

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第4期

Vol.34 No.4

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

唐山大气颗粒物中水溶性无机盐的观测研究	苗红妍, 温天雪, 王丽, 李杏茹, 王跃思 (1225)
鼎湖山 PM ₁₀ 中水溶性离子浓度特征分析	赵亚南, 王跃思, 温天雪, 刘全 (1232)
北京夏冬季霾天气下气溶胶水溶性离子粒径分布特征	黄怡民, 刘子锐, 陈宏, 王跃思 (1236)
深圳市 PM ₁₀ 化学组成与时空分布特征	云慧, 何凌燕, 黄晓峰, 兰紫娟, 李响, 曾立武 (1245)
福州城市及郊区冬、夏两季大气中多环芳烃特征研究	易志刚, 黄幸然, 毕峻奇, 郭萍萍, 郑丽丽 (1252)
河西走廊及兰州地区典型有机氯农药的大气残留及时空分布特征	丁中原, 毛潇萱, 马子龙, 田慧, 郭强, 黄韬, 高宏, 李军, 张干 (1258)
淄博市大气污染特征模型模拟及环境容量估算	薛文博, 王金南, 杨金田, 雷宇, 燕丽, 贺晋瑜, 韩宝平 (1264)
香溪河秋季水-气界面温室气体通量日变化观测及影响因素分析	黄文敏, 朱孔贤, 赵玮, 余博识, 袁希功, 冯瑞杰, 毕永红, 胡征宇 (1270)
变异系数法评价人类活动对地下水环境的影响	赵微, 林健, 王树芳, 刘记来, 陈忠荣, 寇文杰 (1277)
基于 ArcSWAT 模型的长乐江流域非点源氮素污染源识别和分析	邓欧平, 孙嗣咏, 吕军 (1284)
西安周边河流溶解无机碳浓度及同位素组成初探	郭威, 李祥忠, 刘卫国 (1291)
滇池流域宝象河暴雨径流初始冲刷效应	郭怀成, 向男, 周丰, 王永华, 李发荣, 朱翔, 毛国柱, 于书霞, 李娜, 盛虎, 杨永辉, 何成杰, 王翠榆 (1298)
三峡库区沉积物秋冬初的磷释放通量估算	牛凤霞, 肖尚斌, 王雨春, 刘德富, 黎国育, 王亮, 纪道斌, 杨正健 (1308)
海南东部河流、河口及近岸水域颗粒态重金属的分布及污染状况	辛成林, 任景玲, 张桂玲, 郭亚平, 张国玲, 刘素美 (1315)
黄河口表层沉积物中重金属的环境地球化学特征	吴斌, 宋金明, 李学刚 (1324)
扎龙湿地沉积物重金属空间分布特征及其潜在生态风险评价	叶华香, 臧淑英, 张丽娟, 张玉红 (1333)
上海市典型疏浚泥重金属生态风险评价	唐庆丽, 程金平, 高昊旻, 姚磊, 蒋真毅, 吴旻, 谢翠松, 梁海, 王鹤, 皮帅帅, 余朝毅 (1340)
我国沿海地区城镇污水处理厂污泥重金属污染状况及其处置分析	张灿, 陈虹, 余忆玄, 王立军, 韩建波, 陶平 (1345)
江苏某地长江、太湖水源水及出厂水中有机物雌激素活性的比较	金涛, 吕学敏, 曾一凡, 张冰冰, 马鲲鹏, 姜朴, 唐非 (1351)
北京市污水处理厂中邻苯二甲酸酯污染水平及其归趋	周益奇, 刘云霞 (1357)
降解 DMF 引起污泥毒性及其毒性空间分布特性研究	胡园园, 杨娜, 丁毅, 徐文璐, 陈秀荣, 艾奇峰, 陈善佳, 王利鹏, 黄华 (1363)
渤海湾有机锡污染对野生脉红螺的生态风险	安立会, 张燕强, 宋双双, 刘玥, 高俊敏, 陈浩, 赵兴茹, 雷坤, 郑丙辉 (1369)
巨牡蛎 (<i>Crassostrea</i> sp.) 对燃煤电厂脱硫海水中汞的生物累积	刘锡尧, 袁东星, 陈耀瑾 (1374)
咪唑盐离子液体对蚯蚓急性毒性及体重影响研究	黄若男, 范军杰, 涂宏志, 谭凌燕, 刘惠君, 徐冬梅 (1380)
铝盐混凝除砷影响因素及机制研究	陈桂霞, 胡承志, 朱灵峰, 童华卿 (1386)
混凝和活性炭吸附去除微污染源水中 DON 的研究	刘冰, 余国忠, 古励, 赵承美, 李清飞, 翟慧敏 (1392)
活性炭催化臭氧氧化扑热息痛的机制研究	王佳裕, 戴启洲, 鱼杰, 颜亦舟, 陈建孟 (1402)
氯酚溶液的 γ 辐照还原降解研究	彭云霞, 何仕均, 龚文琪, 王建龙 (1411)
C/N 比对反硝化过程中亚硝酸盐积累的影响分析	袁怡, 黄勇, 邓慧萍, 盛学敏, 潘杨, 李祥 (1416)
以甲醇为碳源生物反硝化过程释放一氧化二氮的试验研究	翟晓峰, 蒋成爱, 吴光学, 曾运涛 (1421)
固体纤维素类废物作为反硝化碳源滤料的比选	李斌, 郝瑞霞 (1428)
基于能源回收的城市污水厌氧氨氧化生物脱氮新工艺	卢健聪, 高大文, 孙学影 (1435)
多模式厌氧/缺氧/好氧污水处理工艺的稳态与动态模拟	周振, 吴志超, 王志伟, 杜兴治, 蒋玲燕, 邢灿 (1442)
高氨氮废水与城市生活污水短程硝化系统菌群比较	赵志瑞, 马斌, 张树军, 李滨, 白志辉, 王晓辉, 庄国强, 张洪助 (1448)
活性污泥絮体的分形结构分析	阮晓东, 刘俊新 (1457)
负荷交替法快速培养好氧硝化颗粒污泥的研究	沈娜, 杨昌柱, 濮文虹, 罗应东 (1464)
预加不同比例不同粒径好氧颗粒对 SBR 中好氧颗粒污泥形成的影响	熊光城, 濮文虹, 杨昌柱 (1472)
同时回收氮磷提高碱性发酵污泥脱水性能的机制研究	张超, 陈银广, 顾国维 (1479)
利用流式细胞仪分选技术研究湖泊真核超微藻的遗传多样性	谢薇薇, 袁伊, 王张伟, 孔繁翔, 史小丽 (1485)
阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用	郭亚丽, 傅海燕, 黄国和, 高攀峰, 柴天, 严滨, 廖欢 (1492)
象山港国华电厂强增温海域浮游动物群落结构和多样性的时空特征	朱艺峰, 黄简易, 林霞, 杨莹, 邢超, 严小军 (1498)
环氧树脂降解嗜盐菌的筛选及其处理高盐环氧树脂废水的特性研究	王进, 徐真, 彭书传, 夏明山, 岳正波, 陈天虎 (1510)
铜绿假单胞菌胞内酶粗提液对十溴联苯醚的降解	史广宇, 尹华, 叶锦韶, 彭辉, 张娜, 何宝燕 (1517)
酵母提取物对葡萄糖发酵生产生物破乳菌 <i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1 的影响	黄翔峰, 王凯, 黎明霞, 王彩林, 陆丽君, 刘佳 (1524)
玉米秸秆厌氧降解复合菌系的微生物群落结构	乔江涛, 郭荣波, 袁宪正, 师晓爽, 许晓晖, 范晓蕾, 邱艳玲 (1531)
红霉素对产甲烷菌的抑制及其驯化	刘子旭, 孙力平, 李玉友, 邱春生 (1540)
4 种 NAPLs 污染物在二维砂箱中的指进锋面形态特征研究	杨宾, 李慧颖, 伍斌, 杜晓明, 李发生 (1545)
污灌区土壤中多环芳烃的垂直分布及可能来源	姚林林, 张彩香, 李佳乐, 廖小平, 王焰新 (1553)
呼和浩特市不同功能区土壤重金属污染特征及评价	郭伟, 孙文惠, 赵仁鑫, 赵文静, 付瑞英, 张君 (1561)
水稻光合同化碳在土壤不同粒径、密度分组中的分配特征	李苗苗, 聂三安, 陈晓娟, 罗璐, 朱捍华, 石辉, 葛体达, 童成立, 吴金水 (1568)
亚热带不同稻田土壤微生物量碳的剖面分布特征	盛浩, 周萍, 袁红, 廖超林, 黄运湘, 周清, 张杨珠 (1576)
施用堆腐有机肥对水稻土中六氯苯脱氯降解影响	刘翠英, 蒋新 (1583)
螯合剂和生物表面活性剂对 Cu、Pb 污染壤土的淋洗修复	刘霞, 王建涛, 张萌, 王力, 杨亚提 (1590)
不同温度下烧制的秸秆炭对可变电荷土壤吸附 Pb(II) 的影响	蒋田雨, 姜军, 徐仁扣, 周立祥, 王世梅 (1598)
绿色木霉改性玉米秸秆溢油吸附剂的制备及其性能研究	蓝丹琳, 彭丹, 郭楚玲, 朱超飞, 薛秀玲, 党志 (1605)
改性与成型层状氢氧化镁铝对不同水体中 PO ₄ ³⁻ 的脱除性能	邢坤, 王海增 (1611)
羧基化碳纳米管载铂催化剂对微生物燃料电池阴极氧还原性能的影响	涂丽杏, 朱能武, 吴平霄, 李平, 吴锦华 (1617)
新型生物质活性炭烟气脱硫研究	刘洁岭, 汤争光, 陈杰, 蒋文举, 江霞 (1623)
城市工业行业能源消费强度等级划分方法及应用	毛建素, 马兰 (1628)
厦门城市化进程中的居民食物碳消费及其环境负荷	闫祯, 崔胜辉, 李桂林, 任引, 徐礼来 (1636)
《环境科学》征订启事 (1283) 《环境科学》征稿简则 (1332) 信息 (1350, 1509, 1582, 1644) 专辑征稿通知 (1523)	

