobacter*、*Methylocystis*、*Pseudoalteromonas*。其中 *Halomonas* 为盐单胞菌属,适于胜利油田开采区的盐碱土壤特征。*Methylocystis* 为甲烷降解菌属,具有降解石油烃类物质的特性;*Pseudoalteromonas* 为单胞菌属,有研究表明,假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)是含油废水降解石油烃的优势菌属^[34]。Wang 等^[35]也从胜利油田受原油污染的盐碱土壤中分离出了 *Halomonas* 菌属。

该系统发育树表示了5号土样的3种微生物、6号土样的2种微生物、7号土样的2种微生物、1号土样的1种微生物与 NCBI 核酸数据库中比对得到的菌属的关系。种属关系分析结果见图2所示。结果表明,含油率为21.89%的重污染土样(5号土样)包

含的 3 个 DGGE 条带分别代表微生物 5-①、5-②、5-③,这 3 种微生物在系统发育树中为一个小分支,属于一类微生物,说明污染程度重的土壤微生物种属关系较近,并且与 *Gulosibacter* 的种属关系明显.前文中对石油污染土壤优势菌属识别结果表明 *Gulosibacter* 为优势菌属.发育树中 *Pseudoalteromonas* 和 *Gamma proteobacteria* 归为另外小分支, Wang 等^[35]对从胜利油田受原油污染的盐碱土壤中分离

出的 *Halomonas* 菌属进行种属分析表明, *Halomonas* 从属于 *Gamma proteobacteria*,验证了石油污染土壤中优势菌属 *Halomonas* 和 *Pseudoalteromonas* 的种属关系近^[32].图 2 中重污染土壤与轻污染土壤微生物被系统发育树很明显分开为两支,表明石油污染水平较高的土壤微生物群落结构与未污染或轻微污染的土壤微生物群落结构之间具有差异性,种属关系不明显.

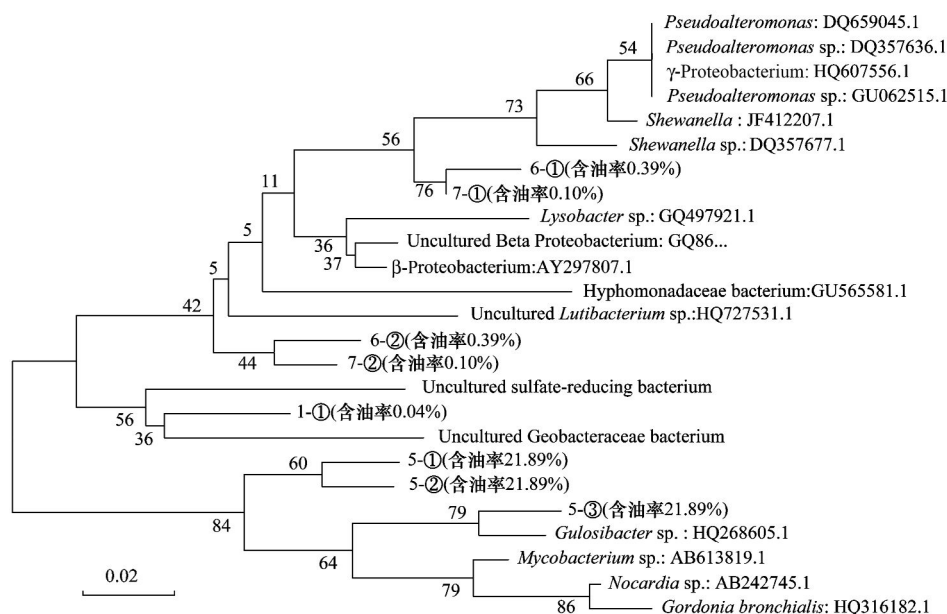


图 2 不同污染水平土壤与耕地微生物种属关系

Fig. 2 Microbial relational graph between different pollution levels soil and cultivated land

3 结论

(1)污染水平差异性与土壤微生物群落结构的相似性具有显著的负相关关系.

(2)随着石油污染程度差异性的增大,相似性指数变小,微生物群落结构差异性明显,表现出土壤污染对微生物群落结构和种属的胁迫性.

