

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第1期

Vol.37 No.1

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

碳质大气颗粒物的扫描质子微探针分析	包良满, 刘江峰, 雷前涛, 李晓林, 张桂林, 李燕 (1)
中国8个城市大气多溴联苯醚的污染特征及人体暴露水平	林海涛, 李琦路, 张干, 李军 (10)
广州城区秋冬季大气颗粒物中 WSOC 吸光性研究	黄欢, 毕新慧, 彭龙, 王新明, 盛国英, 傅家谟 (16)
南京地区大气 PM _{2.5} 潜在污染源硫碳同位素组成特征	石磊, 郭照冰, 姜文娟, 芮茂凌, 曾钢 (22)
青奥会前后南京 PM _{2.5} 重金属污染水平与健康风险评估	张恒, 周自强, 赵海燕, 熊正琴 (28)
南昌市秋季大气 PM _{2.5} 中金属元素富集特征及来源分析	林晓辉, 赵阳, 樊孝俊, 胡恭任, 于瑞莲 (35)
南京北郊冬春季大气能见度影响因子贡献研究	马佳, 于兴娜, 安俊琳, 朱彬, 于超, 朱俊, 夏航 (41)
边界层低空急流导致北京 PM _{2.5} 迅速下降及其形成机制的个例分析	廖晓农, 孙兆彬, 何娜, 赵普生, 马志强 (51)
电厂燃煤烟尘 PM _{2.5} 中化学组分特征	王毓秀, 彭林, 王燕, 张腾, 刘海利, 牟玲 (60)
2014 年 APEC 期间北京市空气质量改善分析	程念亮, 李云婷, 张大伟, 陈添, 孙峰, 李令军, 李金香, 周一鸣, 杨妍妍, 姜磊 (66)
APEC 会议期间北京机动车排放控制效果评估	樊守彬, 田灵娣, 张东旭, 郭津津 (74)
晋城城市扬尘化学组成特征及来源解析	王燕, 彭林, 李丽娟, 王毓秀, 张腾, 刘海利, 牟玲 (82)
北京市混凝土搅拌站颗粒物排放特征研究	薛亦峰, 周震, 钟连红, 闫静, 曲松, 黄玉虎, 田贺忠, 潘涛 (88)
长株潭地区人为源氨排放清单及分布特征	尤翔宇, 刘湛, 张青梅, 漆燕, 向仁军, 苏艳蓉 (94)
长春城市水体夏秋季温室气体排放特征	温志丹, 宋开山, 赵莹, 邵田田, 李思佳 (102)
查干湖和新立城水库秋季水体悬浮颗粒物和 CDOM 吸收特性	李思佳, 宋开山, 赵莹, 穆光熠, 邵田田, 马建行 (112)
不同地质背景下河流水化学特征及影响因素研究: 以广西大溶江、灵渠流域为例	孙平安, 于爽, 莫付珍, 何师意, 陆菊芳, 原雅琼 (123)
大渡河老鹰岩河段的水生生物群落结构及水质评价	黄允优, 曾燊, 刘守江, 马永红, 胥晓 (132)
西湖龙泓洞流域暴雨径流氮磷流失特征	杨帆, 蒋铁峰, 王翠翠, 黄晓楠, 吴芝菱, 陈琳 (141)
合肥城郊典型农业小流域土壤磷形态及淋失风险分析	樊慧慧, 李如忠, 裴婷婷, 张瑞钢 (148)
辽河入海口及城市段柱状沉积物金属元素含量及分布特征	王维斐, 周俊丽, 裴淑玮, 刘征涛 (156)
水源水库沉积物中营养元素分布特征与污染评价	黄廷林, 刘飞, 史建超 (166)
低分子量有机酸对三峡水库消落区土壤中汞赋存形态及其活性的影响	游蕊, 梁丽, 覃蔡清, 邓吟, 王定勇 (173)
北京市凉水河表层沉积物中砷含量及其赋存形态	王馨慧, 单保庆, 唐文忠, 张超, 王闯 (180)
紫外辐射对小球藻混凝效果作用途径探讨	王文东, 张轲, 许洪斌, 刘国旗 (187)
二氧化钛光催化氧化阿散酸	许文泽, 杨春风, 李静, 李建斐, 刘会芳, 胡承志 (193)
紫外光照下盐酸环丙沙星的光解性能	段伦超, 王凤贺, 赵斌, 陈亚君 (198)
氢氧化钡-天然沸石复合材料对水中低浓度磷酸盐的吸附作用	林建伟, 王虹, 詹艳慧, 陈冬梅 (208)
纳米 TiO ₂ 吸附 HgCl ₂ 水溶液中 Hg(II)	周雄, 张金洋, 王定勇, 覃蔡清, 徐凤, 罗程钟, 杨熹 (220)
好氧生化污水处理厂化学品暴露预测模型构建	周林军, 刘济宁, 石利利, 冯洁, 徐炎华 (228)
3 种苯胺类化学品在好氧污水处理模拟系统中的降解特性	古文, 周林军, 刘济宁, 陈国松, 石利利, 徐炎华 (240)
Fe(II) 活化过硫酸钠深度处理工业园区污水处理厂出水	朱松梅, 周振, 顾凌云, 蒋海涛, 任佳慧, 王罗春 (247)
长江三角洲区域表土中多环芳烃的近期分布与来源	李静雅, 吴迪, 许芸松, 李向东, 王喜龙, 曾超华, 付晓芳, 刘文新 (253)
直链烷基苯指示城市化过程初步研究	徐特, 曾辉, 倪宏刚 (262)
龙口煤矿区土壤重金属污染评价与空间分布特征	刘硕, 吴泉源, 曹学江, 王集宁, 张龙龙, 蔡东全, 周历媛, 刘娜 (270)
水分减少与增温处理对冬小麦生物量和土壤呼吸的影响	吴杨周, 陈健, 胡正华, 谢燕, 陈书涛, 张雪松, 申双和, 陈曦 (280)
中水浇灌对土壤重金属污染的影响	周益奇, 刘云霞, 傅慧敏 (288)
生物质炭对果园土壤团聚体分布及保水性的影响	安艳, 姬强, 赵世翔, 王旭东 (293)
3 种工业有机废弃物对铅锌尾矿生物化学性质及植物生长的影响	彭禧柱, 杨胜香, 李凤梅, 曹建兵, 彭清静 (301)
丛枝菌根真菌对镉污染土壤上玉米生长和镉吸收的影响	王芳, 郭伟, 马朋坤, 潘亮, 张君 (309)
珠江三角洲典型区域农产品中邻苯二甲酸酯 (PAEs) 污染分布特征	李彬, 吴山, 梁金明, 邓杰帆, 王珂, 梁文立, 曾彩明, 彭四清, 张天彬, 杨国义 (317)
三峡库区重金属的生物富集、生物放大及其生物因子的影响	韦丽丽, 周琼, 谢从新, 王军, 李君 (325)
起源喀斯特溶洞湿地稻田与旱地土壤的微生物数量、生物量及土壤酶活性比较	靳振江, 曾鸿鹄, 李强, 程亚平, 汤华峰, 李敏, 黄炳富 (335)
序批式生物反应器填埋场脱氮微生物多样性分析	李卫华, 孙英杰, 刘子梁, 马强, 杨强 (342)
铁氮掺杂碳纳米管/纤维复合物制备及其催化氧还原的效果	杨婷婷, 朱能武, 芦昱, 吴平霄 (350)
运行微生物燃料电池减排稻田土壤甲烷的研究	邓欢, 蔡旅程, 姜允斌, 钟文辉 (359)
通风策略对污泥生物干化过程中含氮气体和甲烷排放的影响	齐鲁, 魏源送, 张俊亚, 赵晨阳, 才兴, 张媛丽, 邵春岩, 李洪枚 (366)
高温生物滤塔处理污泥干化尾气的研究	陈文和, 邓明佳, 罗辉, 丁文杰, 李琳, 林坚, 刘俊新 (377)
应用 FCM-qPCR 方法定量检测水中常见病原体	王明星, 柏耀辉, 梁金松, 霍旻, 杨婷婷, 袁林江 (384)
乙腈和正己烷对环境特征污染物免疫传感分析的影响	娄雪宁, 周丽萍, 宋丹, 杨荣, 龙峰 (391)
废弃菌糠资源化过程中的成分变化规律及其环境影响	楼子墨, 王卓行, 周晓馨, 傅瑞琪, 刘榆, 徐新华 (397)