玉米秸秆厌氧降解复合菌系的微生物群落结构

乔江涛^{1,2}, 郭荣波¹, 袁宪正¹, 师晓爽¹, 许晓晖¹, 范晓蕾¹, 邱艳玲^{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. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 以不同来源具有木质纤维素降解能力的环境样品为接种物, 以玉米秸秆为唯一碳源, 进行了秸秆厌氧降解微生物的驯化培养, 构建了8组复合菌系. 复合菌系的产气周期为30~50 d, 玉米秸秆的总固体(TS)去除率在30%~40%之间. 其中6组的甲烷产量(以TS计)为62.1~118.4 mL·g⁻¹, 发酵液中挥发性有机酸主要为乙酸、丙酸及丁酸(100~500 mg·L⁻¹), 发酵终产物pH为6.5~6.7; 而另外2组的甲烷产量较低, 在8.5~9.7 mL·g⁻¹之间, 但乙酸浓度较高(1200 mg·L⁻¹左右), 发酵终产物pH为5.6~5.9. 通过16S rRNA基因克隆文库方法对复合菌系中细菌及古菌的群落结构进行了多样性解析, 结果表明细菌主要分为8个不同的类群, 其中厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、互养菌门(Synergistetes)及热袍菌门(Thermotogae)为优势菌群, 分别占细菌克隆总数的37.8%、34.3%、11.6%和6.4%; 古菌属于甲烷微菌纲(Methanomicrobia)和甲烷杆菌纲(Methanobacteria), 分别占古菌克隆总数的61.1%和38.9%. 对主要功能菌群在秸秆厌氧降解产甲烷过程中发挥的作用进行了探讨.

关键词: 玉米秸秆; 厌氧降解; 甲烷; 群落结构; 16S rRNA基因克隆文库

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)04-1531-09

Phylogenetic Analysis of Methanogenic Corn Stalk Degrading Microbial Communities

QIAO Jiang-tao^{1,2}, GUO Rong-bo¹, YUAN Xian-zheng¹, SHI Xiao-shuang¹, XU Xiao-hui¹, FAN Xiao-lei¹, QIU Yan-ling¹

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

Abstract: Methanogenic corn stalk degrading enrichment cultures were constructed using corn stalk as the sole carbon source and eight types of environmental samples as inocula. All the cultures could degrade corn stalk within 30-50 days and the total solids (TS) removal rates were in the range of 30%-40%. In six out of eight cultures, the cumulative methane yields per gram TS were 62.1-118.4 mL·g⁻¹, with acetate, propionate and butyrate as the major volatile fatty acids (100-500 mg·L⁻¹), and the final pH were 6.5-6.7. In the other two cultures, the cumulative methane yields per gram TS were 8.5-9.7 mL·g⁻¹, while the concentrations of acetate were high (1200 mg·L⁻¹), and the final pH were low (5.6-5.9). The bacterial and archaeal structures in eight enrichments were investigated with a 16S rRNA genes-based clone library method. Clones belonging to the bacterial phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Synergistetes and Thermotogae were observed in abundance within the bacterial clone libraries, which accounted for 37.8%, 34.3%, 11.6% and 6.4% of the total number of bacterial clones, respectively. Within the domain Archaea, clones affiliated with the classes Methanomicrobia and Methanobacteria were found to be abundant in the archaeal clone libraries, which accounted for 61.1% and 38.9% of the total number of archaeal clones, respectively.

Key words: corn stalk; anaerobic degradation; methane; microbial community; 16S rRNA gene clone library

秸秆厌氧发酵产沼气是秸秆转化为能源的主要方式之一, 对于解决沼气工程发酵原料不足、改善农村环境污染问题具有重要意义. 目前我国沼气工程主要集中在酒精淀粉行业的废水处理和养殖业的粪污处理. 由于秸秆的木质纤维素含量高、流动性差, 以秸秆为原料的沼气工程存在进出料困难、产气不稳定、发酵速度慢及降解效率低等问题. 国内仅有几座实际工程运行, 如山东德州的秸秆湿式沼气工程及北京大兴的干式牛粪-秸秆沼气工程等^[1]. 有机物厌氧降解过程主要分为水解发酵、产氢产乙酸及产甲烷3个阶段, 秸秆的厌氧降解需要不同阶

段的微生物协同作用完成, 因此秸秆降解各阶段功能菌群的研究对提高秸秆的消化率及增加产气量具有指导意义^[2,3]. 在国外, 秸秆主要用于直燃发电、

收稿日期: 2012-07-03; 修订日期: 2012-07-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(51078344); 国家科技支撑计划项目(2010BAC67B03); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2012AA052103); 中国科学院知识创新工程项目(KSCX2-EW-J-10); 山东省自然科学基金项目(Y2008F45); 泰山学者建设工程及青岛市引进专项计划项目(11-2-4-15-YX)

作者简介: 乔江涛(1987~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为有机废弃物厌氧处理与资源化利用, E-mail: qiaojt@qibebt.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: qiuyl@qibebt.ac.cn

堆沤还田或作为青贮饲料,很少用作沼气发酵原料,研究对象主要是纤维素降解菌,目前已经分离并系统描述的厌氧纤维素降解菌主要分布在拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、螺旋体门(Spirochaetes)、纤维杆菌门(Fibrobacteres)及热袍菌门(Thermotogae)等门.我国在秸秆沼气发酵工艺及秸秆生物预处理方面开展了一系列研究,农业部规划设计研究院农村能源环保所开发了以秸秆为主要发酵原料的两相厌氧发酵工艺,其产气率比单相秸秆沼气工艺提高了20%;此外,通过沼液回流,实现了物料多次接种,提高了产气效率^[4].在秸秆生物预处理方面,崔宗均等^[5,6]利用好氧复合菌系MC1和XDC-2预处理玉米秸秆,发现预处理后秸秆总产气量和总甲烷产量都有很大提高,并且缩短了秸秆降解时间.目前,有关秸秆沼气发酵反应器中微生物群落的研究较少,而针对畜禽粪便沼气发酵^[7,8]、市政垃圾沼气发酵^[9,10]及厌氧消化污泥^[11~13]中微生物群落的研究较多,原因在于国内尚缺少秸秆沼气工程实际案例.本研究以不同环境具有秸秆降解能力的样品为接种物,进行了玉米秸秆降解微生物的驯化培养,利用分子生物学方法对其微生物群落结构进行了解析.

1 材料与方法

1.1 原料特性

玉米秸秆在自然条件下风干,经测定总固体含量(TS)为94.4%,总挥发性固体含量(VS)为87.2%,其中纤维素、半纤维素及木质素分别占36.8%、27.7%及8.0%.供试秸秆剪至1.5 cm,105℃烘干备用,不做其它处理.

1.2 接种物

以山东、江西等地秸秆堆积土壤、水淹稻田、腐烂稻草等具有木质纤维素降解能力的环境样品为接种物(计8种).样品采集后置于密闭厌氧瓶中,用氮气曝气3~5 min除氧,4℃存放备用.取1 g样品于2 mL离心管中,加入1 mL蒸馏水振荡,8 000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液测定pH值.经测定样品主要偏酸性,pH在5.3~5.8之间(表1).

