

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第8期

Vol.34 No.8

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

2006 ~ 2009 年我国超大城市霾天气特征及影响因子分析	戴永立, 陶俊, 林泽健, 谢绍东, 曹军骥, 张仁健 (2925)
南京北郊秋季 VOCs 及其光化学特征观测研究	李用宇, 朱彬, 安俊琳, 高晋微, 夏丽, 张祥志, 秦玮, 汤莉莉 (2933)
大气 PM _{2.5} 中水溶性离子在线观测技术的应用研究	程萌田, 潘月鹏, 王辉, 刘全, 王跃思 (2943)
一种纳米气溶胶发生系统的设计及性能测试	麦华俊, 蒋靖坤, 何正旭, 郝吉明 (2950)
焦炉顶和厂区内环境中有机碳和元素碳的粒径分布	刘效峰, 彭林, 白慧玲, 牟玲, 宋耕芳 (2955)
昼夜增温对大豆田土壤 N ₂ O 排放的影响	胡正华, 周迎平, 崔海玲, 陈书涛, 肖启涛, 刘艳 (2961)
不同土地利用方式下冬季 N ₂ O 排放及其影响因素	伍延正, 张苗苗, 秦红灵, 侯海军, 陈春兰, 魏文学 (2968)
基于支持向量回归模型的水稻田甲烷排放通量预测研究	陈强, 蒋卫国, 陈曦, 袁丽华, 王文杰, 潘英姿, 王维, 刘孝富, 刘海江 (2975)
夏季黄海和渤海微表层和次表层海水中营养盐的分布特征	王文涛, 杨桂朋, 于娟, 吴冠伟 (2983)
氮磷浓度对东海原甲藻优势种群吸附 BDE28 和 BDE47 的影响	汪芳, 葛蔚, 柴超, 孟祥霞 (2992)
基于光学分类的太湖水体叶绿素 a 浓度高光谱遥感	孙德勇, 周晓宇, 李云梅, 陈晓玲, 黄昌春, 龚绍琦 (3002)
基于浮游细菌生物完整性指数的河流生态系统健康评价——以滇池流域为例	黄艺, 舒中亚 (3010)
珠江三角洲城市非点源 COD 影响因素分析及其负荷估算	廖义善, 卓慕宁, 李定强, 郭太龙 (3019)
珠江流域河流碳输出通量及变化特征	张连凯, 覃小群, 杨慧, 黄奇波, 刘朋雨 (3025)
三峡库区兰陵溪小流域养分流失特征	曾立雄, 肖文发, 黄志霖, 王佐庆 (3035)
三峡库区消落带典型草本植物淹水浸泡后可溶性有机碳的释放特征	谭秋霞, 朱波, 花可可 (3043)
混合层深度对藻类生长的影响研究	陈洋, 杨正健, 黄钰铃, 张平, 刘德富 (3049)
伊乐藻-氮循环菌联用对太湖梅梁湾水体脱氮的研究	赵琳, 李正魁, 周涛, 吴宁梅, 叶忠香, 刘丹丹 (3057)
组合型生态浮床对上覆水和沉积物之间氮磷的影响	郑立国, 杨仁斌, 王海萍, 宋建军 (3064)
生物炭覆盖对底泥污染物释放的影响	李扬, 李锋民, 张修稳, 吴召富, 于辉 (3071)
东莞石马河流域重金属污染及生态毒性的时空差异	高磊, 陈建耀, 柯志庭, 王江, 杨雪韵, 清水裕太 (3079)
连环湖牙门气泡沉积物重金属演化 and 污染研究	肖海丰, 臧淑英, 关莹, 刘少军, 徐海凤, 孙清展, 王京京, 李苗 (3088)
人工湿地净化工业区含非污染降雨径流的效果研究	敬丹丹, 万金泉, 马邕文, 李东亚, 王艳, 黄明智 (3095)
四环素抗性基因在人工湿地中的去除及累积	郑加玉, 刘琳, 高大文, 刘超翔 (3102)
不确定节点水量下水质监测点优化选址方法	刘书明, 吴雪, 欧阳乐岩 (3108)
饮用水中含氮消毒副产物三氯硝基甲烷的形成过程和影响因素	丁春生, 邹邦文, 缪佳, 傅洋平, 沈嘉辰 (3113)
漆酶催化氧化水中雌激素的研究	夏青, 谢卫平, 刘国强, 廖云燕, 王斌楠, 孔德洋, 陆隼鹤 (3119)
碳纳米管电极电还原降解水中头孢他啶	朱宏, 胡翔, 李俊峰 (3125)
UV-vis 光照下喹啉类抗菌药氟康唑的光化学反应类型	葛林科, 李凯, 杨凯, 那广水, 于春艳, 张蓬, 姚子伟 (3132)
氙灯/TiO ₂ 体系下敌草隆光催化降解动力学研究	阳海, 曾健, 黎源, 阳立平, 易兵 (3137)
羟基磷灰石对水中刚果红的吸附作用研究	詹艳慧, 林建伟 (3143)
乙醇处理对树脂基纳米水合氧化铁结构及其除砷性能的影响	万琪, 李旭春, 潘丙才 (3151)
污水中溶解性有机氮类化合物的氯化反应特性及其消毒副产物生成潜能	刘冰, 于鑫, 余国忠, 古励, 赵承美, 翟慧敏, 李清飞 (3156)
短程深度脱氮中试工艺的低温启动和维持	顾升波, 王淑莹, 彭永臻 (3164)
生物活性炭厌氧氨氧化反应器启动过程研究	赖玮毅, 周伟丽, 何圣兵 (3171)
东北三省畜禽养殖粪污固氮激素排放及其潜在污染风险	刘妹芳, 李艳霞, 张雪莲, 冯成洪, 鲁肖飞, 杨明, 李帷, 朱铁群, 黄泽春 (3180)
淮河流域土壤中全氟化合物的空间分布及组成特征	孟晶, 王铁宇, 王佩, 吕永龙 (3188)
华北平原典型区土壤氟的形态及其分布特征	易春瑶, 汪丙国, 靳孟贵 (3195)
长期施磷的产量效应及其环境风险评价	颜晓, 王德建, 张刚, 冉景, 郑继成 (3205)
污灌渠中有机氯农药对沿岸土壤的影响	徐亮, 张彩香, 刘敏, 廖小平, 姚林林, 李佳乐, 向青清 (3211)
表面活性剂及其组合洗脱污染土壤中的硫丹	熊佰炼, 郑国灿, 张进忠, 邢贻, 徐卫红 (3216)
黄土丘陵区不同坡向对土壤微生物生物量和可溶性有机碳的影响	赵彤, 蒋跃利, 闫浩, 黄懿梅, 安韶山 (3223)
氮素添加对樟树林红壤微生物的影响	郁培义, 朱凡, 宿少锋, 王志勇, 闫文德 (3231)
医疗废物焚烧炉周边环境介质中二噁英的浓度、同系物分布与来源分析	黄文, 张素坤, 杜国勇, 张漫雯, 冯桂贤, 任明忠 (3238)
固相微萃取和固相萃取评价多环芳烃降解过程中的生物有效性变化	郭美霞, 巩宗强, 李晓军, 刘丹, 王悦 (3244)
改良型固定化 <i>Pseudomonas oleovorans</i> DT4 降解四氢呋喃的研究	邵钱, 叶杰旭, 欧阳杜娟, 陈建孟, 陈东之 (3251)
PCR-DGGE 技术解析固体碳源表面生物膜的微生物群落结构	徐影, 仇天雷, 韩梅琳, 李军, 王旭明 (3257)
温度对嗜酸性硫杆菌活性和生物成因次生铁矿物形成的影响	宋永伟, 赵博文, 霍敏波, 崔春红, 周立祥 (3264)
小白菜对外源硝酸盐和亚硝酸盐动态吸收的差异及其机制研究	郭璐, 满楠, 梁东丽, 谢钧宇, 刘娟娟 (3272)
预处理对打捆麦秸贮存和厌氧生物产沼气的的影响	马慧娟, 陈广银, 杜静, 常志州, 叶小梅 (3280)
硝酸盐对淡水水生生物毒性及水质基准推导	张铃松, 王业耀, 孟凡生, 周岳溪, 于海斌 (3286)
生物毒性测试微孔板 MTOXPlate 的分析性能研究	林奕云, 张国霞, 贺丽苹, 孙国萍, 许玫英 (3294)
两种实验设计研究 DES 和 EV 对 MCF-7 细胞增殖的联合作用	刘倩, 雷炳莉, 安静, 尚羽, 钟玉芳, 康佳, 文育 (3303)
中国近海海洋环境多氯联苯 (PCBs) 污染现状及影响因素	刘敏霞, 杨玉玉, 李庆孝, 王俊 (3309)
城市污水处理厂出水中的药品和个人护理品	郑少奎, 李晓峰 (3316)
生物炭封存技术研究进展	姜志翔, 郑浩, 李锋民, 王震宇 (3327)
饮用水水源地严格管理水质的对策分析——对实行严格水资源管理问题上的看法和建议	傅国伟 (3334)
《环境科学》征稿简则 (2967) 《环境科学》征订启事 (3034) 信息 (3063, 3136, 3194, 3302)	