序批式生物反应器填埋场脱氮微生物多样性分析

李卫华, 孙英杰*, 刘子梁, 马强, 杨强

(青岛理工大学环境与市政工程学院, 青岛 266033)

摘要: 为探究序批式生物反应器填埋场脱氮过程中的微生物作用机制, 本研究采用建立脱氮功能基因(*amoA*、*nosZ*)克隆文库及 PCR-RFLP 技术对序批式生物反应器填埋场垃圾稳定化后期的主要脱氮功能微生物多样性进行分析。结果表明, 矿化垃圾反应器中检测到的氨氧化细菌存在高度多样性, 大部分为未知类群, 且均为不可培养菌或未经分离获得的细菌, 经系统发育树分析系统内氨氧化细菌以 β -变形菌门中的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*) 为主; 新鲜垃圾反应器中反硝化细菌种群丰富, 主要有 β -变形菌纲中的陶厄氏菌属(*Thauera*) 和硫杆菌属(*Thiobacillus*)。 *Thauera* 属在好氧条件下具有反硝化特性, *Thiobacillus* 属中的脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*) 是一种硫自养反硝化菌, 可见新鲜垃圾单元稳定化后期以好氧反硝化和自养反硝化的脱氮途径为主。此外文库中检测到的一部分反硝化细菌可能归属于 α -变形菌纲的慢生根瘤菌科(*Bradyrhizobiaceae*)。

关键词: 序批式生物反应器填埋场; PCR-RFLP; *amoA* 基因; *nosZ* 基因; 微生物多样性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)01-0342-08 DOI: 10.13227/j.hjks.2016.01.044

Analysis on Diversity of Denitrifying Microorganisms in Sequential Batch Bioreactor Landfill

LI Wei-hua, SUN Ying-jie*, LIU Zi-liang, MA Qiang, YANG Qiang

(School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao Technological University, Qingdao 266033, China)

Abstract: A denitrification functional microorganism gene clone library (*amoA*, *nosZ*) and the PCR-RFLP technology was constructed to investigate the microbial diversity of denitrifying microorganisms in the late period of stabilization of sequential batch bioreactor landfill. The results indicated that: the bacterial diversity of ammonia oxidizing bacteria in the aged refuse reactor was very high, and most of them were unknown groups, also, all bacteria were unculturable or had not been isolated. The phylogenetic analysis suggested that the dominant ammonia oxidizing bacteria were presumably *Nitrosomonas* of β -Proteobacteria. The diversity of denitrifying bacteria in fresh refuse reactor was abundant, which mainly included *Thauera* and *Thiobacillus* of β -Proteobacteria. As *Thauera* sp. has the denitrification characteristics under the condition of aerobic while *Thiobacillus denitrificans* has the autotrophic denitrification characteristics, it was speculated that aerobic denitrification and autotrophic denitrification might be the main pathways for nitrogen removal in the fresh refuse reactor at the late period of stabilization. Additionally, another group in the gene clone library of denitrifying bacteria may be classified as *Bradyrhizobiaceae* of α -Proteobacteria.

Key words: sequential batch bioreactor landfill; PCR-RFLP; *amoA* gene; *nosZ* gene; microbial diversity

据统计^[1], 我国 2013 年城市生活垃圾卫生填埋量约 10 492.7 万 t, 占生活垃圾总清运量的 60.87%, 可见填埋仍然是我国垃圾处理的主要方式。传统卫生填埋因存在垃圾稳定化时间长, 渗滤液难处理等难题, 相应发展而来了生物反应器填埋技术^[2~6]。生物反应器填埋场中的序批式生物反应器填埋场通过新老填埋单元间渗滤液的交叉回灌实现了渗滤液的原位反硝化-异位硝化脱氮, 并取得了良好的脱氮效果^[7]。目前关于序批式生物反应器填埋场的研究多集中在垃圾稳定化、渗滤液脱氮、填埋气产生方面^[8~11]。由于能够加速垃圾稳定化和实现渗滤液原位脱氮, 序批式生物反应器填埋技术越来越受到重视, 在填埋场构造和功能设计, 有机物降解以及稳定特性和机制等方面人们做了很多研究。但是, 关于

序批式生物反应器填埋场脱氮功能菌群多样性的研究鲜见报道。微生物是垃圾稳定化过程的主体, 生活垃圾在各种微生物的综合作用下发生降解, 垃圾填埋体经过复杂的降解历程和内环境的改变, 填埋体内的微生物群落结构也经历同步的变化, 至垃圾稳定化后期, 垃圾填埋体内的功能微生物群落结构也趋于稳定。在生物反应器填埋场系统内主要发生的氮循环过程有硝化、反硝化作用。氨单加氧酶(AMO)和氧化亚氮还原酶(Nos)分别是公认的微生物硝化、反硝化过程中重要的功能酶。因此, 编码

收稿日期: 2015-06-28; 修订日期: 2015-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(51178229, 51378268)

作者简介: 李卫华(1989~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为固废处置与资源化, E-mail: liweihua9886@163.com

* 通讯联系人, E-mail: yjsun1971@126.com

这两种酶的 *amoA* 基因和 *nosZ* 基因的序列多态性被广泛用作功能标志基因来研究环境样品中硝化细菌和反硝化细菌的群落多样性^[12,13]。近年来,分子生物学技术已被广泛应用于各种环境样品微生物的研究中^[14~17],而利用“PCR-RFLP-高通量测序”技术对序批式生物反应器填埋场脱氮功能菌群多样性的研究报道较少。

本研究通过建立与脱氮功能微生物紧密相关的功能基因(*amoA*、*nosZ*)克隆文库,分析序批式生物反应器填埋场垃圾稳定化后期的主要脱氮功能微生物的群落结构组成情况,通过深入了解垃圾稳定过程中主要脱氮功能微生物的多样性,探讨反应器可能存在的脱氮途径,以期对序批式生物反应器填埋场的运行提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

固体垃圾样品分别取自本课题组前期序批式生物反应器填埋场模拟装置^[18]内填埋垃圾稳定化后期的矿化垃圾(1号)、新鲜垃圾(2号),取样时从上、中、下这3个取样口各取约3~5 g 填埋垃圾混合提取样品基因组。1号样品基因组用于构建 *amoA* 克隆文库;2号样品基因组用于构建 *nosZ* 克隆文库。