1.3 秸秆降解复合菌系的驯化培养及产甲烷特性

取接种物约5 g用PBS磷酸缓冲液清洗2次,收集上清菌液,9 000 r·min⁻¹离心10 min去除外加有机碳源,并收集菌体.菌体沉淀用PBS磷酸缓冲液悬浮,作为接种源.取菌液2 mL加入到60 mL血

表1 样品性质

Table 1 Properties of the samples

代号	样品名称	采集地	pH
VS	菜地腐殖土壤	江西,吉安	6.8
RL	腐烂芦苇污水	青岛,城阳	— ¹⁾
SS	陈年锯末下土壤	山东,日照	5.5
RS-S	腐烂稻草土壤	山东,日照	—
CS-S	玉米秸秆垛下土壤	山东,日照	5.8
WS-S	麦秆草垛下土壤	山东,日照	5.4
BS	竹林土壤	江西,吉安	5.3
HS	杨树树水沟土壤	山东,日照	5.4

1)“—”表示没有获得相关数据,下同

清瓶中,内含20 mL液体培养基(pH 7.0)和0.2 g玉米秸秆(质量分数1%),于37℃黑暗培养箱中静置培养.采用Widdel培养基^[14],以氮气和二氧化碳混合气体(N₂:CO₂=80:20,体积比)置换液体培养基及瓶中的气体.驯化过程中,以甲烷累积产量作为秸秆降解指标,当接种后秸秆产气量达到最高产气量的50%~80%时,传代于新鲜培养基中,接种量为15%左右.为了考察不同复合菌系对玉米秸秆的降解能力,进行了产甲烷潜力实验.培养基、秸秆含量及实验操作如上所述,以驯化2 a的复合菌系作为接种源,接种量为20%,于37℃静置培养.实验周期为50 d,每隔7 d取样,测定甲烷含量及发酵液中有有机酸浓度.

1.4 分析方法

pH值的测定:取发酵液0.5 mL,用日本HORIBA公司产B-12型微量pH值计测定.

TS和VS根据美国水和废水监测标准方法第20版测定^[15].发酵前测定添加干秸秆的质量;发酵结束后,发酵剩余物8 000 r·min⁻¹离心10 min,弃去上清液,然后用去离子水洗2次,收集沉淀物于105℃烘干后称重,计算秸秆的TS去除率.秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的测定采用范氏(Van Soest)洗涤纤维分析法^[16].

甲烷和氢气用SP-6890型气相色谱测定.色谱条件为:色谱柱为Porapak Q毛细管柱,高纯氮气作为载气,柱温80℃,进样口温度100℃,检测器为TCD,检测器温度为100℃,桥流75 mA.挥发性有机酸采用SP-6890型气相色谱测定,发酵液离心后用0.2 μm滤膜过滤.色谱条件为:色谱柱为Innowax(30 m×Φ 0.25 mm×0.25 μm)毛细管柱,高纯氮气作为载气,柱温120℃,进样口温度220℃,检测器为FID,检测器温度为250℃.

1.5 DNA提取、PCR扩增及克隆文库构建

为了掌握秸秆厌氧降解复合菌系的群落结构, 分别构建了细菌和古菌的克隆文库。当复合菌系产气量达到最高产气量的 50% ~ 80% 时, 收集上层菌液, 提取 DNA^[17]。细菌 PCR 采用引物 EUB8F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 UNIV1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3')^[18]; 古菌 PCR 采用 ARC109F (5'-ACKGCTCAGTAACACGT-3') 和 UNIV1492R 扩增^[19]。PCR 反应程序: 95℃ 预变性 9 min; 95℃ 变性 50 s, 50℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 2 min, 72℃ 延伸 10 min。为减少 PCR 误差, PCR 扩增分别采用 20、25、30、35、40、45 循环, 以确定最佳循环数。复合菌系细菌与古菌的 PCR 循环数主要为 25 和 30。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。PCR 产物使用普通离心柱型 DNA 胶回收试剂盒 (Tiagen) 进行纯化。将纯化的 PCR 产物与 pGEM-T Easy 载体 (Promega) 依操作说明进行连接。采用热激法将连接产物转化至 DH5 α 大肠杆菌感受态细胞中, 最后进行蓝白斑筛选。

每个复合菌系随机挑取 30 ~ 50 个细菌阳性克隆子和 20 ~ 30 个古菌阳性克隆子进行菌落扩增, 引物采用 M13F (5'-GTTTTCCCAGTCACGAC-3') 和 M13R (5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3')。PCR 产物进行限制性片段长度多态性分析 (restriction fragment length polymorphism, RFLP), 采用 DNA 内切酶 *Hha* I 和 *Hae* III 对目的 PCR 产物酶切 3 h, 反应温度为 37℃, 对酶切产物进行 3% 琼脂糖凝胶电泳。每个酶切分型选取一个代表克隆进行测序。

1.6 16S rRNA 基因序列系统发育分析

测序由上海桑尼生物科技有限公司完成。用 CHECK_CHEMRA 程序检测人工嵌合序列并剔除。将序列相似性大于或等于 97% 的 16S rRNA 克隆子定义为同一个操作分类单位 (operational taxonomic units, OTU)。不同的 OTU 序列在 GenBank 数据库中进行 BLAST 同源比对。将克隆文库构建得到的细菌和古菌克隆子登录于 GenBank, 其登录号分别为 AB742048 ~ AB742118 和 AB742119 ~ AB742140。

2 结果与分析

2.1 秸秆厌氧降解复合菌系产甲烷特性

以不同来源具有木质纤维素降解能力的环境样品为接种物, 以玉米秸秆为唯一碳源, 经过 2 a 传代培养, 共构建了 8 组秸秆厌氧降解复合菌系。为了考察不同复合菌系对玉米秸秆的降解能力, 进行了

产甲烷潜力实验。实验周期为 50 d, 每隔 7 d 取样, 测定甲烷含量及发酵液中有机酸浓度 (图 1)。8 组复合菌系对玉米秸秆的 TS 去除率在 31.7% ~ 40.8% 之间, 其中 6 组复合菌系累积甲烷变化趋势基本一致, 在发酵的第 35 d 甲烷产量 (以 TS 计) 达到最大值, 在 62.1 ~ 118.4 mL·g⁻¹ 之间, 发酵液中挥发性有机酸主要为乙酸、丙酸及丁酸, 浓度在 100 ~ 500 mg·L⁻¹ 之间; 而另外 2 组甲烷产量较少, 在 8.5 ~ 9.7 mL·g⁻¹ 之间, 但乙酸浓度较高 (1 200 mg·L⁻¹ 左右)。8 组驯化复合菌系中, 来自腐烂芦苇污水的复合菌系 (RL) 累积甲烷产量最高, 达到 118.4 mL·g⁻¹。通过测定复合菌系发酵终产物 pH, 发现 6 组甲烷产量高的 pH 在 6.5 ~ 6.7 之间, 而另外 2 组甲烷产量低的 pH 较低, 在 5.6 ~ 5.9 之间。由于大多数厌氧微生物, 包括产甲烷菌的最佳生长 pH 值为 7.0 左右, 当 pH 值低于 6.5 或高于 8.2 时产甲烷菌会受到严重抑制, 导致甲烷产量降低^[20]。因此, pH 调控对于秸秆沼气的产气量及稳定运行有重要影响。

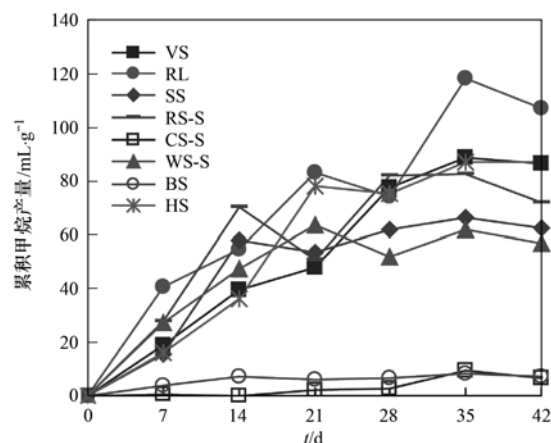


图 1 秸秆厌氧降解复合菌系的累积甲烷产量

Fig. 1 Cumulative methane production by anaerobic corn stalk degrading enrichment cultures

2.2 细菌和古菌基因克隆文库的统计学分析

为确定复合菌系中微生物群落结构, 采用 16S rRNA 基因克隆文库方法对富集 2 a 的复合菌系进行了细菌和古菌多样性解析。每个复合菌系随机挑取细菌阳性克隆子 30 ~ 50 个, 古菌阳性克隆子 20 ~ 30 个。对于细菌克隆文库, 一共挑选了 233 个阳性克隆, 通过 RFLP 带型分析、在线杂合子检验以及相似性大于或等于 97% 分析, 最终共得 43 个 OTUs, 各复合菌系文库的细菌 OTU 数目在 6 ~ 13 之间。古菌克隆文库共挑选 149 个阳性克隆, 最终获得 10 个 OTUs, 各复合菌系文库 OTU 的数目在 2 ~ 4

之间(表2). 稀释曲线分析^[21]进一步表明古菌克隆的覆盖率较高,接近饱和[图2(a)],而细菌克隆稀释曲线的斜率相对较大,没有达到饱和[图2(b)]. 秸秆厌氧降解复合菌系中细菌的多样性较高,说明细菌的群落结构较复杂,秸秆的厌氧降解需要多种微生物协同作用共同完成.