(3)与未污染土壤相比,污染土壤微生物群落的均匀度指数较低,群落分布不均匀,出现属于 Proteobacteria 纲的 *Gulosibacter*、*Halomonas* (盐单胞菌属)、*Petrobacter*、*Methylocystis*、*Pseudoalteromonas* 等优势菌群.

参考文献:

- [1] Michael C, Michael A K. Effect of *Sphingobium yanoikuyae* B1 inoculation on bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in aged and freshly PAH-contaminated soils [J]. Environmental Pollution, 2006, 144 (1): 228-237.
- [2] 李玉瑛, 郑西来, 李冰. 石油污染与微生物群落结构的相互

影响[J]. 生态环境, 2006, 15(2): 248-252.

- [3] Coppotelli B M, Ibarrolaza A, Del Panno M T. Effects of the inoculant strain *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA on soil bacterial community and biodegradation in phenanthrene contaminated soil[J]. Microbial Ecology, 2008, 55(2): 173-183.
- [4] 王晓丹, 李艳红. 分子生物学方法在水体微生物生态研究中的应用[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 777-781.
- [5] Ranjard L, Poly F, Nazaret S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment [J]. Research in Microbiology, 2000, 151(3): 167-177.
- [6] 吴作军, 卢滇楠, 张敏莲, 等. 微生物分子生态学技术及其在石油污染土壤修复中的应用现状与展望[J]. 化工进展, 2010, 29(5): 789-796.
- [7] 孙海明, 朱梅, 郭宇南, 等. 不同土壤微生物 DNA 提取方法比较[J]. 北华大学学报 (自然科学版), 2011, 12(5): 550-552.
- [8] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H, et al. Phylogenetic identification and *in-situ* detection of individual microbial-cells without cultivation[J]. Microbiological Reviews, 1995, 59(1): 160-169.

- [9] 陈承利, 廖敏, 曾路生. 污染土壤微生物群落结构多样性及功能多样性测定方法[J]. 生态学报, 2006, **26**(10): 3404-3412.
- [10] 梁玉婷. 油田区污染土壤微生物群落结构[D]. 北京: 清华大学, 2009. 5-10.
- [11] Lindstrom J E, Barry R P, Braddock J K, *et al.* Long-term effects on microbial communities after a subarctic oil spill[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, **31**(12): 1677-1689.
- [12] Cheung P Y, Kinkle B K. Mycobacterium diversity and pyrene mineralization in petroleum-contaminated soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(5): 2222-2229.
- [13] Saul D J, Aislabie A J, Brown D J, *et al.* Hydrocarbon contamination changes the bacterial diversity of soil from around Scott Base, Antarctica[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, **53**(1): 141-155.
- [14] 杨朝晖, 肖勇, 曾光明, 等. 用于分子生态学研究的堆肥 DNA 提取方法[J]. 环境科学, 2006, **27**(8): 1613-1617.
- [15] 贾建丽, 李广贺. 油田区土壤微生物种群构成及系统分类初步研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(4): 1185-1192.
- [16] 邢德峰, 任南琪, 宋佳秀, 等. 不同 16S rDNA 靶序列对 DGGE 分析活性污泥群落影响[J]. 环境科学, 2006, **27**(7): 1424-1429.
- [17] Watanabe K, Kodama Y, Harayama S. Design and evaluation of PCR primers to amplify bacterial 16S ribosomal DNA fragments used for community fingerprinting[J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, **44**(3): 253-262.
- [18] 张宇宁. 油田区土壤微生物群落结构与代谢功能特性研究[D]. 北京: 清华大学, 2010. 10-23.