1.2 样品总 DNA 的提取

采用 E. Z. N. A.™ 土壤 DNA 提取试剂盒(OMEGA)的方法,获得纯度和含量较高的 DNA 模板,可进一步供 PCR 扩增使用。

1.3 目的基因片段的 PCR 扩增

对提取的总 DNA 模板(1号、2号)分别采用 *amoA*-1F (5'-GGGTTTCTACTGGTGGT-3')/*amoA*-2R(5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC-3')^[19] 和 *nosZ*-F (5'-CGYTGTTCMTGACAGCCAG-3')/*nosZ*1622R (5'-CGSACCTTSTTGCCSTYGCG-3')^[20] 引物对进行功能基因特异性扩增。

PCR 反应采用 PCR 仪(Blue marlin 公司 TC-960F 型)进行。PCR 体系为 50 μL,包括:2 × Mix (25 μL)、ddH₂O (19 μL)、*amoA*-1F/*nosZ*-F (2 μL)、*amoA*-2R/*nosZ*1622R (2 μL)、DNA (2 μL)。

amoA 基因的 PCR 程序为:95℃ 预变性 15 min、94℃ 变性 60 s、57℃ 退火 45 s、72℃ 延伸 45 s、完成 36 个循环;72℃ 延伸 10 min;4℃ 保存。

nosZ 基因的 PCR 程序为:94℃ 预变性 10 min、94℃ 变性 45 s、60℃ 退火 45 s、72℃ 延伸 90 s、完成

36 个循环;72℃ 延伸 10 min;4℃ 保存。

通过低熔点琼脂糖凝胶电泳观察 PCR 结果,使用 E. Z. N. A 琼脂糖凝胶回收纯化试剂盒(OMEGA)进行目的基因的回收、纯化。

1.4 克隆文库的建立与筛选

纯化后 PCR 产物通过 T4 连接酶克隆试剂盒(Thermo)连接到 Ptz57R/T 载体,转化入 TOP10 大肠杆菌感受态细胞。在涂有 X-gal 和 IPTG 的氨苄霉素的 LB 平板上进行蓝白斑筛选。随机挑取阳性克隆子,采用菌体直接扩增方式,采用 Ptz57R/T Vector 通用引物 M13/PUC R 和 M13/PUC F 的 PCR 扩增进行插入片段的筛选,重新获得目标基因。通过 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳观察 PCR 结果。

1.5 阳性克隆子的 PCR-RFLP 分析

用 4 碱基限制性核酸内切酶 *Hha* I 对各克隆子重组质粒 PCR 得到的 *amoA* 和 *nosZ* 基因片段进行酶切反应,经电泳、凝胶成像得到酶切图谱,并对凝胶电泳图谱进行分析,将每个酶切分型结果作为一个 OTU (operational taxonomic unit)。

1.6 测序与系统发育树的构建

选取 PCR-RFLP 筛选出的阳性克隆子,送上海桑尼生物科技有限公司进行序列测定。测序所得序列通过 BLAST 程序在 GenBank 数据库中进行相似细菌序列搜索,得到与测序结果亲缘关系最近的菌,并确定其进化地位与所属类别。用 Clustal-X 进行序列比对^[21],利用 MEGA 程序中的邻位相接法(Neighbor-joining Method)构建系统发育树。拓扑分析为 1 000 次重复取样结果,生成的发育树采用 Treeview 重建。

2 结果与讨论

2.1 基因提取及 PCR 扩增

生活垃圾化学组分复杂,能否成功提取目标 DNA 片段及提取效率的高低直接影响后续 RFLP 分析。从样品中提取的 DNA 通过琼脂糖凝胶电泳检验,得到的条带亮度和清晰度较好,没有出现拖尾现象,说明所提取的基因组纯度较高,符合高通量测序对样品的要求。以样品总 DNA 为模板,分别进行 *amoA* 和 *nosZ* 基因的特异性扩增。为减少 PCR 反应的随机误差,对模板进行平行 PCR 反应,经 PCR 反应,获得了样品中 *amoA* 和 *nosZ* 功能基因目的片段,长度分别约 490 bp 和 470 bp,且亮度和纯度都比较好。*amoA* 基因的扩增未出现非特异性条带,*nosZ* 基因虽有部分非特异性条带,但不影响下一步纯化,且

阴性对照均未有产物出现,说明 PCR 扩增效果良好,可进行下一步纯化步骤. 将所有的扩增产物电泳目的条带全部回收纯化进行下一步研究.

2.2 克隆文库的构建

经蓝白斑筛选,*amoA* 及 *nosZ* 文库分别得到 160 个和 70 个白色克隆子,采用菌体直接扩增的方式进行 PCR 以验证插入片段的大小,PCR 产物通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(图 1). 从图 1 中 *amoA* 电泳图可以看出,菌落 PCR 产物片段长度在 600 bp 左

右,整体来看,电泳图谱条带均一旦信号较强,但也有部分菌落 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳条带信号较弱且不均一,同时也存在一些假阳性克隆,对于此类克隆子,应予以舍弃. 经菌落 PCR 排除后,共得到转化成功的重组克隆子 146 个,阳性率 91.3%. 从图 1 中 *nosZ* 电泳图可以看出,菌落 PCR 产物片段长度也在 600 bp 左右,经菌落 PCR 排除假阳性克隆后,共得到转化成功的重组克隆子 60 个,阳性率 85.7%.

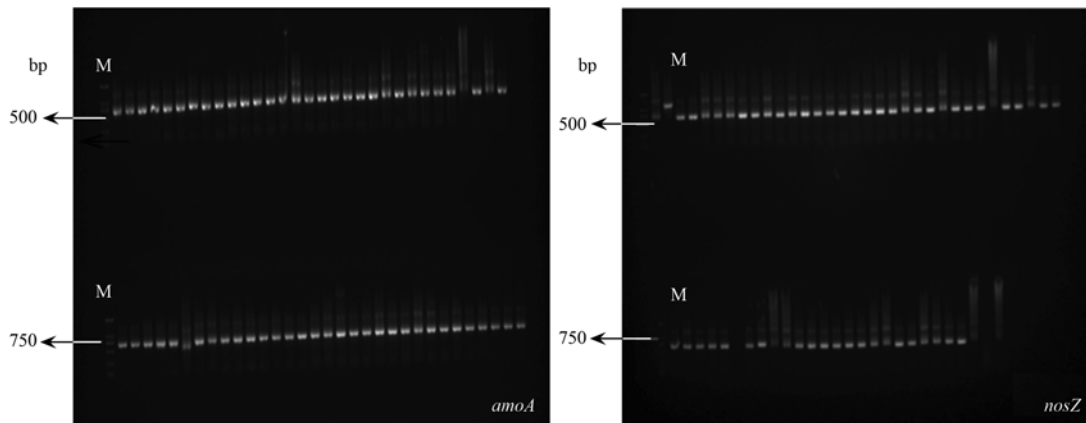


图 1 *amoA*、*nosZ* 克隆文库部分菌落 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis images for part of PCR products of clone libraries of *amoA* and *nosZ* genes

2.3 限制性内切酶酶切

amoA、*nosZ* 克隆文库部分菌落 PCR 产物酶切产物琼脂糖凝胶电泳图谱如图 2 所示. 从中可以看出,*amoA* 克隆文库经酶切之后,酶切产物凝胶电泳条带较丰富,且位置差异性较大,能够达到区分不同微生物的目的,而 *nosZ* 克隆文库经酶切之后(为操作方便,经菌落 PCR 验证转化失败的重组质粒 PCR 产物仍进行酶切,只是不进行酶切分型结果统计),酶

切产物凝胶产物电泳图谱条带位置虽不明显,分析可能是由于电泳条件或拍照条件不佳造成,但仍可以区分不同基因型的微生物. 经过酶切 RFLP 分型后,*amoA* 克隆文库 146 个克隆子被分为 20 个 OTUs,*nosZ* 克隆文库 60 个克隆子被分为 13 个 OTUs.