四环素抗性基因在人工湿地中的去除及累积

郑加玉¹, 刘琳², 高大文^{1,3*}, 刘超翔²

(1. 东北林业大学生态研究中心, 哈尔滨 150040; 2. 中国科学院城市环境研究所, 厦门 361021; 3. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘要: 以垂直潜流人工湿地系统为试验装置, 考察了猪场养殖废水中四环素类抗生素抗性基因(*tetW*、*tetM* 和 *tetO*) 在人工湿地中的去除及累积情况。结果表明, 养猪废水中的3种抗性基因均有检出且含量较高, *tetW*、*tetM* 和 *tetO* 的平均绝对含量分别为 1.07×10^{10} 、 4.03×10^{10} 和 4.92×10^{10} copies·L⁻¹。通过湿地系统处理后, 水体中抗生素抗性基因绝对拷贝数和相对表达量均明显降低, *tetW*、*tetM* 和 *tetO* 的平均去除率分别为 95.73%、92.21% 和 95.05%。在系统运行末期, 湿地表层土壤和底层土壤中 *tetW*、*tetM* 和 *tetO* 的绝对拷贝数和相对表达量均有明显的升高, 并且抗性基因在表层土壤中的累积水平高于底层土壤。因此, 人工湿地系统可有效降低养猪废水中抗生素抗性基因的绝对及相对含量水平, 系统的运行条件可对抗生素抗性基因在湿地系统中的积累产生影响。

关键词: 人工湿地; 养猪废水; 抗生素抗性基因; 实时荧光定量 PCR; 土壤

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)08-3102-06

Removal and Accumulation of the Tetracycline Resistance Gene in Vertical Flow Constructed Wetland

ZHENG Jia-yu¹, LIU Lin², GAO Da-wen^{1,3}, LIU Chao-xiang²

(1. Center for Ecological Research, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 3. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: This paper investigated the efficiency and accumulation of vertical flow constructed wetland on removing tetracycline resistance (*tet*) genes (*tetM*, *tetO*, and *tetW*) from swine wastewater. The result indicated that all three *tet* genes were detected in raw wastewater, average absolute abundances of *tetW*, *tetM*, and *tetO* were 1.07×10^{10} , 4.03×10^{10} and 4.92×10^{10} gene copies per litre, respectively. Vertical flow constructed wetland could significantly reduce the content of wastewater antibiotics resistance genes, and average elimination rates were 95.73%, 92.21% and 95.05%, respectively. Compare to the content of antibiotics resistance genes in unpolluted soil, the content of that in soil of the system had an obvious increase at the end stage of this study. Meanwhile, absolute abundances and relative abundances of three *tet* genes in surface layer of soil were higher than that in basement soil. The control condition and structure of construct wetlands would affect the accumulation of tetracycline resistance genes in the system.

Key words: constructed wetland; swine wastewater; tetracycline resistance genes; RT-PCR; soil

目前, 生猪养殖过程中经常使用抗生素来预防治疗疾病或作为刺激物促进生猪生长, 但此情况可能增长动物肠道内抗生素抗性细菌诱导产生的机率, 而细菌抗生素抗性通常由抗性基因所决定, 近年来有关养殖废水中抗生素抗性基因的研究日益增多^[1,2]。抗生素抗性基因作为一种新型环境污染物, 自 Pruden 等^[3]首次将其作为环境污染物被提出以来, 引起广泛的关注。研究证明, 动物肠道内的抗性细菌排出体外后, 其携带的遗传信息可以通过横向转移机制转移到外部环境的微生物中^[4,5]。此外, 抗生素在动物体内并不能完全被吸收, 残留的抗生素可随粪便排出体外^[6], 对环境中微生物可能产生选择压力, 诱导抗性细菌的产生。因此, 作为抗生素抗性基因主要污染源的养猪废水对环境具有巨大的潜