- [19] 车玉伶, 王慧, 胡宏营, 等. 微生物群落结构和多样性解析技术研究进展[J]. 生态环境, 2005, **14**(1): 127-133.
- [20] Leung K, Topp E. Bacterial community dynamics in liquid swine manure during storage: molecular analysis using DGGE/PCR of 16S rDNA[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2001, **38**(2-3): 169-177.
- [21] Agnelli A, Ascher J, Corti G, *et al.* Distribution of microbial communities in a forest soil profile investigated by microbial biomass, soil respiration and DGGE of total and extracellular DNA[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, **36**(5): 859-868.
- [22] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, **103**(3): 626-631.
- [23] Reid J R W. Measuring biological diversity [J]. Austral Ecology, 2005, **30**(7): 814-815.
- [24] Lu J, Domingo J W S, Hill S, *et al.* Microbial diversity and host-specific sequences of Canada goose feces[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, **75**(18): 5919-5926.
- [25] Dupont K, Nielsen E O, Baekbo P, *et al.* Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time [J]. Veterinary Microbiology, 2008, **128**(1-2): 56-64.
- [26] 方敏, 丁小霞, 李培武, 等. 索氏抽提测定含油量的方法改良及其应用[J]. 中国油料作物学报, 2012, **34**(2): 210-214.
- [27] 章卫华, 李广贺, 邵辉煌, 等. 土层中石油烃类污染物索氏抽提流程改进及回收氯仿资源化研究[J]. 中国环境监测, 2001, **17**(3): 12-15.
- [28] 段学军, 闵航. 镉胁迫下稻田土壤微生物基因多样性的 DGGE 分子指纹分析[J]. 环境科学, 2004, **25**(5): 122-126.
- [29] 赵继红, 何淑英, 李继香, 等. PCR-DGGE 分析啤酒废水生物处理工艺的微生物区系[J]. 环境科学, 2008, **29**(10): 2950-2955.
- [30] Blaiotta G, Pennacchia C, Ercolini D, *et al.* Combining denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA V3 region and 16S-23S rDNA spacer region polymorphism analyses for the identification of staphylococci from Italian fermented sausages [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2003, **26**(3): 423-433.
- [31] Li Z Y, He L M, Wu J, *et al.* Bacterial community diversity associated with four marine sponges from the South China Sea based on 16S rDNA-DGGE fingerprinting [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006, **329**(1): 75-85.
- [32] Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, *et al.* Analysis of diurnal and vertical microbial diversity of a hypersaline microbial mat[J]. Archives of Microbiology, 2007, **188**(2): 137-146.
- [33] Nakatsu C H, Torsvik V, Øvreås L. Soil community analysis using DGGE of 16S rDNA polymerase chain reaction products [J]. Soil Science Society of America Journal, 2000, **64**(4): 1382-1388.
- [34] 朱文芳, 李伟光. 除油好氧降解菌的筛选与除油效果初探[J]. 浙江科技学院学报, 2007, **19**(2): 121-124.
- [35] Wang Y N, Cai H, Yu S L, *et al.* *Halomonas gudaonensis* sp. nov., isolated from a saline soil contaminated by crude oil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, **57**(5): 911-915.