2.4 克隆文库基因序列和系统发育学分析

2.4.1 克隆文库种群多样性分析

常用的表征微生物多样性的指数有香农多样性

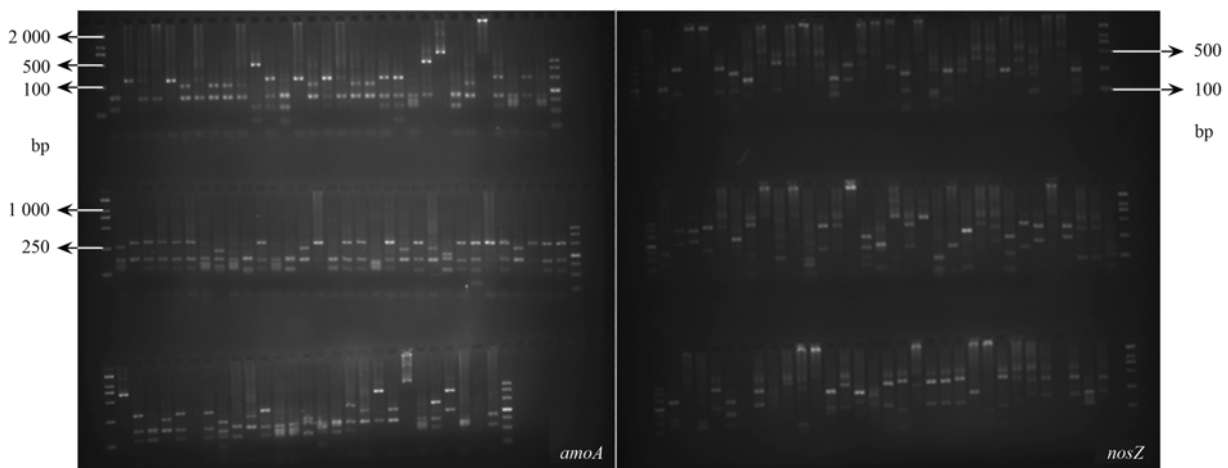


图 2 *amoA*、*nosZ* 克隆文库部分菌落 PCR 产物酶切图谱

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of part of the restriction fragment length profiles of PCR products of clone libraries of *amoA* and *nosZ* genes

指数 (Shannon diversity index, H')、辛普森指数 (Simpson index, D)、丰富度 (species richness, R) 和均匀度 (species evenness, E), 这些微生物多样性指数均能从不同侧面反映克隆文库微生物多样性^[21] (表 1). 此外, 覆盖度^[22] (coverage value, C) 理论上体现样品中微生物的覆盖程度, 其数值越大, 所构建的克隆文库包含的样品中的微生物种类就越多, 因此越能真实地反映该样品中微生物多样性特征.

表 1 克隆文库多样性指数表
Table 1 Diversity index of the clone library

克隆文库类型	总克隆子数/个	OTUs/个	$C/\%$	H'	D	$E/\%$	R
<i>amoA</i>	146	20	95	2.44	0.89	81	3.81
<i>nosZ</i>	60	13	95	1.98	0.78	76	2.93

Kemp 等^[23]研究发现即使再大的克隆文库都不能囊括环境样品中的所有微生物, 理论上讲, 当覆盖度超过 80% 即可认为该克隆文库具有较高的库容. 从表 1 可以看出, 两个基因的克隆文库覆盖率都在 90% 以上, 说明构建的基因文库覆盖了研究环境中大部分的微生物, 能够较为准确地反映矿化垃圾和新鲜垃圾反应器中微生物的群落结构和多样性特征. 均匀度 (species evenness, E) 是指生境中全部物种个体数目的分配状况, 它反映的是各物种个体数目分配的均匀程度, 本研究中 *amoA* 与 *nosZ* 的均

匀度指数分别为 81%、76%, 说明矿化垃圾和新鲜垃圾系统内细菌分布相对均匀, 优势物种种类和数量不多.

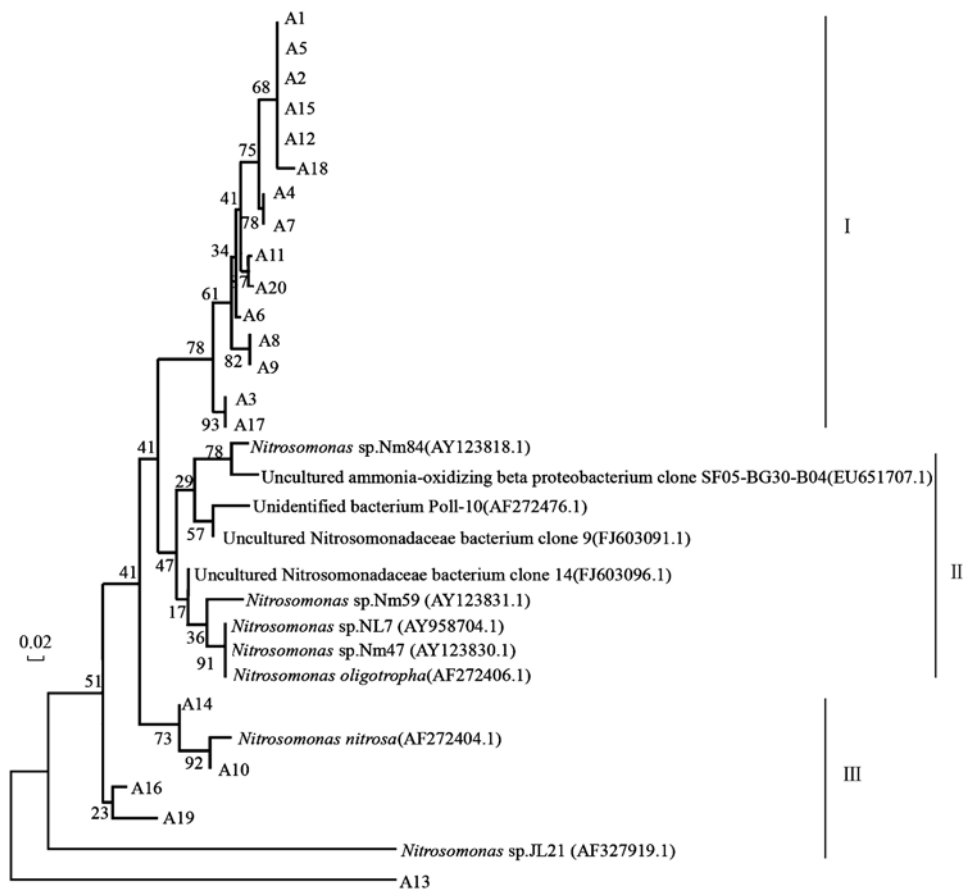
2.4.2 *amoA* 基因序列比对结果和系统发育分析

将 *amoA* 基因文库经 RFLP 分析获得的 20 个 OTUs 中各选择一个对应的克隆子进行序列测定, 采用 BLAST 软件对所获得克隆子序列与 GenBank 中的已知序列相似性进行了比对 (表 2), 利用 Mega 5.05 软件构建系统进化树 (图 3). 一般来说, 当微生物的 16S rDNA 同源性达到 97% 或以上时, 可以