在危害。

四环素类抗生素被广泛应用于养猪业中, 我国每年土霉素的生产量约10 000 t^[7], 大量抗生素通过各种途径进入环境中。迄今为止, 已有40多种四环素类抗性基因被发现命名, 大部分抗药基因编码为四环素外排泵蛋白, 少数编码为核糖体保护蛋白, 个别基因编码为四环素类分子的修饰或破坏酶^[8]。研究发现, 相比四环素外排泵蛋白的抗性基因, 养猪废水及周边土壤中核糖体保护蛋白的抗性基因具有更

收稿日期: 2012-11-05; 修订日期: 2012-12-26

基金项目: 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(20100062110002); 国家自然科学基金项目(51278480); 福建省科技计划重点项目(2012Y0068)

作者简介: 郑加玉(1989~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为污水生态处理与回用, E-mail: zhejiayu@163.com

* 通讯联系人, E-mail: dawengao@gmail.com

高的含量水平,而其中 *tetM*、*tetO* 和 *tetW* 这 3 种抗性基因含量占主导地位^[9~11]。同时这 3 种抗性基因还具有较高的检出频率,从而使猪场废水成为此 3 种抗性基因的重要来源。

人工湿地是以地面为基础建造的利用自然进程来处理废水的工艺^[12]。由于其建设和运行成本较低,并且对传统污染物有很好的处理效果(尤其是对有机物的去除),人工湿地已经被广泛运用于养猪废水的深度处理^[13,14]。近年来,已有研究利用人工湿地处理低浓度抗生素的市政污水,其试验结果表明湿地系统能够有效减少抗生素含量水平,并且在运行过程中抗性细菌的产生数量远低于常规的活性污泥系统^[15]。但目前有关人工湿地对抗生素抗性基因作用的研究还待深入,特别是对富含抗生素抗性基因的养猪废水的处理研究还较少。因此本研究以 *tetM*、*tetO* 和 *tetW* 为目标物,以垂直潜流人工湿地为试验装置,采用实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR) 技术作为研究手段,初步考察和评估养猪废水中抗生素抗性基因在人工湿地中的去除效果及累积情况。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验装置及运行参数

试验采用垂直流人工湿地作为试验装置,湿地表面面积为 1 m^2 ,高为 0.6 m 。湿地填料层厚度为 60 cm ;上层($0\sim 20\text{ cm}$)为红壤层;中层($20\sim 50\text{ cm}$)为沸石填料层;下层($50\sim 60\text{ cm}$)为砾石层。湿地系统表面种植杂交狼尾草。养猪废水取自厦门某养殖场的厌氧沼气池出水。废水由蠕动泵泵入湿地系统,进水量为 $30\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$,即水力负荷(HLR)为 $3\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

1.1.2 供试样品采集

入水水样取自厦门养殖场厌氧沼气池出水,存放于 4°C 冰箱中。湿地运行期间,定期采集出水水样,即刻测定分析;土壤样品取自不同深度层次(表层 $0\sim 5\text{ cm}$,底层 $15\sim 20\text{ cm}$)。

1.2 *tetM*、*tetO* 和 *tetW* 的分析方法

1.2.1 DNA 的提取

水样 DNA 的提取:取 0.5 L 水样,用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,然后用超纯水冲洗滤膜,收集冲洗液,采用 Ultraclean Water DNA Kit 试剂盒,按照生厂商说明的方法提取 DNA。土壤 DNA 的提取:采用 E. Z. M. A. 土壤 DNA 提取试剂盒(美国 Omega 生物技术

公司),按照其说明进行。提取的 DNA 用微量核蛋白分析仪(NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA)检测含量及纯度。

1.2.2 普通 PCR 反应程序

tetM、*tetW* 和 *tetO* 序列及退火温度均参照文献[8]进行。PCR 反应体系为:PCR 反应体系体积为 $25\text{ }\mu\text{L}$,其中包括 $2.5\text{ }\mu\text{L}$ $10\times\text{ Taq buffer}$ (含 Mg^{2+}), $0.5\text{ }\mu\text{L}$ 的 dNTPs, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 的上游引物, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 的下游引物, $0.3\text{ }\mu\text{L}$ 的 DNA 聚合酶,样品 DNA $3\text{ }\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件为: 94°C 下预变性 5 min , 94°C 30 s , 退火 30 s (退火温度 *tetM* 80°C ; *tetO* 81°C ; *tetW* 83°C), 72°C 30 s , 35 个循环,最后 72°C 下延伸 5 min 。PCR 产物与 $1/6$ 体积 $6\times\text{ loading buffer dye}$ 混匀,用经核糖染料染色的琼脂糖凝胶电泳检测。根据检测目标片段的大小($168\sim 171\text{ bp}$),选择浓度为 2% 的琼脂糖凝胶, 100 bp 的 Marker,在 110 V 电压下电泳 30 min ,初步观察结果。

1.2.3 抗性基因的 RT-PCR 定量分析

进行电泳检测并将正确的片断用割胶回收试剂盒(上海闪晶生物公司)做胶回收后,纯化 PCR 产物。使用 PUC57-T Vector,将靶基因片断连入 PUC57-T 载体,然后采用商品化的感受态细胞 DH-5 α (上海闪晶生物公司)进行转化。挑选菌落,小量培养。裂解细菌,使用小量质粒抽提试剂盒(上海闪晶公司)提取质粒。将质粒进行 DNA 测序确定目的产物。提取的质粒通过紫外分光光度计检测其浓度,按 10 倍浓度梯度稀释,以拷贝数为横坐标, C_t 值为纵坐标绘制标准曲线。

定量 PCR 在 ABI PRISM[®] 7500 (PE Applied Biosystems, USA) 仪器上进行,反应体系体积为 $20\text{ }\mu\text{L}$,其中包括 $10\text{ }\mu\text{L}$ SYBR Mix, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 的上游引物, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 的下游引物, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ 的 ROX II,样品 DNA $2\text{ }\mu\text{L}$ 。定量 PCR 程序如下: 95°C 1 min 后,40 个循环为 94°C 10 s ,退火温度 45 s ,不同抗性基因退火温度 *tetM* 80°C ; *tetO* 81°C ; *tetW* 83°C 。每个样品均做 3 次重复,起始模板浓度由 C_t 值确定,定量 PCR 产物用 2% 琼脂凝胶电泳检测。16S rRNA 基因扩增的 PCR 反应体系组成同目的基因,引物序列为:上游引物 5'-CGGTGAATACGTTTCYCGG-3',下游引物 5'-AAGGAGGTGATCCRGCCGCA-3'。定量 PCR 程序如下: 95°C 1 min , 94°C 10 s , 53°C 45 s , 81°C 延伸 10 s , 40 个循环。

2 结果与分析

2.1 湿地系统对抗性基因的去除效果

为了评估养猪废水中抗生素抗性基因在湿地中的去除效果,本研究首先分析了湿地系统进出水中3种四环素抗性基因的绝对拷贝数情况,结果如图1~图3所示.进水中3种四环素基因均被检测到,*tetW*、*tetM*和*tetO*平均绝对含量分别为 1.07×10^{10} 、 4.03×10^{10} 和 4.92×10^{10} copies·L⁻¹,这些值均大大高于它们在生活污水中的含量,与之前报道的养猪场废水中抗性基因含量结果相类似^[16,17].试验结果进一步说明了养猪废水是抗生素抗性基因的重要污染源.