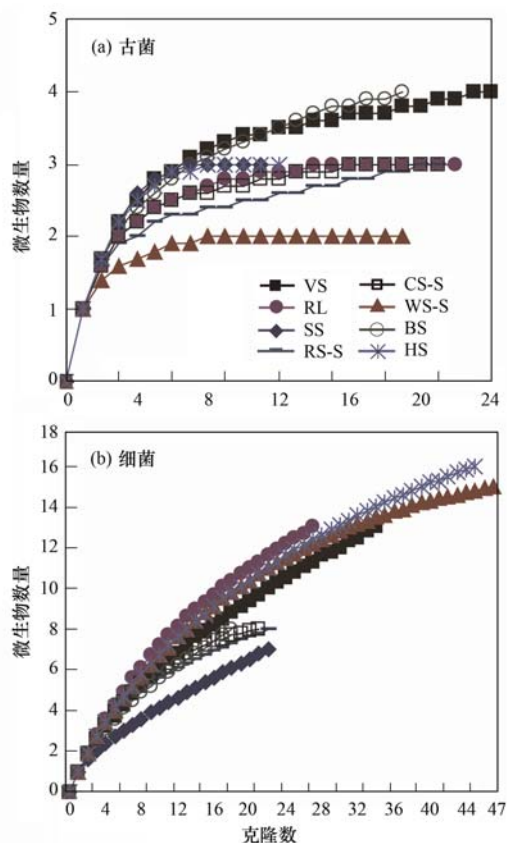


图2 秸秆厌氧降解复合菌系中古菌和细菌 16S rRNA 基因克隆文库稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of archaeal and bacterial 16S rRNA gene clones in anaerobic corn stalk degrading microbial communities

2.3 细菌多样性解析

通过细菌 16S rRNA 基因序列与 NCBI 数据库比对以及系统进化分析,表明细菌主要属于 8 个门,其中厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、互养菌门(Synergistetes)及热袍菌门(Thermotogae)为主要优势菌群. 此外,属于黏胶球形菌门(Lentisphaerae)、Armatimonadetes、绿弯菌门(Chloroflexi)及放线菌门(Actinobacteria)的克隆在文库中数量相对较少,且只存在于某些特定文库中(表2).

厚壁菌门(Firmicutes)是克隆文库中最优势的细菌类群,在各秸秆降解复合菌系文库中均以较高丰度出现(18.5%~48.9%),表明厚壁菌门是

秸秆厌氧降解复合菌系细菌中的优势类群(表2). 与厚壁菌门相关的 OTUs 占 62.8% (27/43 OTUs),属于厚壁菌门的克隆占克隆总数的 37.8% (88/233 克隆). 厚壁菌门克隆中,33.0% (29/88 克隆)的克隆与梭菌目中未培养类群(uncultured compost bacterium, FN667249)近源,相似性为 92%~98%. 这些环境克隆主要来自厌氧消化污泥、废水厌氧处理反应器及人和动物粪便,说明该类微生物在废水、废弃物厌氧处理系统中发挥重要作用.

拟杆菌门(Bacteroidetes)是细菌克隆文库中的第二大类群,与拟杆菌门相关的克隆为 80 个,占克隆总数的 34.3% (80/233 克隆). 拟杆菌门中与 *Bacteroides graminisolvens* (相似性,99%) 近缘序列最多,占克隆总数的 25.8% (60/233 克隆). *Bacteroides graminisolvens* 是中温严格厌氧木聚糖降解菌,分离自牛粪厌氧消化反应器,可利用葡萄糖、淀粉及纤维二糖等糖类物质^[22],因此推测在秸秆降解产酸阶段发挥重要作用.

互养菌门(Synergistetes)是克隆文库中的第三大细菌类群,OTUs 为 3 个,占克隆总数的 11.6% (27/233 克隆). 互养菌门中与 *Aminobacterium mobile* (相似性,96%) 近缘序列较多,占克隆总数的 5.6%. 该菌是中温严格厌氧氨基酸及丙酮酸降解菌^[23],可能在秸秆厌氧降解中间产物的去除方面发挥作用.

热袍菌门(Thermotogae)是文库中的第四大细菌类群,相关的 OTU 只有一个. 在 8 个复合菌系中,有 4 个复合菌系中出现热袍菌门,分别占各文库的 4.5%~18.5%. 热袍菌门是一类嗜热糖类利用微生物,这些克隆与热袍菌门的已知菌 *Geotoga subterranean* 近缘,但相似性仅为 84%,鉴于遗传距离较远,因此其具体生理功能尚无法推测.

在细菌克隆文库中,属于黏胶球形菌门、Armatimonadetes、绿弯菌门及放线菌门的克隆在文库中数量较少,只存在于某些特定的文库中. 黏胶球形菌门、绿弯菌门及 Armatimonadetes 都是近年新提案的门,这些门所属的微生物主要利用糖类物质,目前只有少数分离菌株.

2.4 古菌多样性解析

古菌克隆解析结果表明,古菌序列均属于甲烷微菌纲(Methanomicrobia)和甲烷杆菌纲(Methanobacteria),分别占古菌克隆总数的 61.1% 和 38.9%. 古菌克隆文库中,149 个阳性克隆最终

表 2 秸秆厌氧降解复合菌系细菌 16S rRNA 基因克隆文库

Table 2 Bacterial 16S rRNA gene-based clone libraries from anaerobic corn stalk degrading microbial communities

样品名称	OTU	克隆数 克隆总数	登录号	所属门	近源种（登录号）	功能	相似性 /%
菜地 腐殖土壤 (VS)	VS-B1	13/34	AB742048	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	VS-B2	6/34	AB742049	Thermotogae	<i>Geotoga subterranea</i> (NR_029145)	—	84
	VS-B3	4/34	AB742050	Synergistetes	<i>Cloacibacillus evryensis</i> DSM 19522 (CU463952)	Acidogenic	90
	VS-B4	3/34	AB742051	Bacteroidetes	<i>Meniscus glaucopsis</i> (GU269545)	Acidogenic	99
	VS-B5	2/34	AB742052	Firmicutes	<i>Sporanaerobacter acetigenes</i> (NR_025151)	Acidogenic	90
	VS-B6	1/34	AB742053	Firmicutes	Uncultured Clostridia bacterium clone (EU888006)	—	97
	VS-B7	2/34	AB742054	Firmicutes	<i>Christensenella minuta</i> (AB490809)	Acidogenic	90
	VS-B8	1/34	AB742055	Firmicutes	Uncultured Firmicutes bacterium clone (HM440293)	—	97
	VS-B9	1/34	AB742056	Bacteroidetes	<i>Proteiniphilum acetatigenes</i> (NR_043154)	Proteolytic	94
	VS-B10	1/34	AB742057	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	93
腐烂 芦苇污水 (RL)	RL-B1	6/27	AB742058	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	RL-B2	5/27	AB742059	Thermotogae	<i>Geotoga subterranea</i> (NR_029145)	—	84
	RL-B3	5/27	AB742060	Synergistetes	<i>Aminobacterium mobile</i> (NR_024925)	Acidogenic	96
	RL-B4	4/27	AB742061	Bacteroidetes	<i>Petrimonas sulfuriphila</i> (NR_042987)	Acidogenic	96
	RL-B5	3/27	AB742062	Firmicutes	Uncultured compost bacterium (FN667249)	—	98
	RL-B6	2/27	AB742063	Firmicutes	Uncultured Firmicutes bacterium clone (HM440293)	—	95
	RL-B7	1/27	AB742064	Firmicutes	Uncultured Firmicutes bacterium clone (AY858534)	—	92
	RL-B8	1/27	AB742065	Firmicutes	<i>Anaerotruncus colihominis</i> (DQ002932)	Acidogenic	93
陈年锯 末下土壤 (SS)	SS-B1	14/22	AB742066	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	SS-B2	3/22	AB742067	Firmicutes	Uncultured Clostridiales bacterium clone (AB513436)	—	93
	SS-B3	1/22	AB742068	Firmicutes	<i>Turicibacter sanguinis</i> (NR_028816)	—	86
	SS-B4	1/22	AB742069	Firmicutes	Uncultured Ruminococcaceae bacterium clone (GQ358507)	—	94
	SS-B5	1/22	AB742070	Firmicutes	<i>Clostridium caenicola</i> (NR_041311)	Cellulolytic	93
	SS-B6	1/22	AB742071	Firmicutes	<i>Sporobacter termitidis</i> (NR_044972)	Homoacetogenic	96
	SS-B7	1/22	AB742072	Firmicutes	<i>Clostridium quinii</i> (NR_026149)	Acidogenic	99
腐烂 稻草土壤 (RS-S)	RS-S-B1	5/22	AB742073	Firmicutes	<i>Pelotomaculum propionicicum</i> (NR_041000)	Syntrophic	88
	RS-S-B2	5/22	AB742074	Bacteroidetes	<i>Ruminofilibacter xylanolyticum</i> (DQ141183)	Cellulolytic	99
	RS-S-B3	5/22	AB742075	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	RS-S-B4	3/22	AB742076	Bacteroidetes	<i>Macellibacteroides fermentans</i> (HQ020488)	Acidogenic	99
	RS-S-B5	1/22	AB742077	Lentisphaerae	<i>Victivallis vadensis</i> ATCC BAA-548 (NR_027565)	Acidogenic	95
	RS-S-B6	1/22	AB742078	Thermotogae	<i>Geotoga subterranea</i> (NR_029145)	—	84
	RS-S-B7	1/22	AB742079	Synergistetes	<i>Cloacibacillus evryensis</i> DSM 19522 (CU463952)	Acidogenic	90
	RS-S-B8	1/22	AB742080	Synergistetes	<i>Aminobacterium colombiense</i> DSM 12261 (NR_027531)	Acidogenic	95
玉米秸秆 垛下土壤 (CS-S)	CS-S-B1	5/21	AB742081	Firmicutes	<i>Clostridium cellobioparum</i> (NR_026104)	Acidogenic	93
	CS-S-B2	5/21	AB742082	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	CS-S-B3	4/21	AB742083	Firmicutes	<i>Oxobacter pfennigii</i> (NR_029268)	—	91
	CS-S-B4	3/21	AB742084	Firmicutes	<i>Clostridium quinii</i> (NR_026149)	Acidogenic	99
	CS-S-B5	2/21	AB742085	Firmicutes	<i>Christensenella minuta</i> (AB490809)	Acidogenic	92
	CS-S-B6	2/21	AB742086	Firmicutes	Uncultured Clostridiales bacterium clone (JQ741984)	—	90
麦秆草垛 下土壤 (WS-S)	WS-S-B1	15/44	AB742087	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	WS-S-B2	4/44	AB742088	Firmicutes	<i>Coprothermobacter proteolyticus</i> (NR_029236)	Acidogenic	98
	WS-S-B3	4/44	AB742089	Firmicutes	Uncultured compost bacterium (FN667249)	—	95
	WS-S-B4	4/44	AB742090	Chloroflexi	<i>Longilinea arvoryzae</i> (NR_041355)	Acidogenic	99
	WS-S-B5	3/44	AB742091	Synergistetes	<i>Aminobacterium mobile</i> (NR_024925)	Acidogenic	96
	WS-S-B6	3/44	AB742092	Actinobacteria	<i>Acidothermus cellulolyticus</i> 11B (AJ007290)	—	83
	WS-S-B7	2/44	AB742093	Bacteroidetes	<i>Petrimonas sulfuriphila</i> (NR_042987)	Acidogenic	99
	WS-S-B8	2/44	AB742094	Synergistetes	Uncultured <i>Synergistes</i> sp. (JF736632)	—	99
	WS-S-B9	2/44	AB742095	Firmicutes	Uncultured Clostridiales bacterium clone (JN540134)	—	96
	WS-S-B10	2/44	AB742096	Armatimonadetes	<i>Armatimonas rosea</i> (AB529679)	—	82
	WS-S-B11	1/44	AB742097	Firmicutes	<i>Christensenella minuta</i> (AB490809)	Acidogenic	91
	WS-S-B12	1/44	AB742098	Firmicutes	<i>Clostridium polysaccharolyticum</i> (X77839)	Cellulolytic	94
	WS-S-B13	1/44	AB742099	Firmicutes	<i>Clostridium methylpentosum</i> DSM 5476 (NR_029355)	Acidogenic	93