表 2 *amoA* 克隆文库基因测序比对结果

Table 2 Inventory of sequence alignment for clone library of *amoA* gene

OTU 编号	GenBank 中的相似菌株	分类地位及来源	相似度 /%	登录号	克隆子所占百分比/%
A1	Uncultured bacterium clone BB-6	Bacteria; environmental samples	98	KF878009.1	0.68
A2	Uncultured bacterium clone DU42	Bacteria; environmental samples	100	KF619241.1	2.74
A3	Uncultured bacterium clone DU1	Bacteria; environmental samples	99	KF619200.1	11.64
A4	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone LSTE-AOB19	Bacteria; environmental samples	99	KC773946.1	0.68
A5	Uncultured bacterium clone 3b34	Bacteria; environmental samples	99	KJ093879.1	19.18
A6	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone BXA-107	Bacteria; environmental samples	99	EU624936.1	0.68
A7	Uncultured bacterium clone 5b33	Bacteria; environmental samples	99	KJ093955.1	0.68
A8	Uncultured bacterium clone 3b30	Bacteria; environmental samples	98	KJ093875.1	6.85
A9	Uncultured bacterium clone 3b30	Bacteria; environmental samples	99	KJ093875.1	0.68
A10	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone L2wAMO34	Bacteria; environmental samples	100	JX157953.1	1.37
A11	Uncultured bacterium clone 3b7	Bacteria; environmental samples	99	KJ093852.1	1.37
A12	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone NPM-393	Bacteria; environmental samples	99	HQ875323.1	4.79
A13	Uncultured bacterium clone LZBBC-AOB-BC1	Bacteria; environmental samples	99	KF179484.1	2.05
A14	Uncultured bacterium clone BNamo30	Bacteria; environmental samples	99	HQ190104.1	8.90
A15	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone NPM-454	Bacteria; environmental samples	99	HQ875320.1	15.75
A16	Uncultured bacterium clone SNAD_amoA_9	Bacteria; environmental samples	99	KC569477.1	0.68
A17	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone J40120839_B1B_22_M13F	Bacteria; environmental samples	99	KJ497772.1	12.33
A18	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone lj-aob14	Bacteria; environmental samples	99	KJ081658.1	6.85
A19	Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp. clone NT5	Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Nitrosomonadales; Nitrosomonadaceae; <i>Nitrosomonas</i>	98	EU221321.1	1.37
A20	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone AOB-HM3-83	Bacteria; environmental samples	96	JX140558.1	0.68



采用 Neighbor-joining 法建树,本文中的参照细菌序列引自 GenBank 数据库,括号中的数字代表提交序列号,分支节点上的数字表示每1 000次 bootstrap 分析所支持的次数,线段表示2%序列差异的分支长度

图3 *amoA* 基因的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *amoA* gene

将这些菌划为一个种;同源性达到94%或以上时,可以将这些菌划为一个属^[24]。

根据克隆子数占克隆子总数的比例,可划分菌群的优势种群和次要优势种群。克隆子百分比大于5%的 OTUs 为该菌群的优势种群^[25],对照表2,含 *amoA* 基因的菌群中共有7个优势菌群(A3、A5、A8、A14、A15、A17和A18)。A8和A9两基因型通过序列比对之后,与 Uncultured bacterium clone 3b30 在核苷酸水平上的相似度分别为98%和99%,这可能是由于TA克隆无法控制外源片段的插入方向,导致两个重组子的插入序列正好相反,造成酶切条带的不同。此外,除 OTU-A19 中的2个克隆子经比对后与 Uncultured *Nitrosomonas* sp. clone NT5 的相似度为98%,归属于 β -变形菌纲(Proteobacteria)的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)外,文库中其他 OTUs 的克隆子在 GenBank 中未找到与其相似的已知细菌序列,属于未知类群。说明矿化垃圾中仍有许多未经纯培养得到分离鉴定的物种,因此不能得

知这些基因序列所属细菌的具体分类信息。本研究建立的 *amoA* 克隆文库中大部分的克隆子都属于未鉴定的细菌,可能是由于目前对垃圾填埋场内部微生物群落研究较少,也说明垃圾填埋场内部存在大量微生物新类群。

从图3可知,克隆文库中 *amoA* 基因划分为3个簇,第I簇最大,除A10、A13、A14、A16和A19这5个 OTUs 外,其余的15个 OTUs 都在第I簇,均为不可培养或未经分离获得的未知氨氧化细菌类群,且彼此间亲缘关系很近,可见它们均在同一分类地位,如A1、A5、A2、A15、A12细菌从进化树分析,亲缘关系很近,若考虑测序时碱基对误差,它们可能属于同一未知氨氧化细菌。第II簇中的序列都为 GenBank 中已鉴定出来的氨氧化细菌基因,并没有包括本研究中的 OTUs,这说明本研究建立的文库中氨氧化细菌与已鉴定的氨氧化细菌进化关系较远,可以推断出垃圾填埋系统内氨氧化细菌群落可能与其他环境中氨氧化细菌种群略有不同。A10、

A14、A16 和 A19 这 4 个 OTUs 分布于第Ⅲ簇,其中 A19 和 A16 在系统发育树的同一分支上,可以推断出 A16 和 A19 可能同属于 β -Proteobacteria 门下 *Nitrosomonas* 属, A10、A14 和 *Nitrosomonas nitrosa* (登录号 AF272404) 在发育树的同一分支,说明 A10 和 A14 可能也归属于 *Nitrosomonas* 属. 由此推定本研究克隆得到的氨氧化细菌可能都属于 β -Proteobacteria 门下的 *Nitrosomonas* 属.

环境样品中常见的氨氧化细菌分属于 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira* 属^[26], 虽然本研究建立的 *amoA* 基因克隆文库序列对比结果显示与 *amoA* 最相似的是未鉴定菌种,但从系统发育树可以看出与其最相近的已知菌属为 *Nitrosomonas*, 这类微生物主要存在于土壤、大部分海域、湖泊、河流和城市污水处理系统,最适宜生存在富有氨氮或无机盐的环境中. 朱爽^[27]在对填埋场脱氮微生物的研究中

也表明填埋场内的氨氧化菌主要属于 β -Proteobacteria 门的欧洲亚硝化单胞菌簇,与本研究结果相一致,说明序批式生物反应器填埋场稳定期矿化垃圾单元中氨氧化细菌以 *Nitrosomonas* 属为主,由 *Nitrosomonas* 属的微生物负责进水渗滤液中氨的氧化. 此外 *Nitrosomonas* sp. 在氨氮转化为羟胺的过程中起主导作用,也是造成反应器内亚硝酸盐积累(此时矿化垃圾单元进水渗滤液 NO_2^- -N 小于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,出水 NO_2^- -N 约为 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),温室气体 N_2O 排放增加^[28],影响系统内含氮污染物转化途径的关键菌属.

2.4.3 *nosZ* 基因序列比对结果和系统发育分析

将 *nosZ* 基因文库经 RFLP 分析获得的 13 个 OTUs 中各选择一个对应的克隆子进行序列测定,采用 BLAST 软件对所获得克隆子序列与 GenBank 中的已知序列相似性进行了比对(表 3).