湿地系统进出水中*tetW*、*tetM*和*tetO*的绝对浓度具有明显差异,数据结果指出湿地出水中3种抗性基因含量均明显下降,出水中*tetW*、*tetM*和*tetO*含量区间分别为 $1.37 \times 10^5 \sim 3.60 \times 10^8$ 、 $1.14 \times 10^7 \sim 1.12 \times 10^{10}$ 和 $1.84 \times 10^6 \sim 1.89 \times 10^{10}$ copies·L⁻¹.基于水量平衡的计算可得,*tetW*、*tetM*和*tetO*去除率分别为88.59%~98.82%、85.10%~91.35%和88.17%~98.6%.3种抗性基因在湿地系统中都有较高的去除率,其中*tetW*的平均去除率最高,约为95.73%.Chen等^[18]在利用化学方法对养殖废水中四环素抗性基因去除的研究中指出,处理后水质中抗生素抗性基因绝对浓度可能会有所增加.因此,结合试验结果可知,与化学处理工艺相比,人工湿地系统对养殖废水中抗生素抗性基因具有更高的去除效率.

基因相对表达量是样本中目的基因的绝对拷贝数相对于内参基因16S rRNA绝对拷贝数的变化,代表的是微生物群落中所含的抗性基因数量,可定量表示抗生素对抗性基因的诱导率,所以基因的相对表达量更能反映基因在样本中的分布情况^[19].对2010-12-01和2011-01-19两次出、入水定量测定16S rRNA含量,结果如图4.图5和图6为抗性基因相对表达量.由图4~6可以看出,与抗生素抗性基因绝对浓度在湿地处理中的变化趋势相似,进水中抗性基因相对表达量要明显高于出水,出水中*tetW*、*tetM*和*tetO*的相对丰度分别为 4.39×10^{-3} 、 1.28×10^{-2} 、 2.06×10^{-2} (2010-12-01); 6.05×10^{-3} 、 2.56×10^{-2} 、 2.42×10^{-3} (2011-01-19).试验结果表明,人工湿地系统不仅可以有效降低养猪废水中抗生素抗性基因的绝对含量,还可降低其相对丰度.

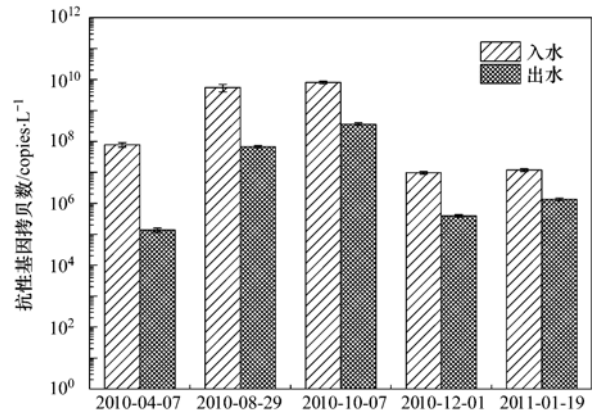


图1 各样本中*tetW*基因绝对拷贝数

Fig. 1 Absolute ARGs copies of *tetW* in samples

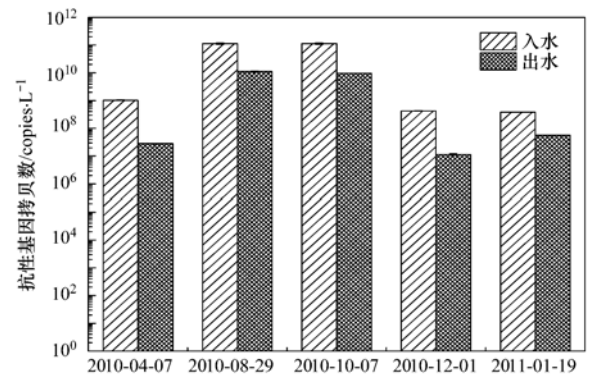


图2 各样本中*tetM*基因绝对拷贝数

Fig. 2 Absolute ARGs copies of *tetM* in samples

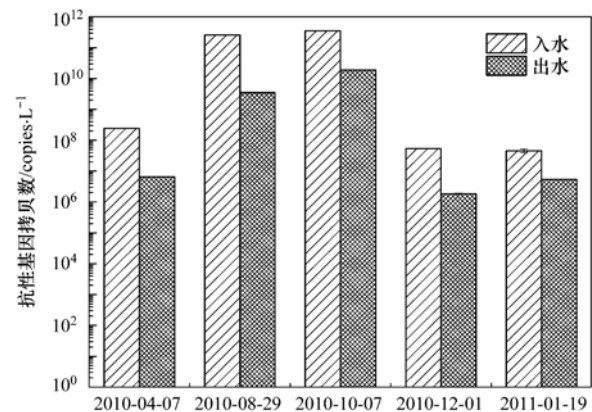


图3 各样本中*tetO*基因绝对拷贝数

Fig. 3 Absolute ARGs copies of *tetO* in samples

2.2 土壤中抗生素抗性基因的累积情况

土壤是人工湿地的重要组成部分,不仅为湿地植物、微生物提供了生长环境,其自身也参与了污水净化的过程.因此,本实验对抗生素抗性基因在湿地土壤中的累积情况进行了考察,并进一步分析了不同深度土壤样品(表层0~5 cm,底层15~20 cm)的差异性(图7和图8).研究结果指出,抗生素抗性