续表 2

样品名称	OTU	克隆数 克隆总数	登录号	所属门	近源种 (登录号)	功能	相似性 /%
竹林土壤 (BS)	BS-B1	7/18	AB742100	Firmicutes	Uncultured compost bacterium (FN667249)	—	95
	BS-B2	5/18	AB742101	Synergistetes	<i>Aminobacterium mobile</i> (NR_024925)	Acidogenic	96
	BS-B3	2/18	AB742102	Firmicutes	<i>Christensenella minuta</i> (AB490809)	Acidogenic	92
	BS-B4	1/18	AB742103	Firmicutes	<i>Clostridium amygdalinum</i> (AY353957)	Acidogenic	98
	BS-B5	1/18	AB742104	Firmicutes	<i>Clostridium leptum</i> DSM 753 (AJ305238)	Acidogenic	94
	BS-B6	1/18	AB742105	Firmicutes	Uncultured Clostridiales bacterium (AB513436)	—	92
	BS-B7	1/18	AB742106	Firmicutes	<i>Pseudoflavonifractor capillosus</i> (NR_025670)	—	95
杨树林 水沟土壤 (HS)	HS-B1	15/45	AB742107	Firmicutes	Uncultured compost bacterium (FN667249)	—	92
	HS-B2	9/45	AB742108	Chloroflexi	<i>Leptolinea tardivitalis</i> (NR_040971)	Acidogenic	92
	HS-B3	6/45	AB742109	Synergistetes	Uncultured <i>Synergistes</i> sp. (JF736632)	—	99
	HS-B4	3/45	AB742110	Firmicutes	<i>Acetanaerobacterium elongatum</i> (NR_042930)	Acidogenic	95
	HS-B5	3/45	AB742111	Thermotogae	<i>Geotoga subterranean</i> (NR_029145)	—	84
	HS-B6	2/45	AB742112	Armatimonadetes	<i>Armatimonas rosea</i> (AB529679)	Acidogenic	86
	HS-B7	2/45	AB742113	Bacteroidetes	<i>Proteiniphilum acetatigenes</i> (NR_043154)	Proteolytic	99
	HS-B8	1/45	AB742114	Firmicutes	<i>Syntrophomonas curvata</i> (NR_025752)	Acidogenic	91
	HS-B9	1/45	AB742115	Firmicutes	<i>Sporobacter termitidis</i> (NR_044972)	Acidogenic	92
	HS-B10	1/45	AB742116	Bacteroidetes	<i>Bacteroides graminisolvens</i> (NR_041642)	Acidogenic	99
	HS-B11	1/45	AB742117	Firmicutes	<i>Gracilibacter thermotolerans</i> JW/YJL-S1 (DQ117468)	—	94
	HS-B12	1/45	AB742118	Firmicutes	<i>Christensenella minuta</i> (AB490809)	Acidogenic	91

获得 10 个 OTUs,各文库间 OTU 的数目在 2~4 之间(表 3). 10 个 OTUs 中有 4 个 OTUs 属于甲烷杆菌科(Methanobacteriaceae). 据报道,甲烷杆菌科(Methanobacteriaceae)主要由氢营养型产甲烷菌构成,如甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)^[24]; 2 个 OTUs 属于甲烷八叠球菌科(Methanosarcinaceae),该科主要由乙酸营养型产甲烷菌构成,如甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)^[24]; 2 个 OTUs 属于甲烷微菌科(Methanomicrobiaceae); 1 个 OTUs 属于甲烷螺菌科(Methanospirillaceae),还有 1 个 OTUs 属于甲烷微菌目(Methanomicrobiales).

在属分类水平上,秸秆降解复合菌系中古菌可分为 5 个属,分别为甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)、甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷螺菌属(*Methanospirillum*)、甲烷泡菌属(*Methanofollis*)和 *Methanoregula*. 古菌克隆文库中优势克隆(25.5%, 38/149 克隆)与 *Methanobacterium congolense* 近缘(相似性,99%),该菌分离自木薯废弃物厌氧处理反应器,主要以 H₂ 和 CO₂ 作为生长底物^[25]. 其次占优势的克隆(16.8%, 25/149 克隆)与 *Methanosarcina horonobensis* 近缘(相似性,99%),该菌主要利用乙酸作为生长底物^[26].