表 3 *nosZ* 克隆文库基因测序比对结果

Table 3 Inventory of sequence alignment for clone library of *nosZ* gene

OTU 编号	GenBank 中的最相似菌株	分类地位及来源	相似度 /%	克隆子所占百分比/%	登录号
N1	Uncultured bacterium isolate DGGE gel band HZ9D	Uncultured bacterium; environmental samples	83	6.67	AY577571.1
N2	Uncultured bacterium clone B42_31	Uncultured bacterium; environmental samples	92	16.67	JF310456.1
N3	Uncultured denitrifying bacterium clone 46-nosZ-LZB	Uncultured bacterium; Estuarine Sediments	89	3.33	JX465249.1
N4	Uncultured bacterium clone Buji5-1	Uncultured bacterium; landfill leachate treatment plant	90	5.00	GU362753.1
N5	<i>Bacillus thuringiensis chiA</i> gene for exochitinase, strain SBS-BT6	Firmicutes; Bacillaceae; <i>Bacillus</i>	98	3.33	HG792452.1
N6	<i>Thiobacillus denitrificans</i> ATCC 25259	Betaproteobacteria; Hydrogenophilales; Hydrogenophilaceae;	95	6.67	CP000116.1
N7	Bacterium enrichment culture clone En_UW_15	Uncultured bacterium; environmental samples	91	1.67	HQ630167.
N8	<i>Bacillus thuringiensis chiA</i> gene for exochitinase, strain SBS-BT6	Firmicutes; Bacillaceae; <i>Bacillus</i>	100	5.00	HG792452.1
N9	Uncultured bacterium clone ISA00218	Uncultured bacterium; paddy soil	89	1.67	FJ209407.1
N10	Uncultured bacterium clone Buji3-5	Uncultured bacterium; Landfill leachate treatment plant	95	1.67	GU362738.1
N11	<i>Thauera phenylacetica</i> strain TN9	Proteobacteria; Rhodocyclales; Betaproteobacteria;	88	3.33	JQ319501.1
N12	<i>Thauera</i> sp. MZ1T	Proteobacteria; Rhodocyclales; Betaproteobacteria;	89	3.33	CP001281.2
N13	Uncultured bacterium clone DaS36	Uncultured bacterium; activated sludge	90	41.67	HQ625230.1

由表 3 可知,反硝化菌的 *nosZ* 基因序列与已知序列相似度较低,基本在 83% ~ 95% 之间. 而朱爽^[27]以 *nosZ* 基因作为分子标记研究垃圾填埋场中脱氮微生物群落结构也得出了同样的结论,这说明填埋场中参与氮素循环的微生物群落结构相当复

杂. OTU-N13 占克隆子总数的 41.67%,是文库中最大的优势种群,它与 GenBank 中 Uncultured bacterium clone DaS36 的相似度为 90%,与数据库中已知菌 *Thauera* sp. MZ1T 的同源性为 89%,且与 *Thauera phenylacetica* strain TN9 的同源性为 88%,

归属于 β -Proteobacteria 纲的红环菌科 (Rhodocyclales)。OTU-N2 占克隆子总数的 16.67%, 与数据库中 Uncultured bacterium clone B42_31 的相似度为 92%, 且与数据库中已知菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA 和 *Bradyrhizobium japonicum* 的同源性为 91%, 归属于 α -Proteobacteria 纲的慢生根瘤菌科 (Bradyrhizobiaceae)。

可见, *nosZ* 基因多样性较为丰富, 包含 β -Proteobacteria 纲和厚壁菌门 (Firmicutes) 的细菌序列, 属水平的多样性更高, 包括 β -Proteobacteria 纲的陶厄氏菌属 (*Thauera*) 和硫杆菌属 (*Thiobacillus*)、Firmicutes 门的芽孢杆菌属 (*Bacillus*)。其在 GenBank 中的最相似基因来源广泛, OTU-N9 来源于水稻田, OTU-N4 和 OTU-N10 来源于渗滤液处理装置, OTU-N13 来源于活性污泥, OTU-N3 来源于河口沉积物, 其他的 OTUs 均来自于自然环境, 由于鉴定技术的限制, 大部分的 OTUs 还没有具体的分类地位。反硝化细菌在自然界分布广泛, 绝大多数的已报道的反硝化细菌分布于 Proteobacteria 门, 除了 δ -Proteobacteria 纲外, 其余的 α 、 β 、 γ 和 ε 这 4 个纲都含有反硝化菌。本研究发现的反硝化菌主要分布在 β -Proteobacteria 的 *Thauera* 和 *Thiobacillus* 属。*Thauera* 是一类在有机物降解、脱氮过程中都起重要作用的菌属, 在好氧条件下具有反硝化特性, 它在多种环境中都能检测到。此外本次测序得到的归属于 *Thiobacillus* 的脱氮硫杆菌 (*Thiobacillus denitrificans*) 是一类硫自养反硝化菌。Onay 等^[29]发现将硝化渗滤液回灌至填埋场厌氧反应器中, 在易降解有机物去除后, 自养反硝化菌可以利用氧化态硫为电子供体进行反硝化作用。可见新鲜垃圾单元垃圾稳定化后期不仅存在异养的好氧反硝化途径, 当碳源不足时也存在厌氧的自养反硝化的脱氮途径。

3 结论

(1) 克隆文库分析结果显示, 序批式生物反应器填埋场垃圾稳定化后期的矿化垃圾反应器中检测到的氨氧化细菌大部分为未知类群, 且均为不可培养菌或未经分离获得的细菌, 经系统发育树分析系统内氨氧化细菌可能以 β -Proteobacteria 门中的 *Nitrosomonas* 为主。*Nitrosomonas* 在氨氮转化为羟胺的过程中起主导作用, 是造成反应器内亚硝酸盐积累, 影响系统内含氮污染物转化途径的关键菌属。