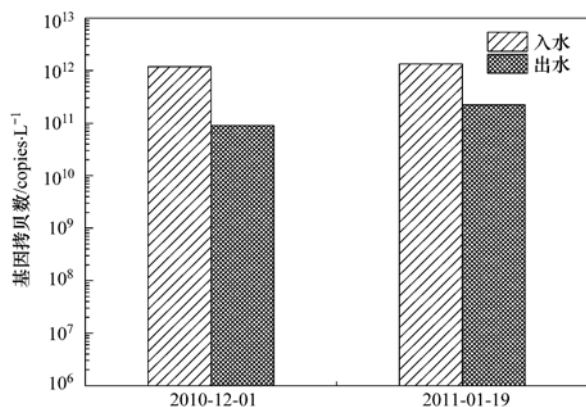


图4 样品中 16S rRNA 绝对拷贝数

Fig. 4 Absolute ARGs copies of 16S rRNA in samples

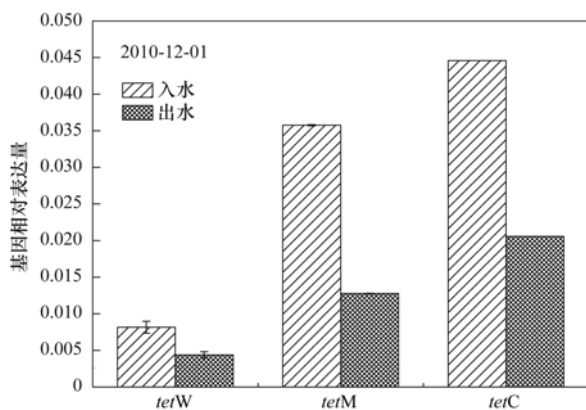


图5 出、入水中抗性基因相对表达量

Fig. 5 Copies of ARGs/copies of 16S rRNA in samples

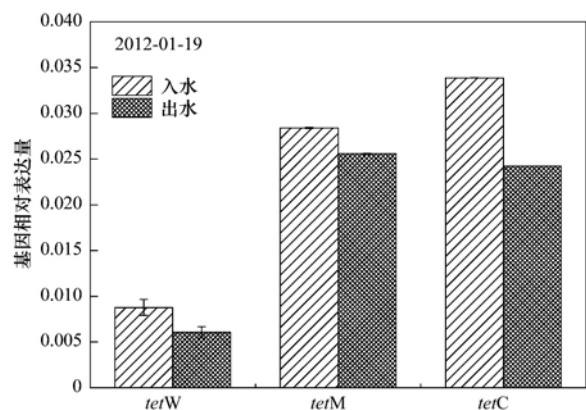


图6 出、入水中抗性基因相对表达量

Fig. 6 Copies of ARGs/copies of 16S rRNA in samples

基因在湿地表层土壤及底层土壤中都出现了明显的累积现象, *tetW*、*tetM* 和 *tetO* 在表层土壤中的绝对拷贝数分别为 3.33×10^5 、 1.38×10^6 和 1.04×10^6 copies·g⁻¹, 相对表达量分别为 1.32×10^{-3} 、 5.48×10^{-3} 和 4.13×10^{-3} , 它们在底层土壤中的绝对拷贝数分别为 2.9×10^5 、 7.07×10^5 和 5.84×10^5

copies·g⁻¹, 相对表达量分别为 1.14×10^{-3} 、 2.77×10^{-3} 和 2.29×10^{-3} . 土壤表层和底层中 *tetW* 含量水平差异性不大, 而 *tetO* 和 *tetM* 的含量水平具有明显的差异. 此外, 16S rRNA 结果显示, 底层土壤中微生物丰富度 (2.55×10^8 copies·g⁻¹) 相比表层土壤 (2.52×10^8 copies·g⁻¹) 差异性不显著 ($P > 0.05$). 数据结果表明, 湿地系统土壤层可对抗生素抗性基因进行吸附, 这与 Wu 等^[20] 的研究结果一致.

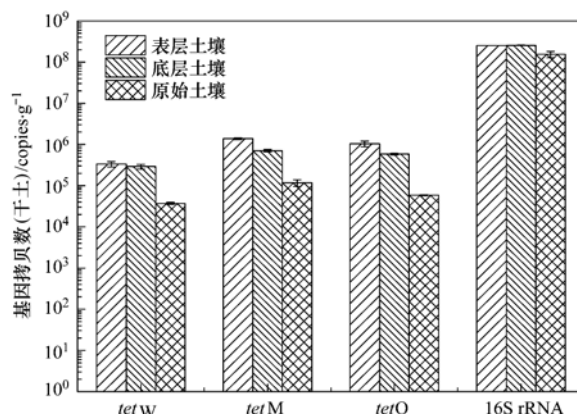


图7 土壤各样本中抗性基因绝对拷贝数

Fig. 7 Absolute ARGs copies of tet in soil samples

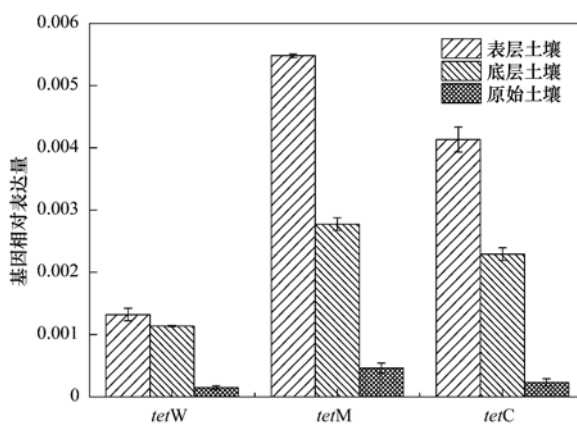


图8 土壤各样本中抗性基因相对表达量

Fig. 8 Copies of ARGs/copies of 16S rRNA in soil samples

3 讨论

通过对 3 种四环素抗性基因在养猪废水中含量的定量分析, 本试验表明猪场养殖废水中有较高含量水平的抗性基因, 这与之前的研究一致, 并进一步说明了养猪废水是环境中抗性基因重要的来源. 养猪废水中, *tetM* 和 *tetO* 在 3 种抗性基因中含量水平相似, 具有较高的浓度, 这可能与其在微生物中存在的广泛性有关, 研究表明革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均可以携带 *tetM* 和 *tetO*^[21].