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in PM _{2.5} and Its Impact on Hazy Weather During 16 th Asian Games in Guangzhou	TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, <i>et al.</i> (409)
PM _{2.5} Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area	ZHAO Xiu-juan, PU Wei-wei, MENG Wei, <i>et al.</i> (416)
Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China	WANG Qian, CHEN Chang-hong, WANG Hong-li, <i>et al.</i> (424)
Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou	XIE Xiao-fang, SUN Zai, FU Zhi-min, <i>et al.</i> (434)
Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters <i>n</i> -Alkanes in Baoding City	LI Xing-ru, DU Xi-qiang, WANG Ying-feng, <i>et al.</i> (441)
Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival	ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui (448)
Characteristics of PM ₁₀ and PM _{2.5} Concentrations in Mountain Background Region of East China	SU Bin-bin, LIU Xin-dong, TAO Jun (455)
Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose	TIAN Xiu-ying, CAI Qiang, LIU Rui, <i>et al.</i> (462)
Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control	ZHANG Gang, WANG Ning, AI Jian-chao, <i>et al.</i> (468)
Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique	XU Lin-bo, GAO Qin-feng, DONG Shuang-lin, <i>et al.</i> (476)
Eco-environmental Evolution Inferred from <i>n</i> -Alkanes and $\delta^{13}\text{C}$ Records in the Sediments of Shijiu Lake	OU Jie, WANG Yan-hua, YANG Hao, <i>et al.</i> (484)
Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City	LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan (494)
Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency	ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao (499)
Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China	SUN Ran-hao, JI Yu-he, SHANG Lin-yuan, <i>et al.</i> (509)
Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	SHI Zhi-qiang, ZHANG Yun-lin, WANG Ming-zhu, <i>et al.</i> (517)
Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll- <i>a</i> Retrieval Model in Inland Water Body	HUANG Chang-chun, LI Yun-mei, XU Liang-qiang, <i>et al.</i> (525)
Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Surface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate	QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, <i>et al.</i> (532)
Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal Wetland	ZHANG Hua-bing, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i> (540)
Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin	ZHOU Liang, XU Jian-gang, SUN Dong-qi, <i>et al.</i> (547)
Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River	CUI Yu-jie, LIU De-fu, SONG Lin-xu, <i>et al.</i> (555)
Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area	DONG Wen, LI Huai-en, LI Jia-ke (561)
Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage	REN Feng, LU Yi-xia, LIU Qin, <i>et al.</i> (570)
Inactivation of <i>Mycobacteria mucogenicum</i> in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis	ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, <i>et al.</i> (576)
Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium	LI San-hua, ZHANG Qi-ya (583)
Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on <i>Skeletonema costatum</i> Antioxidant Enzyme Activities	YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (589)
Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO ₂ Photocatalytic Combined Technologies	ZHANG Yi, HUANG Ruo-nan, WANG Xiao-min, <i>et al.</i> (596)
Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater	WANG Yong, LI Wei-guang, YANG Li, <i>et al.</i> (604)
Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by <i>Streptomyces</i> sp. FX645	XIE Lian-wu, FANG Ji-qian, GUO Ya-ping (611)
Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline	YANG Ji-xian, ZENG Hong-yun, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (616)
Study on the <i>Chlorella pyrenoidosa</i> Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization	JI Wen-wen, XIA Hui-long, FANG Zhi-guo, <i>et al.</i> (622)
Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content	CHEN Han-long, YAN Yuan-yuan, HE Qun-biao, <i>et al.</i> (629)
Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic Matter	YAO Dun-fan, CHEN Tian-hu, WANG Jin, <i>et al.</i> (635)
Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products	QING Xian, HAN Jing-lei, WEN Yan-shen (642)
Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model	ZHONG Mao-sheng, JIANG Lin, YAO Jue-jun, <i>et al.</i> (647)
Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution	YANG Yan, YU Yun-jiang, WANG Zong-qing, <i>et al.</i> (653)
Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application	WANG Xiao-hong, WEI Jia-hua, CHENG Zhi-neng, <i>et al.</i> (662)
Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain	ZHU Ling-yu, PAN Jian-jun, ZHANG Wei (668)
Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization	LUO Kun, HU Rong-gui, ZHANG Wen-ju, <i>et al.</i> (676)
Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return	ZHANG Jing, YU Ling-ling, XIN Shu-zhen, <i>et al.</i> (685)
Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations	LUO Lu, ZHOU Ping, TONG Cheng-li, <i>et al.</i> (692)
Aging Process of Cr(III) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis	ZHENG Shun-an, ZHENG Xiang-qun, LI Xiao-zheng, <i>et al.</i> (698)
Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise	PAN Feng, WANG Li-li, ZHAO Hao, <i>et al.</i> (705)
Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant	LIU Fang, WANG Shu-xiao, WU Qing-ru, <i>et al.</i> (712)
Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin	YAO Dan, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i> (718)
Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments	WU Wei, SHI Jiang-hong, CHEN Qing-cai, <i>et al.</i> (724)
Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds	YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, <i>et al.</i> (732)
Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field	WANG Dian-dian, SONG Ning-hui, WU Wen-zhu, <i>et al.</i> (740)
Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity	NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, <i>et al.</i> (746)
Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic <i>Myroides odoratimimus</i> Strain Y6	LI Tian, QIAN Kun, XIAO Wei, <i>et al.</i> (753)
Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection	TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, <i>et al.</i> (760)
Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method	LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng, <i>et al.</i> (767)
Assessment of the Effect of Influent NH ₄ ⁺ -N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process	LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, <i>et al.</i> (773)
Biodegradation of Lignocellulose by <i>Penicillium simplicissimum</i> and Characters of Lignocellulolytic Enzymes	SHEN Ying, HU Tian-jue, ZENG Guang-ming, <i>et al.</i> (781)
Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil	YANG Meng-qing, LI Li-ming, LI Chuan, <i>et al.</i> (789)
Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters	WANG Gui-zhen, LI Zhao-jun, ZHANG Shu-qing, <i>et al.</i> (795)
Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill	LI Rui, LIU Jian-guo, XUE Yu-wei, <i>et al.</i> (804)
Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms	WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-ben, <i>et al.</i> (810)

《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)

2013年2月15日 34卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

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: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行