3 讨论

本研究以秸秆堆积土壤、水淹稻田、腐烂稻草

等具有木质纤维素降解能力的不同环境样品为接种物,以玉米秸秆为唯一碳源,构建了 8 组秸秆厌氧降解复合菌系. 8 组复合菌系对玉米秸秆的 TS 去除率基本相同,其中 6 组复合系的甲烷产量较高,有机酸浓度较低,发酵终产物 pH 维持中性;而另外 2 组复合系的甲烷产量较少,但有机酸浓度较高,pH 在 5.6~5.9 之间. 该结果表明 pH 对秸秆厌氧发酵的甲烷产生及有机酸累积有重要影响. 同时,16S rRNA 基因克隆文库解析结果表明,甲烷产量高的复合菌系,发酵液 pH 维持在 7.0 左右,其微生物多样性较高,细菌文库的 OTU 数目在 7~13 之间,厚壁菌门、拟杆菌门、互养菌门及热袍菌门微生物为优势类群;而甲烷产量低的复合菌系,其发酵液 pH 偏酸性,微生物多样性较低,细菌文库的 OTU 数目分别为 6 和 7,厚壁菌门微生物占绝对优势(72%~76%). pH 是厌氧消化过程中的最重要影响因素,国内外学者在 pH 对有机物代谢过程、产物分布及微生物多样性的影响方面开展了大量研究. Yu 等^[27]利用上流式厌氧污泥床反应器研究了温度及 pH 对明胶废水酸化过程的影响,发现与发酵温度相比,pH 更显著影响明胶水解发酵类型及产物的分布. 叶凝芳等^[28]采用 PCR-DGGE 技术,研究了不同 pH 条件下蔬菜类有机垃圾厌氧发酵过程中的微生物多样性,发现 pH 为 5 时,微生物多样性较低,而 pH 为 7 和 8 时,微生物多样性较高. 微生物多样性的变化与发酵产物分布具有相关性, pH 通过影

表 3 秸秆厌氧降解复合菌系古菌 16S rRNA 基因克隆文库

Table 3 Archaeal 16S rRNA gene-based clone libraries from anaerobic corn stalk degrading microbial communities							
样品名称	OTU	克隆数 /克隆总数	登录号	所属纲	近源种（登录号）	功能	相似性 /%
菜地 腐殖土壤 (VS)	VS-A1	11/24	AB742119	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina barkeri</i> (AF028692)	Hydrogenotrophic/ acetitlastic	99
	VS-A2	7/24	AB742120	Methanobacteria	<i>Methanobacterium formicicum</i> (HQ591420)	Hydrogenotrophic	100
	VS-A3	5/24	AB742121	Methanobacteria	<i>Methanobacterium bryantii</i> (M59124)	Hydrogenotrophic	100
	VS-A4	1/24	AB742122	Methanobacteria	<i>Methanobacterium bryantii</i> (AF028688)	Hydrogenotrophic	99
腐烂 稻草土壤 (RS-S)	RL-A1	13/22	AB742123	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina horonobensis</i> (AB288262)	Aceticlastic	99
	RL-A2	6/22	AB742124	Methanobacteria	<i>Methanobacterium congolense</i> (NR_028175)	Hydrogenotrophic	99
	RL-A3	3/22	AB742125	Methanomicrobia	<i>Methanofollis ethanolicus</i> (NR_041669)	Hydrogenotrophic	98
陈年锯末下 土壤(SS)	SS-A1	4/11	AB742126	Methanobacteria	<i>Methanobacterium bryantii</i> (AF028688)	Hydrogenotrophic	99
	SS-A2	4/11	AB742127	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina barkeri</i> (AF028692)	Hydrogenotrophic/ acetitlastic	99
	SS-A3	3/11	AB742128	Methanobacteria	<i>Methanobacterium formicicum</i> (HQ591420)	Hydrogenotrophic	99
腐烂稻草土壤 (RS-S)	RS-S-A1	12/21	AB742129	Methanomicrobia	<i>Methanospirillum hungatei</i> (AB517987)	Hydrogenotrophic	99
	RS-S-A2	9/21	AB742130	Methanomicrobia	<i>Methanofollis liminatans</i> (NR_028254)	Hydrogenotrophic	99
玉米等号秆垛下 土壤(CS-S)	CS-S-A1	11/21	AB742131	Methanobacteria	<i>Methanobacterium congolense</i> (NR_028175)	Hydrogenotrophic	99
	CS-S-A2	8/21	AB742132	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina horonobensis</i> (AB288262)	Aceticlastic	99
	CS-S-A3	2/21	AB742133	Methanomicrobia	<i>Methanofollis ethanolicus</i> (NR_041669)	Hydrogenotrophic	98
麦秆草垛下土壤 (WS-S)	WS-S-A1	14/19	AB742134	Methanobacteria	<i>Methanobacterium congolense</i> (NR_028175)	Hydrogenotrophic	99
	WS-S-A2	5/19	AB742135	Methanomicrobia	<i>Methanofollis ethanolicus</i> (NR_041669)	Hydrogenotrophic	98
竹林土壤 (BS)	BS-A1	11/19	AB742136	Methanomicrobia	<i>Methanoregula boonei</i> 6A8 (DQ282124)	Hydrogenotrophic	98
	BS-A2	7/19	AB742137	Methanobacteria	<i>Methanobacterium congolense</i> (NR_028175)	Hydrogenotrophic	99
	BS-A3	1/19	AB742138	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina barkeri</i> (AF028692)	Hydrogenotrophic/ acetitlastic	99
杨树林水沟土壤 (HS)	HS-A1	8/12	AB742139	Methanomicrobia	<i>Methanofollis liminatans</i> (NR_028254)	Hydrogenotrophic	99
	HS-A2	4/12	AB742140	Methanomicrobia	<i>Methanosarcina horonobensis</i> (AB288262)	Aceticlastic	99

响微生物群落结构的变化最终影响发酵产物的分布.

通过 16S rRNA 基因克隆文库方法对复合菌系中细菌及古菌的群落结构进行了多样性解析,结果表明 8 种复合菌系的群落结构具有一定的相关性.在秸秆厌氧降解复合菌系中,厚壁菌门、拟杆菌门、互养菌门及热袍菌门为优势菌群.此外,还存在黏胶球形菌门、Armatimonadetes、绿弯菌门及放线菌门.目前,有关秸秆厌氧降解微生物群落结构的研究较少,但针对市政垃圾、畜禽粪便等厌氧处理过程中微生物群落多样性的研究常有报道. Martín-González 等^[29]考察了市政固体废物高温厌氧处理反应器中细菌的群落构成,发现厚壁菌门、拟杆菌门、互养菌门和热袍菌门是丰度较高的 4 个细菌类群. Liu 等^[30]对猪粪沼气工程中细菌与古菌的群落结构进行了解析,发现厚壁菌门、拟杆菌门和螺旋体门(Spirochaetes)是丰度最高的 3 个细菌类群. Klocke 等^[31]对厌氧降解青贮饲用甜菜产甲烷连续式搅拌罐反应器中的微生物群落进行了解析,发现厚壁菌门、 δ -变形菌纲(Delta-Proteobacteria)和拟杆菌门是 3 个最优势的细菌类群. 基于以上结果,说

明厚壁菌门及拟杆菌门在固体废弃物厌氧降解过程中发挥关键作用,需要进一步研究这些优势微生物菌群在沼气工程运行过程中的群落演替及生理功能. 古菌 16S rRNA 基因克隆文库结果表明,8 组秸秆厌氧降解复合菌系中古菌群落结构相似,氢营养型产甲烷菌是古菌文库中的优势类群. Klocke 等^[32]对厌氧消化青贮饲料两相反应器中的古菌群落结构进行了解析,发现 Methanosarcinales、Methanomicrobiales、Methanobacteriales 及一些系统未确定的类群为丰度较高的古菌类群,氢营养型产甲烷菌在反应器中占优势,这一结论与本研究结果一致.

4 结 论

(1)以具有木质纤维素降解能力的环境样品为接种物,玉米秸秆作为唯一碳源,构建了 8 组秸秆厌氧降解复合菌系,产气周期为 30 ~ 50 d,秸秆的 TS 去除率在 30% ~ 40%. 8 组复合菌系中,6 组甲烷产量较高,发酵终产物 pH 维持中性;另外 2 组的甲烷产量较少,但乙酸浓度较高,pH 在 5.6 ~ 5.9 之间,表明 pH 对秸秆厌氧发酵的甲烷产生及有机酸累积

有重要影响.

(2)根据克隆文库统计学分析,复合菌系中细菌的多样性较高,OTU 数目在 6~13 之间,而古菌在 2~4 之间. 16S rRNA 基因克隆文库分析表明,细菌主要属于 8 个门,其中厚壁菌门及拟杆菌门为主要优势菌群,这些门中的微生物主要为厌氧纤维素及糖类降解菌,在秸秆厌氧降解过程中发挥关键作用. 此外,克隆文库中还存在互养菌门、热袍菌门、黏胶球形菌门、Armatimonadetes、绿弯菌门及放线菌门. 8 组复合菌系中,甲烷产量高的复合菌系,发酵液 pH 在 7.0 左右,微生物多样性较高;而甲烷产量低的复合菌系,发酵液 pH 偏酸性,微生物多样性较低,其中厚壁菌门微生物占绝对优势.

(3)古菌克隆文库表明,古菌序列均属于甲烷微菌纲和甲烷杆菌纲,分别占古菌克隆总数的 61.1% 和 38.9%,氢营养型产甲烷菌是文库中的优势类群. 甲烷杆菌属、甲烷八叠球菌属、甲烷螺菌属、甲烷泡菌属和 *Methanoregula* 为古菌克隆文库中的主要种属.