(2) 序批式生物反应器填埋场稳定化后期的新

鲜垃圾反应器中反硝化细菌种群丰富, 主要反硝化菌有 β -Proteobacteria 纲中的 *Thauera* 和 *Thiobacillus* 属。*Thauera* 属在好氧条件下具有反硝化特性, *Thiobacillus* 中的脱氮硫杆菌 (*Thiobacillus denitrificans*) 是一类硫自养反硝化菌, 可见新鲜垃圾单元稳定化后期主要的脱氮途径为好氧反硝化和自养反硝化。此外文库中存在一部分反硝化细菌可能归属于 α -Proteobacteria 纲的慢生根瘤菌科 (Bradyrhizobiaceae)。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴 2014[M]. 北京: 中国统计出版社, 2014. 230-232.
- [2] Bilgili M S, Demir A, Özkaya B. Influence of leachate recirculation on aerobic and anaerobic decomposition of solid wastes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, **143**(1-2): 177-183.
- [3] Erses A S, Onay T T, Yenigun O. Comparison of aerobic and anaerobic degradation of municipal solid waste in bioreactor landfills[J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(13): 5418-5426.
- [4] Hettiaratchi P, Jayasinghe P, Tay J H, et al. Recent advances of biomass waste to gas using landfill bioreactor technology-a review[J]. Current Organic Chemistry, 2015, **19**(5): 413-422.
- [5] 何若, 沈东升, 戴海广, 等. 生物反应器填埋场系统中城市生活垃圾原位脱氮研究[J]. 环境科学, 2006, **27**(3): 604-608.
- [6] 韩智勇, 刘丹, 李启彬, 等. 厌氧-准好氧联合型生物反应器填埋场渗滤液水质水量变化规律的研究[J]. 环境科学, 2012, **33**(11): 3873-3880.
- [7] 霍守亮, 席北斗, 樊石磊, 等. 序批式生物反应器填埋场的脱氮特性[J]. 环境科学研究, 2007, **20**(4): 106-110.
- [8] Chung J W, Kim S J, Baek S C, et al. Acceleration of aged-landfill stabilization by combining partial nitrification and leachate recirculation: A field-scale study[J]. Journal of hazardous materials, 2015, **285**: 436-444.
- [9] Sun F Q, Sun B, Li Q, et al. Pilot-scale nitrogen removal from leachate by ex situ nitrification and in situ denitrification in a landfill bioreactor[J]. Chemosphere, 2014, **101**: 77-85.
- [10] 卞荣星, 孙英杰, 李晶晶, 等. 硝酸盐连续回灌对生物反应器填埋场 N_2O 产生的影响[J]. 环境科学, 2014, **35**(11): 4371-4377.
- [11] Wang Y N, Sun Y J, Wang L, et al. N_2O emission from a combined ex-situ nitrification and in-situ denitrification bioreactor landfill[J]. Waste Management, 2014, **34**(11): 2209-2217.
- [12] 鲍林林, 陈永娟, 王晓燕. 北运河沉积物中氨氧化微生物的群落特征[J]. 中国环境科学, 2015, **35**(1): 179-189.
- [13] 燕平梅, 乔宏萍, 赵文婧, 等. 溴甲烷熏蒸对土壤反硝化作用及 *nosZ* 型反硝化微生物群落结构的影响[J]. 微生物学报, 2015, **55**(1): 73-79.
- [14] Su Y, Zhang X, Xia F F, et al. Diversity and activity of

- methanotrophs in landfill cover soils with and without landfill gas recovery systems [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2014, **37**(3): 200-207.
- [15] 余婷, 何晶晶, 吕凡, 等. 生活垃圾填埋操作方式对覆土中 I 型甲烷氧化菌的影响研究[J]. *环境科学*, 2008, **29**(10): 2987-2992.
- [16] 张维, 岳波, 黄启飞, 等. 准好氧填埋场垃圾样品中甲烷氧化菌的群落多样性分析[J]. *生态环境学报*, 2012, **21**(8): 1462-1467.
- [17] Krishnamurthi S, Chakrabarti T. Diversity of bacteria and archaea from a landfill in Chandigarh, India as revealed by culture-dependent and culture-independent molecular approaches [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2013, **36**(1): 56-68.
- [18] 李晶晶. 序批式生物反应器填埋场微生物多样性及脱氮机理初步研究[D]. 青岛: 青岛理工大学, 2014.
- [19] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(12): 4704-4712.
- [20] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis A, *et al.* Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **49**(3): 401-417.
- [21] 陈泽斌, 夏振远, 雷丽萍, 等. 非培养法解析烟草根部内生细菌的群落结构[J]. *华北农学报*, 2012, **27**(1): 201-209.
- [22] Pielou E C. Shannon's formula as a measure of specific diversity: its use and misuse [J]. *The American Naturalist*, 1966, **100**(914): 463-465.
- [23] Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: What 16S rDNA libraries can tell us [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **47**(2): 161-177.
- [24] Yang L, Chang W S, Huang M N L. Natural disinfection of wastewater in marine outfall fields [J]. *Water Research*, 2000, **34**(3): 743-750.
- [25] 陈春兰, 吴敏娜, 魏文学. 长期施用氮肥对土壤细菌硝化基因多样性及组成的影响[J]. *环境科学*, 2011, **32**(5): 1489-1496.
- [26] Bothe H, Jost G, Schlöter M, *et al.* Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, **24**(5): 673-690.
- [27] 朱爽. 垃圾堆填区渗滤液中真细菌遗传多样性及分子系统学研究[D]. 广州: 中山大学, 2007.
- [28] Yu T, He P J, Lü F, *et al.* Mediating N₂O emissions from municipal solid waste landfills: Impacts of landfill operating conditions on community structure of ammonia-oxidizing bacteria in cover soils [J]. *Ecological Engineering*, 2009, **35**(5): 882-889.
- [29] Onay T T, Pohland F G. Nitrogen and sulfate attenuation in simulated landfill bioreactors [J]. *Water Science and Technology*, 2001, **44**(2-3): 367-372.