人工湿地可将化学物理功能(机械过滤、沉淀、

氧化、吸附有机物)和生物去除机制(截留在生物膜中、自然死亡和原生生物捕食等)相结合,有效去除废水中的微生物^[22,23]。本研究试验结果表明,表示微生物量的 16S rRNA 基因绝对拷贝数和 3 种抗性基因的绝对浓度,两者变化规律相似,出水中含量水平都有明显的降低。Vacca 等^[24]研究表明,湿地出水中总细菌数量可以较进水降低 1.5~2.5 个数量级。湿地中的红壤可有效吸附微生物,沸石填料也起重要作用,沸石的孔径较小(4.32 nm),小孔径有利于过滤和吸附的细菌^[25]。此外,湿地植物对微生物去除也有作用,Vacca 等^[24]的研究发现,植物对出水微生物有很大影响,能够有效减少出水中微生物含量。由于抗生素抗性基因主要存在于微生物基因组中,出水中微生物数量降低,从而可使出水中抗性基因含量下降。而之前研究也证明 16S rRNA 基因拷贝与 *tet* 基因拷贝($R^2 = 0.65, P < 0.01$)表现出较强的正相关性^[20]。因此,本研究中 3 种四环素基因绝对丰度的减少是通过湿地对微生物去除实现的。此外,从 3 种抗性基因的定量结果可以看出,*tetW* 在湿地中的平均去除率最高。这可能与其迁移机制有关,研究表明在水环境中 *tetW* 的迁移率最高,可以很快迁移到生物膜表面,从而更易于进入环境中被降解消除^[26]。

出入水中抗性基因相对表达量试验结果表明,人工湿地出水中,3 种抗性基因相对丰度都有降低。这可能是由于在人工湿地中,抗性基因在不同微生物之间横向转移传递时,在湿地中被降解,从而导致出水中抗性基因的含量下降,同时出水中微生物含量也有降低,但是二者相比较,抗性基因含量减少更多,从而导致出水中抗性基因相对丰度降低,表明湿地能够有效降低抗性基因对环境潜在的危险。

养猪废水经过人工湿地时,湿地会将其部分微生物截留吸附。对于垂直流人工湿地来说,其表层土壤将起到主要的截留吸附作用,而湿地微生物死亡之后,携带的抗性基因将累积在湿地土壤层。因此,在本试验所用湿地系统表层土壤中抗生素抗性基因发生了累积现象。同时研究表明,光照、高温和厌氧条件均能够促进抗性基因的降解^[27,28],湿地表层光照较好,而底层可以提供厌氧条件,并且由于高浓度废水的压力可造成微生物降解能力的提高和植物作用。所以试验湿地土壤中的抗性基因含量较养猪场周边土壤中抗性基因含量略低,并可能说明湿地长时间运行不会产生很高的抗生素抗性基因累积。

对于不同深度土壤层中抗生素抗性基因累积含

量差异现象,本研究认为两方面因素导致底层土壤中抗性基因绝对浓度和相对表达量要低于表层土壤。首先,由于系统水流方式造成的微生物迁移阻力,表层土壤可截留累积更多的微生物,从而造成抗生素抗性基因含量较高;其次,厌氧环境相对光解作用可能具有对抗生素抗性基因更好的降解作用。表层土壤和底层土壤 16S rRNA 基因拷贝数并无显著性差异,因此底层土壤抗性基因相对表达量要低于表层土壤。

4 结论

(1)养猪废水抗生素抗性基因结果表明,猪场养殖废水是抗性基因重要的来源。

(2)垂直流人工湿地对抗性基因有很高的去除效率,并且能够降低抗性基因相对丰度,因此人工湿地可以有效降低抗性基因生态危险。

(3)抗生素抗性基因可在人工湿地内部发生累积现象,而不同区域累积情况与人工湿地的运行条件相关。

参考文献:

- [1] Levy S B, McMurry L M, Barbosa T M, *et al.* Nomenclature for new tetracycline resistance determinants [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, **43**(6): 1523-1524.
- [2] Peak N, Knapp C W, Yang R K, *et al.* Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, **9**(1): 143-151.
- [3] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in Northern Colorado [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, **40**(23): 7445-7450.
- [4] Suchlandl R J, Sandoz K M, Jeffrey B M, *et al.* Horizontal transfer of tetracycline resistance among *Chlamydia* spp. *in vitro* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, **53**(11): 4604-4611.
- [5] Akhtar M, Hirt H, Zurek L. Horizontal transfer of the tetracycline resistance gene *tetM* mediated by pCF10 among *Enterococcus faecalis* in the house fly (*Musca domestica* L.) alimentary canal [J]. *Microbial Ecology*, 2009, **58**(3): 509-518.
- [6] Chee-Sanford J C, Mackie R I, Koike S, *et al.* Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste [J]. *Environmental Quality*, 2009, **38**(3): 1086-1108.
- [7] Zhang X X, Zhang T, Fang H. Antibiotic resistance genes in water environment [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, **82**(3): 397-414.
- [8] Aminov R I, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Molecular

- ecology of tetracycline resistance; development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, **67**(1): 122-132.
- [9] McKinney C W, Loftin K A, Meyer M T, *et al.* *tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, **44**(16): 6102-6109.
- [10] Smith M S, Yang R K, Knapp C W, *et al.* Quantification of tetracycline resistance genes in feedlot lagoons by Real-Time PCR [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, **70**(12): 7372-7377.
- [11] 吴楠, 乔敏, 朱永官. 猪场土壤中 5 种四环素抗性基因的检测和定量[J]. *生态毒理学报*, 2009, **4**(5): 705-710.
- [12] Vymazal J. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience [J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, **45**(1): 61-69.
- [13] Hunt P G, Stone K C, Matheny T A, *et al.* Denitrification of nitrified and non-nitrified swine lagoon wastewater in the suspended sludge layer of treatment wetlands [J]. *Ecological Engineering*, 2009, **35**(10): 1514-1522.
- [14] Knight R L, Payne V W E, Borer R E, *et al.* Constructed wetlands for livestock wastewater management [J]. *Ecological Engineering*, 2000, **15**(1-2): 41-55.
- [15] Conkle J L, White J R, Metcalfe C D. Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in Southeast Louisiana [J]. *Chemosphere*, 2008, **73**(11): 1741-1748.
- [16] Koike S, Krapac I G, Oliver H D, *et al.* Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-Year period[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(15): 4813-4823.
- [17] Mackie R I, Koike S, Krapac I, *et al.* Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities[J]. *Animal Biotechnology*, 2006, **17**(2): 157-176.
- [18] Chen J, Michel F C, Sreevatsan S, *et al.* Occurrence and persistence of erythromycin resistance genes (*erm*) and tetracycline resistance genes (*tet*) in waste treatment systems on swine farms[J]. *Microbial Ecology*, 2010, **60**(3): 479-486.
- [19] 王丽梅, 罗义, 毛大庆, 等. 抗生素抗性基因在环境中的传播扩散及抗性研究方法[J]. *应用生态学报*, 2010, **21**(4): 1063-1069.
- [20] Wu N, Qiao M, Zhang B, *et al.* Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, **44**(18): 6933-6939.
- [21] Roberts M C. Update on acquired tetracycline resistance genes [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, **245**(2): 195-203.
- [22] Helt C D, Weber K P, Legge R L, *et al.* Antibiotic resistance profiles of representative wetland bacteria and faecal indicators following ciprofloxacin exposure in lab-scale constructed mesocosms[J]. *Ecological Engineering*, 2012, **39**: 113-122.
- [23] Sidrach-Cardona R, Bécares E. Fecal indicator bacteria resistance to antibiotics in experimental constructed wetlands[J]. *Ecological Engineering*, **50**: 107-111.
- [24] Vacca G, Wand H, Nikolausz M, *et al.* Effect of plants and filter materials on bacteria removal in pilot-scale constructed wetlands[J]. *Water Research*, 2005, **39**(7): 1361-1373.
- [25] Gorra R, Coci M, Ambrosoli R, *et al.* Effects of substratum on the diversity and stability of ammonia-oxidizing communities in a constructed wetland used for wastewater treatment[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, **103**(5): 1442-1452.
- [26] Engemann C A, Keen P L, Knapp C W, *et al.* Fate of tetracycline resistance genes in aquatic systems; migration from the water column to peripheral biofilms [J]. *Environmental Science and Technology*, 2008, **42**(14): 5131-5136.
- [27] Pei R T, Cha J, Carlson K H, *et al.* Response of antibiotic resistance genes (ARG) to biological treatment in dairy lagoon water[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, **41**(14): 5108-5113.
- [28] Engemann C A, Adams L, Knapp C W, *et al.* Disappearance of oxytetracycline resistance genes in aquatic systems[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **263**(2): 176-182.