参考文献:

- [1] 陈羚, 赵立欣, 董保成, 等. 我国秸秆沼气工程发展现状与趋势[J]. 可再生能源, 2010, **28**(3): 145-148.
- [2] Angenent L T, Karim K, Al-Dahhan M H, *et al.* Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater[J]. Trends in Biotechnology, 2004, **22**(9): 477-485.
- [3] Pretty J N, Ball A S, Li X Y, *et al.* The role of sustainable agriculture and renewable-resource management in reducing greenhouse-gas emissions and increasing sinks in China and India [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 2002, **360**(1797): 1741-1761.
- [4] 钟燕平. 秸秆沼气发酵工艺技术获重大突破[N]. 农民日报, 2009-07-16 (001).
- [5] Yuan X F, Li P P, Wang H, *et al.* Enhancing the anaerobic digestion of corn stalks using composite microbial pretreatment [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, **21**(7): 746-752.
- [6] 袁旭峰, 高瑞芳, 李培培, 等. 复合菌系 MC1 预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷效率的提高[J]. 农业工程学报, 2011, **27**(9): 266-270.
- [7] Mao S Y, Yang C F, Zhu W Y. Phylogenetic analysis of methanogens in the pig feces[J]. Current Microbiology, 2011, **62**(5): 1386-1389.
- [8] Peu P, Brugère H, Pourcher A M, *et al.* Dynamics of a pig slurry microbial community during anaerobic storage and management [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(5): 3578-3585.
- [9] Liu J J, Wu W X, Chen C J, *et al.* Prokaryotic diversity, composition structure, and phylogenetic analysis of microbial communities in leachate sediment ecosystems [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, **91**(6): 1659-1675.
- [10] Huang L N, Zhou H, Zhu S, *et al.* Phylogenetic diversity of bacteria in the leachate of a full-scale recirculating landfill[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, **50**(3): 175-183.
- [11] Yang C, Zhang W, Liu R H, *et al.* Phylogenetic diversity and metabolic potential of activated sludge microbial communities in full-scale wastewater treatment plants[J]. Environmental Science and Technology, 2011, **45**(17): 7408-7415.
- [12] Narihiro T, Terada T, Kikuchi K, *et al.* Comparative analysis of bacterial and archaeal communities in methanogenic sludge granules from upflow anaerobic sludge blanket reactors treating various food-processing, high-strength organic wastewaters [J]. Microbes and Environments, 2008, **24**(2): 88-96.
- [13] Roest K, Heilig H G H J, Smidt H, *et al.* Community analysis of a full-scale anaerobic bioreactor treating paper mill wastewater [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2005, **28**(2): 175-185.
- [14] Sekiguchi Y, Kamagata Y, Nakamura K, *et al.* *Syntrophothermus lipocalidus* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic, syntrophic, fatty-acid-oxidizing anaerobe which utilizes isobutyrate [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, **50**(2): 771-779.
- [15] AHAP (American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation). Standard methods for the examination of water and wastewater (20th ed.) [M]. Washington: AHAP American Public Health Association, 1998.
- [16] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, **74**(10): 3583-3597.
- [17] Zoetendal E G, Akkermans A D L, De Vos W M. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**(10): 3854-3859.
- [18] Weisburg W G, Barns S M, Pelletier D A, *et al.* 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study [J]. Journal of Bacteriology, 1991, **173**(2): 697-703.
- [19] Großkopf R, Janssen P H, Liesack W. Diversity and structure of the methanogenic community in anoxic rice paddy soil microcosms as examined by cultivation and direct 16S rRNA gene sequence retrieval [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**(3): 960-969.
- [20] Mosey F E, Fernandes X A. Patterns of hydrogen in biogas from the anaerobic digestion of milk-sugars [J]. Water Science and Technology, 1989, **21**(4-5): 187-196.
- [21] Rocchini D. Algorithmic foundation of spectral rarefaction for measuring satellite imagery heterogeneity at multiple spatial scales [J]. Sensors, 2009, **9**(1): 303-310.

- [22] Nishiyama T, Ueki A, Kaku N, *et al.* *Bacteroides graminisolvens* sp. nov., a xylanolytic anaerobe isolated from a methanogenic reactor treating cattle waste [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, **59**(8): 1901-1907.
- [23] Baena S, Fardeau M L, Labat M, *et al.* *Aminobacterium mobile* sp. nov., a new anaerobic amino-acid-degrading bacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, **50**(1): 259-264.
- [24] Garrity G M, Holt J G. Phylum all Euryarchaeota phy. Nov [A]. In: Boone D R, Castenholz R W, Garrity G M (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed.) [M]. New York: Springer-Verlag, 2001. 211-355.
- [25] Cuzin N, Ouattara A S, Labat M, *et al.* *Methanobacterium congolense* sp. nov., from a methanogenic fermentation of cassava peel[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, **51**(2): 489-493.
- [26] Shimizu S, Upadhye R, Ishijima Y, *et al.* *Methanosarcina horonobensis* sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from a deep subsurface Miocene formation[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, **61**(10): 2503-2507.
- [27] Yu H Q, Fang H H P. Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature [J]. *Water Research*, 2003, **37**(1): 55-66.
- [28] 叶凝芳, 何晶晶, 吕凡, 等. 厌氧发酵过程 pH 对微生物多样性和产物分布的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2007, **13**(2): 238-242.
- [29] Martín-González L, Colturato L F, Font X, *et al.* Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with FOG waste from a sewage treatment plant: Recovering a wasted methane potential and enhancing the biogas yield [J]. *Waste Management*, 2010, **30**(10): 1854-1859.
- [30] Liu F H, Wang S B, Zhang J S, *et al.* The structure of the bacterial and archaeal community in a biogas digester as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequencing analysis[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, **106**(3): 952-966.
- [31] Klocke M, Mähnert P, Mundt K, *et al.* Microbial community analysis of a biogas-producing completely stirred tank reactor fed continuously with fodder beet silage as mono-substrate [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2007, **30**(2): 139-151.
- [32] Klocke M, Nettmann E, Bergmann I, *et al.* Characterization of the methanogenic Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2008, **31**(3): 190-205.