CONTENTS

Investigation of Carbonaceous Airborne Particles by Scanning Proton Microprobe	BAO Liang-man, LIU Jiang-feng, LEI Qian-tao, <i>et al.</i> (1)
Atmospheric Polybrominated Diphenyl Ethers in Eight Cities of China; Pollution Characteristics and Human Exposure	LIN Hai-tao, LI Qi-lu, ZHANG Gan, <i>et al.</i> (10)
Light Absorption Properties of Water-Soluble Organic Carbon (WSOC) Associated with Particles in Autumn and Winter in the Urban Area of Guangzhou	 HUANG Huan, BI Xin-hui, PENG Long, <i>et al.</i> (16)
Investigations on Sulfur and Carbon Isotopic Compositions of Potential Polluted Sources in Atmospheric PM _{2.5} in Nanjing Region	SHI Lei, GUO Zhao-bing, JIANG Wen-juan, <i>et al.</i> (22)
Pollution Level and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Atmospheric PM _{2.5} in Nanjing Before and After the Youth Olympic Games	 ZHANG Heng, ZHOU Zi-qiang, ZHAO Hai-yan, <i>et al.</i> (28)
Enrichment Characteristics and Source Analysis of Metal Elements in PM _{2.5} in Autumn in Nanchang City	LIN Xiao-hui, ZHAO Yang, FAN Xiao-jun, <i>et al.</i> (35)
Contributions of Factors That Influenced the Visibility In North Suburb of Nanjing In Winter and Spring	MA Jia, YU Xing-na, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (41)
A Case Study on the Rapid Cleaned Away of PM _{2.5} Pollution in Beijing Related with BL Jet and Its Mechanism	LIAO Xiao-nong, SUN Zhao-bin, HE Na, <i>et al.</i> (51)
Characteristics of Chemical Components in PM _{2.5} from the Coal Dust of Power Plants	WANG Yu-xiu, PENG Lin, WANG Yan, <i>et al.</i> (60)
Improvement of Air Quality During APEC in Beijing in 2014	CHENG Nian-liang, LI Yun-ting, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (66)
Evaluation on the Effectiveness of Vehicle Exhaust Emission Control Measures During the APEC Conference in Beijing	FAN Shou-bin, TIAN Ling-di, ZHANG Dong-xu, <i>et al.</i> (74)
Chemical Compositions and Sources Apportionment of Re-suspended Dust in Jincheng	WANG Yan, PENG Lin, LI Li-juan, <i>et al.</i> (82)
Characteristic of Particulate Emissions from Concrete Batching in Beijing	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, ZHONG Lian-hong, <i>et al.</i> (88)
Anthropogenic Ammonia Emission Inventory and Its Spatial Distribution in Chang-Zhu-Tan Region	YOU Xiang-yu, LIU Zhan, ZHANG Qing-mei, <i>et al.</i> (94)
Seasonal Variability of Greenhouse Gas Emissions in the Urban Lakes in Changchun, China	WEN Zhi-dan, SONG Kai-shan, ZHAO Ying, <i>et al.</i> (102)
Absorption Characteristics of Particulates and CDOM in Waters of Chagan Lake and Xinlicheng Reservoir in Autumn	LI Si-jia, SONG Kai-shan, ZHAO Ying, <i>et al.</i> (112)
Hydrochemical Characteristics and Influencing Factors in Different Geological Background; A Case Study in Darongjiang and Lingqu Basin, Guangxi, China	 SUN Ping-an, YU Shi, MO Fu-zhen, <i>et al.</i> (123)
Community Structure of Aquatic Community and Evaluation of Water Quality in Laoyingyan Section of Dadu River	HUANG You-you, ZENG Yu, LIU Shou-jiang, <i>et al.</i> (132)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Losses in Longhong Ravine Basin of Westlake in Rainstorm Runoff	YANG Fan, JIANG Yi-feng, WANG Cui-cui, <i>et al.</i> (141)
Soil Phosphorus Forms and Leaching Risk in a Typically Agricultural Catchment of Hefei Suburban	FAN Hui-hui, LI Ru-zhong, PEI Ting-ting, <i>et al.</i> (148)
Concentrations and Distribution of Metals in the Core Sediments from Estuary and City Section of Liaohe River	WANG Wei-jie, ZHOU Jun-li, PEI Shao-wei, <i>et al.</i> (156)
Distribution Characteristics and Pollution Status Evaluation of Sediments Nutrients in a Drinking Water Reservoir	HUANG Ting-lin, LIU Fei, SHI Jian-chao (166)
Effect of Low Molecular Weight Organic Acids on the Chemical Speciation and Activity of Mercury in the Soils of the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	 YOU Rui, LIANG Li, QIN Cai-qing, <i>et al.</i> (173)
Arsenic Content and Speciation in the Surficial Sediments of Liangshui River in Beijing	WANG Xin-hui, SHAN Bao-qing, TANG Wen-zhong, <i>et al.</i> (180)
Effect of UV Light Radiation on the Coagulation of Chlorella and Its Mechanism	WANG Wen-dong, ZHANG Ke, XU Hong-bin, <i>et al.</i> (187)
Photocatalytic Oxidation of <i>p</i> -arsanilic Acid by TiO ₂	XU Wen-ze, YANG Chun-feng, LI Jing, <i>et al.</i> (193)
Photodegradation of Ciprofloxacin Hydrochloride in the Aqueous Solution Under UV	DUAN Lun-chao, WANG Feng-he, ZHAO Bin, <i>et al.</i> (198)
Adsorption of Phosphate by Lanthanum Hydroxide/Natural Zeolite Composites from Low Concentration Phosphate Solution	LIN Jian-wei, WANG Hong, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (208)
Experimental Research of Hg(II) Removal from Aqueous Solutions of HgCl ₂ with Nano-TiO ₂	ZHOU Xiong, ZHANG Jin-yang, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (220)
Development of Chemical Exposure Prediction Model for Aerobic Sewage Treatment Plant for Biochemical Wastewaters	ZHOU Lin-jun, LIU Ji-ning, SHI Li-li, <i>et al.</i> (228)
Degradation Characteristics of Three Aniline Compounds in Simulated Aerobic Sewage Treat System	GU Wen, ZHOU Lin-jun, LIU Ji-ning, <i>et al.</i> (240)
Advanced Treatment of Effluent from Industrial Park Wastewater Treatment Plant by Ferrous Ion Activated Sodium Persulfate	ZHU Song-mei, ZHOU Zhen, GU Ling-yun, <i>et al.</i> (247)
Recent Distribution and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils from Yangtze River Delta	LI Jing-ya, WU Di, XU Yun-song, <i>et al.</i> (253)
Preliminary Study on Linear Alkylbenzenes as Indicator for Process of Urbanization	XU Te, ZENG Hui, NI Hong-gang (262)
Pollution Assessment and Spatial Distribution Characteristics of Heavy Metals in Soils of Coal Mining Area in Longkou City	LIU Shuo, WU Quan-yuan, CAO Xue-jiang, <i>et al.</i> (270)
Effects of Reduced Water and Diurnal Warming on Winter-Wheat Biomass and Soil Respiration	WU Yang-zhou, CHEN Jian, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (280)
Effect of Recycled Water Irrigation on Heavy Metal Pollution in Irrigation Soil	ZHOU Yi-qi, LIU Yun-xia, FU Hui-min (288)
Effect of Biochar Application on Soil Aggregates Distribution and Moisture Retention in Orchard Soil	AN Yan, JI Qiang, ZHAO Shi-xiang, <i>et al.</i> (293)
Effects of Three Industrial Organic Wastes as Amendments on Plant Growth and the Biochemical Properties of a Pb/Zn Mine Tailings	 PENG Xi-zhu, YANG Sheng-xiang, LI Feng-mei, <i>et al.</i> (301)
Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth and Ce Uptake of Maize Grown in Ce-contaminated Soils	WANG Fang, GUO Wei, MA Peng-kun, <i>et al.</i> (309)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Phthalic Acid Esters in Agricultural Products Around the Pearl River Delta, South China	 LI Bin, WU Shan, LIANG Jin-ming, <i>et al.</i> (317)
Bioaccumulation and Biomagnification of Heavy Metals in Three Gorges Reservoir and Effect of Biological Factors	WEI Li-li, ZHOU Qiong, XIE Cong-xin, <i>et al.</i> (325)
Comparisons of Microbial Numbers, Biomasses and Soil Enzyme Activities Between Paddy Field and Dryland Origins in Karst Cave Wetland	 JIN Zhen-jiang, ZENG Hong-hu, LI Qiang, <i>et al.</i> (335)
Analysis on Diversity of Denitrifying Microorganisms in Sequential Batch Bioreactor Landfill	LI Wei-hua, SUN Ying-jie, LIU Zi-liang, <i>et al.</i> (342)
Synthesis of Fe/nitrogen-doped Carbon Nanotube/Nanoparticle Composite and Its Catalytic Performance in Oxygen Reduction	YANG Ting-ting, ZHU Neng-wu, LU Yu, <i>et al.</i> (350)
Application of Microbial Fuel Cells in Reducing Methane Emission from Rice Paddy	DENG Huan, CAI Li-cheng, JIANG Yun-bin, <i>et al.</i> (359)
Effect of Aeration Strategies on Emissions of Nitrogenous Gases and Methane During Sludge Bio-Drying	QI Lu, WEI Yuan-song, ZHANG Jun-ya, <i>et al.</i> (366)
Treatment of Flue Gas from Sludge Drying Process by A Thermophilic Biofilter	CHEN Wen-he, DENG Ming-jia, LUO Hui, <i>et al.</i> (377)
Application of FCM-qPCR to Quantify the Common Water Pathogens	WANG Ming-xing, BAI Yao-hui, LIANG Jin-song, <i>et al.</i> (384)
Effect of Acetonitrile and <i>n</i> -hexane on the Immunoassay of Environmental Representative Pollutants	LOU Xue-ning, ZHOU Li-ping, SONG Dan, <i>et al.</i> (391)
Compositional Variation of Spent Mushroom Substrate During Cyclic Utilization and Its Environmental Impact	LOU Zi-mo, WANG Zhuo-xing, ZHOU Xiao-xin, <i>et al.</i> (397)

《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 刘 毅 汤鸿霄 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)

2016年1月15日 第37卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 1 Jan. 15, 2016

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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行