CONTENTS

Characteristics of Haze and Its Impact Factors in Four Megacities in China During 2006-2009	DAI Yong-li, TAO Jun, LIN Ze-jian, <i>et al.</i> (2925)
Characteristics of VOCs and Their Photochemical Reactivity in Autumn in Nanjing Northern Suburb	LI Yong-yu, ZHU Bin, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (2933)
On-Line Measurement of Water-Soluble Composition of Particulate Matter in Beijing	CHENG Meng-tian, PAN Yue-peng, WANG Hui, <i>et al.</i> (2943)
Design and Evaluation of an Aerosol Nanoparticle Generation System	MAI Hua-jun, JIANG Jing-kun, HE Zheng-xu, <i>et al.</i> (2950)
Aerosol Size Distribution of Organic Carbon and Elemental Carbon on the Top of Coke Oven and in the Plant Area	LIU Xiao-feng, PENG Lin, BAI Hui-ling, <i>et al.</i> (2955)
Effects of Diurnal Warming on Soil N ₂ O Emission in Soybean Field	HU Zheng-hua, ZHOU Ying-ping, CUI Hai-ling, <i>et al.</i> (2961)
N ₂ O Flux in Winter and Its Affecting Factors Under Different Land Use Patterns	WU Yan-zheng, ZHANG Miao-miao, QIN Hong-ling, <i>et al.</i> (2968)
Prediction of Methane Emission of Paddy Field Based on the Support Vector Regression Model	CHEN Qiang, JIANG Wei-guo, CHEN Xi, <i>et al.</i> (2975)
Distributional Characteristics of Nutrients in the Sea-surface Microlayer and Subsurface Water of the Bohai and Yellow Sea in Summer	WANG Wen-tao, YANG Gui-peng, YU Juan, <i>et al.</i> (2983)
Effect of Nitrogen and Phosphorus Concentrations on the Adsorption of BDE28 and BDE47 by <i>Prorocentrum donghaiense</i> Dominant Population	WANG Fang, GE Wei, CHAI Chao, <i>et al.</i> (2992)
Hyperspectral Remote Sensing of Chlorophyll a Concentrations in the Lake Taihu, Based on Water Optical Classification	SUN De-yong, ZHOU Xiao-yu, LI Yun-mei, <i>et al.</i> (3002)
Bacterioplankton Index of Biotic Integrity (BP-IBI): An Approach for Assessing River Ecosystem Health in Dianchi Watershed	HUANG Yi, SHU Zhong-ya (3010)
Estimation of Urban Non-Point Source Pollution Loading and Its Factor Analysis in the Pearl River Delta	LIAO Yi-shan, ZHUO Mu-ning, LI Ding-qiang, <i>et al.</i> (3019)
Transported Fluxes of the Riverine Carbon and Seasonal Variation in Pearl River Basin	ZHANG Lian-kai, QIN Xiao-qun, YANG Hui, <i>et al.</i> (3025)
Characteristics of Nutrient Loss of Lanlingxi Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	ZENG Li-xiong, XIAO Wen-fa, HUANG Zhi-lin, <i>et al.</i> (3035)
Characteristics of Dissolved Organic Carbon Release Under Inundation from Typical Grass Plants in the Water-Level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Area	TAN Qiu-xia, ZHU Bo, HUA Ke-ke (3043)
Research on the Influence of Mixing Layer Depth on Algal Growth	CHEN Yang, YANG Zheng-jian, HUANG Yu-ling, <i>et al.</i> (3049)
Denitrification Study of <i>Elodea nuttallii</i> -Nitrogen Cycling Bacteria Restoration in Meiliang Bay, Taihu Lake	ZHAO Lin, LI Zheng-kui, ZHOU Tao, <i>et al.</i> (3057)
Influence of Combined Ecological Floating Bed on Nitrogen and Phosphorus Between Overlying Water and Sediment	ZHENG Li-guo, YANG Ren-bin, WANG Hai-ping, <i>et al.</i> (3064)
Effects of Biochar Covering on the Release of Pollutants from Sediment	LI Yang, LI Feng-min, ZHANG Xiu-wen, <i>et al.</i> (3071)
Temporal-spatial Difference of Ecotoxicity and Heavy Metals Pollution in Shima Catchment, Dongguan	GAO Lei, CHEN Jian-yao, KE Zhi-ting, <i>et al.</i> (3079)
Evolution and Pollution of Heavy Metals in Core Sediments from Yamenqi Lake in Lianhuan Lake, China	XIAO Hai-feng, ZANG Shu-ying, GUAN Ying, <i>et al.</i> (3088)
Effect of Constructed Wetland on the Purification of Industrial Zone Rainfall Runoff Contaminated with Phenanthrene	JING Dan-dan, WAN Jin-quan, MA Yong-wen, <i>et al.</i> (3095)
Removal and Accumulation of the Tetracycline Resistance Gene in Vertical Flow Constructed Wetland	ZHENG Jia-yu, LIU Lin, GAO Da-wen, <i>et al.</i> (3102)
Method for Optimal Sensor Placement in Water Distribution Systems with Nodal Demand Uncertainties	LIU Shu-ming, WU Xue, OUYANG Le-yan (3108)
Formation Process of Nitrogenous Disinfection Byproduct Trichloronitromethane in Drinking Water and Its Influencing Factors	DING Chun-sheng, ZOU Bang-wen, MIAO Jia, <i>et al.</i> (3113)
Removal of Estrogens in Laccase Catalyzed Oxidative Processes	XIA Qing, XIE Wei-ping, LIU Guo-qiang, <i>et al.</i> (3119)
Study on Electrochemical Degradation of Cefazidime by Carbon Nanotubes Electrode	ZHU Hong, HU Xiang, LI Jun-feng (3125)
Photochemical Reaction Types of the Azole Fungicide Fluconazole Under UV-vis Irradiation	GE Lin-ke, LI Kai, YANG Kai, <i>et al.</i> (3132)