CONTENTS

Water-soluble Inorganic Salts in Ambient Aerosol Particles in Tangshan	MIAO Hong-yan, WEN Tian-xue, WANG Li, <i>et al.</i> (1225)
Characterization of Water-soluble ions in PM _{2.5} at Dinghu Mount	ZHAO Ya-nan, WANG Yue-si, WEN Tian-xue, <i>et al.</i> (1232)
Characteristics of Mass Size Distributions of Water-Soluble Inorganic Ions During Summer and Winter Haze Days of Beijing	HUANG Yi-min, LIU Zi-rui, CHEN Hong, <i>et al.</i> (1236)
Characterising Seasonal Variation and Spatial Distribution of PM _{2.5} Species in Shenzhen	YUN Hui, HE Ling-yan, HUANG Xiao-feng, <i>et al.</i> (1245)
Characteristics of PAHs in the Atmosphere in Winter and Summer in the Urban and Suburban of Fuzhou	YI Zhi-gang, HUANG Xing-ran, BI Jun-qi, <i>et al.</i> (1252)
Seasonal Variation and Spatial Distribution of Typical Organochlorine Pesticides in the Atmosphere of Hexi Corridor and Lanzhou, Northwest China	DING Zhong-yuan, MAO Xiao-xuan, MA Zi-long, <i>et al.</i> (1258)
Simulation of Air Pollution Characteristics and Estimates of Environmental Capacity in Zibo City	XUE Wen-bo, WANG Jin-nan, YANG Jin-tian, <i>et al.</i> (1264)
Diurnal Changes in Greenhouse Gases at Water-Air Interface of Xiangxi River in Autumn and Their Influencing Factors	HUANG Wen-min, ZHU Kong-xian, ZHAO Wei, <i>et al.</i> (1270)
Influence of Human Activities on Groundwater Environment Based on Coefficient Variation Method	ZHAO Wei, LIN Jian, WANG Shu-fang, <i>et al.</i> (1277)
Nitrogen Non-Point Source Pollution Identification Based on ArcSWAT in Changhe River	DENG Ou-ping, SUN Si-yang, LÜ Jun (1284)
Study on the Content and Carbon Isotopic Composition of Water Dissolved Inorganic Carbon from Rivers Around Xi'an City	GUO Wei, LI Xiang-zhong, LIU Wei-guo (1291)
First Flush Effects of Storm Events of Baoxiang River in Lake Dianchi Watershed	GUO Huai-cheng, XIANG Nan, ZHOU Feng, <i>et al.</i> (1298)
Estimation of Releasing Fluxes of Sediment Phosphorous in the Three Gorges Reservoir During Late Autumn and Early Winter	NIU Feng-xia, XIAO Shang-bin, WANG Yu-chun, <i>et al.</i> (1308)
Distributions and Pollution Status of Heavy Metals in the Suspended Particles of the Estuaries and Coastal Area of Eastern Hainan	XIN Cheng-lin, REN Jing-ling, ZHANG Gui-ling, <i>et al.</i> (1315)
Environmental Characteristics of Heavy Metals in Surface Sediments from the Huanghe Estuary	WU Bin, SONG Jin-ming, LI Xue-gang (1324)
Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments of Zhalong Wetland	YE Hua-xiang, ZANG Shu-ying, ZHANG Li-juan, <i>et al.</i> (1333)
Ecological Risk Evaluation of Heavy Metals of the Typical Dredged Mud in Shanghai	TANG Qing-li, CHENG Jin-ping, GAO Hao-min, <i>et al.</i> (1340)
Pollution Characteristics of Heavy Metals in Sludge from Wastewater Treatment Plants and Sludge Disposal in Chinese Coastal Areas	ZHANG Can, CHEN Hong, YU Yi-xuan, <i>et al.</i> (1345)
Comparison of the Estrogenic Activity of Organic Compounds in Source Water and Finished Water from the Yangtze River and Taihu Lake in Certain Areas of Jiangsu Province	JIN Tao, LÜ Xue-min, ZENG Yi-fan, <i>et al.</i> (1351)
Occurrence and Fate of Phthalates in Wastewater Treatment Plants in Beijing, China	ZHOU Yi-qi, LIU Yun-xia (1357)
Research on Sludge Toxicity Caused by DMF Biodegradation and Toxicity Spatial Distribution in Sludge Flocs	HU Yuan-yuan, YANG Na, DING Yi, <i>et al.</i> (1363)
Study on the Ecological Risk of Wild Veined Rapa Whelk (<i>Rapana venosa</i>) Exposed to Organotin Compounds in Bohai Bay, China	AN Li-hui, ZHANG Yan-qiang, SONG Shuang-shuang, <i>et al.</i> (1369)
Bioaccumulation of Mercury in <i>Crassostrea</i> sp. Exposed to Waste Seawater Discharged from a Coal-fired Power Plant Equipped with a Seawater Flue-gas Desulfurization System	LIU Xi-yao, YUAN Dong-xing, CHEN Yao-jin (1374)
Effects of Imidazolium Chloride Ionic Liquids on the Acute Toxicity and Weight of Earthworm	HUANG Ruo-nan, FAN Jun-jie, TU Hong-zhi, <i>et al.</i> (1380)
Influencing Factors and Mechanism of Arsenic Removal During the Aluminum Coagulation Process	CHEN Gui-xia, HU Cheng-zhi, ZHU Ling-feng, <i>et al.</i> (1386)
Removal of DON in Micro-polluted Raw Water by Coagulation and Adsorption Using Activated Carbon	LIU Bing, YU Guo-zhong, GU Li, <i>et al.</i> (1392)
Mechanism of Catalytic Ozonation for the Degradation of Paracetamol by Activated Carbon	WANG Jia-yu, DAI Qi-zhou, YU Jie, <i>et al.</i> (1402)
Reductive Degradation of Chlorophenols in Aqueous Solution by Gamma Irradiation	PENG Yun-xia, HE Shi-jun, GONG Wen-qi, <i>et al.</i> (1411)
Effect of C/N Ratio on Nitrite Accumulation During Denitrification Process	YUAN Yi, HUANG Yong, DENG Hui-ping, <i>et al.</i> (1416)
Nitrous Oxide Emission During Denitrification for Activated Sludge Acclimated with Methanol as the Organic Carbon	ZHAI Xiao-feng, JIANG Cheng-ai, WU Guang-xue, <i>et al.</i> (1421)
Comparison and Optimization of Cellulose Carbon Source for Denitrification Filter	LI Bin, HAO Rui-xia (1428)
A Novel Municipal Wastewater Treating Process for Energy Production and Autotrophic Nitrogen Removal Based on ANAMMOX	LU Jian-cong, GAO Da-wen, SUN Xue-ying (1435)
Modeling and Dynamic Simulation of the Multimode Anaerobic/Anoxic/Aerobic Wastewater Treatment Process	ZHOU Zhen, WU Zhi-chao, WANG Zhi-wei, <i>et al.</i> (1442)
Comparing Microbial Community of High Ammonia Wastewater and Municipal Sewage in a Partial Nitrification System	ZHAO Zhi-rui, MA Bin, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (1448)
Analysis of the Fractal Structure of Activated Sludge Flocs	RUAN Xiao-dong, LIU Jun-xin (1457)
Rapid Cultivation of Aerobic Nitrifying Granular Sludge with Alternate Loading Method	SHEN Na, YANG Chang-zhu, PU Wen-hong, <i>et al.</i> (1464)
Acceleration of the Formation of Aerobic Granules in SBR by Inoculating Different Proportions and Different Diameters of Mature Aerobic Granules	XIONG Guang-cheng, PU Wen-hong, YANG Chang-zhu (1472)
Mechanisms of the Improvement in Dewaterability of Alkaline Fermented Sludge by Simultaneous Ammonium and Phosphate Recovery	ZHANG Chao, CHEN Yin-guang, GU Guo-wei (1479)
Use of Flow Cytometric Sorting to Assess the Diversity of Eukaryotic Picophytoplankton of Lakes	XIE Wei-wei, GONG Yi, WANG Zhi-xue, <i>et al.</i> (1485)
Allelopathy Effects of Ferulic Acid and Coumarin on <i>Microcystis aeruginosa</i>	GUO Ya-li, FU Hai-yan, HUANG Guo-he, <i>et al.</i> (1492)
Spatiotemporal Characteristics of Zooplankton Community Structure and Diversity in the Strong Temperature Increment Seawaters near Guohua Power Plant in Xiangshan Bay	ZHU Yi-feng, HUANG Jian-yi, LIN Xia, <i>et al.</i> (1498)
Screening of Epoxy-degrading Halophiles and Their Application in High-salt Wastewater Treatment	WANG Jin, XU Zhen, PENG Shu-chuan, <i>et al.</i> (1510)
Biodegradation of Decabromodiphenyl Ether by Intracellular Enzyme Obtained from <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SHI Guang-yu, YIN Hua, YE Jin-shao, <i>et al.</i> (1517)
Influence of Yeast Extract on the Fermentation of Glucose by the Demulsifying Strain <i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1	HUANG Xiang-feng, WANG Kai, LI Ming-xia, <i>et al.</i> (1524)
Phylogenetic Analysis of Methanogenic Corn Stalk Degrading Microbial Communities	QIAO Jiang-tao, GUO Rong-bo, YUAN Xian-zheng, <i>et al.</i> (1531)
Inhibition of Methanogenium by Erythromycin and Its Domestation	LIU Zi-xu, SUN Li-ping, LI Yu-you, <i>et al.</i> (1540)
Sand Box Study on Fingering Front Morphology for NAPLs Infiltrated in Homogeneous Porous Media	YANG Bin, LI Hui-ying, WU Bin, <i>et al.</i> (1545)
Vertical Distribution and Possible Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Sewage Area Soil	YAO Lin-lin, ZHANG Cai-xiang, LI Jia-le, <i>et al.</i> (1553)
Characteristic and Evaluation of Soil Pollution by Heavy Metal in Different Functional Zones of Hohhot	GUO Wei, SUN Wen-hui, ZHAO Ren-xin, <i>et al.</i> (1561)
Distribution Characteristics of Rice Photosynthesized Carbon in Soil Aggregates of Different Size and Density	LI Miao-miao, NIE San-an, CHEN Xiao-juan, <i>et al.</i> (1568)
Profile of Soil Microbial Biomass Carbon in Different Types of Subtropical Paddy Soils	SHENG Hao, ZHOU Ping, YUAN Hong, <i>et al.</i> (1576)
Effect of Composting Organic Fertilizer Supplies on Hexachlorobenzene Dechlorination in Paddy Soils	LIU Cui-ying, JIANG Xin (1583)
Remediation of Cu-Pb-Contaminated Loess Soil by Leaching with Chelating Agent and Biosurfactant	LIU Xia, WANG Jian-tao, ZHANG Meng, <i>et al.</i> (1590)
Effects of Different Temperatures Biochar on Adsorption of Pb(II) on Variable Charge Soils	JIANG Tian-yu, JIANG Jun, XU Ren-kou, <i>et al.</i> (1598)
Preparation and Performance Investigation of <i>Trichoderma viride</i> -Modified Corn Stalk as Sorbent Materials for Oil Spills	LAN Zhou-lin, PENG Dan, GUO Chu-ling, <i>et al.</i> (1605)
Removal of PO ₄ ³⁻ from Solution, Wastewater and Seawater by Modification and Granulation Magnesium and Aluminium Layered Double Hydroxide	XING Kun, WANG Hai-zeng (1611)
Influence of Carboxylic Carbon Nanotube Supported Platinum Catalyst on Cathode Oxygen Reduction Performance of MFC	TU Li-xing, ZHU Neng-wu, WU Ping-xiao, <i>et al.</i> (1617)
Flue Gas Desulfurization by a Novel Biomass Activated Carbon	LIU Jie-ling, TANG Zheng-guang, CHEN Jie, <i>et al.</i> (1623)
Method for Grading Industrial Sectors in Energy Consumption and Its Application	MAO Jian-su, MA Lan (1628)
Dynamics and Environmental Load of Food Carbon Consumption During Urbanization: A Case Study of Xiamen City, China	YAN Zhen, CUI Sheng-hui, LI Gui-lin, <i>et al.</i> (1636)

《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4月15日 34卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 4 Apr. 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