Photocatalytic Degradation Kinetics of Diuron by TiO ₂ and Simulated Sunlight	YANG Hai, ZENG Jian, LI Yuan, <i>et al.</i> (3137)
Adsorption of Congo Red from Aqueous Solution on Hydroxyapatite	ZHAN Yan-hui, LIN Jian-wei (3143)
Ethanol-Induced Influence on the Structure and Arsenate Adsorption of Resin-based Nano-hydrated Ferric Oxide	WAN Qi, LI Xu-chun, PAN Bing-cai (3151)
Chlorination Characteristic and Disinfection By-product Formation Potential of Dissolved Organic Nitrogen Compounds in Municipal Wastewater	LIU Bing, YU Xin, YU Guo-zhong, <i>et al.</i> (3156)
Start-up and Maintenance Method for Short-Cut Advanced Nitrogen Removal Process in a Pilot-Scale Reactor at Low Temperature	GU Sheng-bo, WANG Shu-ying, PENG Yong-zhen (3164)
Study on the Start-Up of Anaerobic Ammonium Oxidation Process in Biological Activated Carbon Reactor	LAI Wei-yi, ZHOU Wei-li, HE Sheng-bing (3171)
Excretion of Manure-Borne Steroid Hormones and Their Potential Risk in the Three Northeast Provinces of China	LIU Shu-fang, LI Yan-xia, ZHANG Xue-lian, <i>et al.</i> (3180)
Spatial Distribution and Composition of Perfluorinated Compounds in Soils Around the Huaihe River	MENG Jing, WANG Tie-yu, WANG Pei, <i>et al.</i> (3188)
Fluorine Speciation and Its Distribution Characteristics in Selected Agricultural Soils of North China Plain	YI Chun-yao, WANG Bing-guo, JIN Meng-gui (3195)
Effects of Long-Term Manure and Crop Residues Incorporation on Yield and Phosphorus Saturation in a Paddy Soil	YAN Xiao, WANG De-jian, ZHANG Gang, <i>et al.</i> (3205)
Influence of Organochlorine Pesticides in Wastewater on the Soil Along the Channel	XU Liang, ZHANG Cai-xiang, LIU Min, <i>et al.</i> (3211)
Elution of Endosulfan from Contaminated Soil by Surfactants and Their Combination	XIONG Bai-lian, ZHENG Guo-can, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (3216)
Effects of Different Aspects on Soil Microbial Biomass and Dissolved Organic Carbon of the Loess Hilly Area	ZHAO Tong, JIANG Yue-li, YAN Hao, <i>et al.</i> (3223)
Effects of Nitrogen Addition on Red Soil Microbes in the <i>Cinnamomum camphora</i> Plantation	YU Pei-yi, ZHU Fan, SU Shao-feng, <i>et al.</i> (3231)
Concentration, Profile Distribution and Source Identification of PCDD/Fs in Environmental Medium Around a HSWI	HUANG Wen, ZHANG Su-kun, DU Guo-yong, <i>et al.</i> (3238)
Assessment of Bioaccessibility of PAHs in Microbial Degradation Process Using Solid Phase Micro Extraction and Solid Phase Extraction	GUO Mei-xia, GONG Zong-qiang, LI Xiao-jun, <i>et al.</i> (3244)
Biodegradation of Tetrahydrofuran by Combined Immobilized of <i>Pseudomonas oleovorans</i> DT4	SHAO Qian, YE Jie-xu, OUYANG Du-juan, <i>et al.</i> (3251)
Analysis on Microbial Community in Biofilm Coating onto Solid Carbon Source Using the PCR-DGGE Technique	XU Ying, QIU Tian-lei, HAN Mei-lin, <i>et al.</i> (3257)
Effect of Temperature on Activity of <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> and Formation of Biogenic Secondary Iron Minerals	SONG Yong-wei, ZHAO Bo-wen, HUO Min-bo, <i>et al.</i> (3264)
Differences of Selenium Uptake Pattern of Pakchoi and the Possible Mechanism When Amended with Selenate and Selenite	GUO Lu, MAN Nan, LIANG Dong-li, <i>et al.</i> (3272)
Effect of Pretreatment on Storage and Biogas Production of Baling Wheat Straw	MA Hui-juan, CHEN Guang-yin, DU Jing, <i>et al.</i> (3280)
Toxicity of Nitrate-N to Freshwater Aquatic Life and Its Water Quality Criteria	ZHANG Ling-song, WANG Ye-yao, MENG Fan-sheng, <i>et al.</i> (3286)
Analysis Performance of Biological Toxicity Testing MTOXPlate Using Microplate	LIN Yi-yun, ZHANG Guo-xia, HE Li-ping, <i>et al.</i> (3294)
Study of Combined Effects of DES and EV on the Proliferation of MCF-7 Cells by Two Experimental Designs	LIU Qian, LEI Bing-li, AN Jing, <i>et al.</i> (3303)
Status and Influencing Factors of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Pollution in the Coastal Areas in China	LIU Min-xia, YANG Yu-yi, LI Qing-xiao, <i>et al.</i> (3309)
Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Effluent of Sewage Treatment Plants	ZHENG Shao-kui, LI Xiao-feng (3316)
Research Progress on Biochar Carbon Sequestration Technology	JIANG Zhi-xiang, ZHENG Hao, LI Feng-min, <i>et al.</i> (3327)
Countermeasures for Strict Water Quality Management of Drinking Water Sources: Some Thoughts and Suggestions on Implementing Strict Water Resources Management	FU Guo-wei (3334)

《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8月15日 34卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 8 Aug. 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

国内外公开发行人