

# 跬步集

二零一六年三月 第十期



# 致谢

伊始得知，自己成为本期主编，诚惶诚恐。

收稿，编辑，美工，校对。。。这一切的一切在大家的支持帮助下得以完成，心中满是谢意。谢谢大家！

在此，要特别感谢张少静女士为本期《跬步集》设计的封面和内页；感谢朱三元老师的特约供稿，这也是历期《跬步集》的首位老师供稿

相信在大家的努力下，我们会越做越好。

天空中没有留下翅膀的痕迹，我已飞过。。。。。

编者

中国科学院广州地球化学研究所  
广州地球化学国家重点实验室  
朱三元课题组内部刊物

# 目录

<b>朱三元</b>	美国之行见闻与感想 .....	1
<b>李继兵</b>	PAHs降解微生物的研究方法（可培养）及其降解机制概述 .....	7
<b>李启虔</b>	真菌菌丝：细菌在土壤中扩散的高速公路 .....	9
<b>戴青</b>	磁性纳米颗粒制备方法总结 .....	12
<b>苏涛</b>	源清单估算化石碳和生物碳对OC、EC贡献 .....	14
<b>孙迎韬</b>	土壤微生物群落组成结构和多样性研究进展（二） .....	18

主編：戴青

中国科学院广州地球化学研究所  
有机地球化学国家重点实验室  
张干课题组内部刊物

## 美国之行见闻与感想

朱三元

2015 年 11 月下旬，我在外专局资助下赴加州大学尔湾分校（UCI）及美国国家静电公司（NEC）进行  $^{14}\text{C}$  专用加速器质谱仪相关培训。与前几次停留时间仅为一周左右、走马观花式的国际会议和商务旅行相比，尽管这次美国之行也仅有三个月，但可以进入美国的校园和社会，认识大家调侃时所称的“美帝”。或许以前对美国的认识非常浅薄，仅停留新闻以及平时阅读的只言片语层面，这次真正接触到真实的美国，所见所闻都让我印象深刻，希望将这次美国之行的记忆还没有被琐碎的实验室事务淹没时记录下来。适逢张老师邀请我写一份关于《跬步集》的稿件，描述一下这次美国之行的见闻和感想，于是有了下面的文字。

到异国他乡，所见所闻不外乎风土人情。这次美国之行我主要停留了两个地方：加利福尼亚州尔湾市（Irvine）和威斯康星州米德尔顿市（Middleton）。二者都是美国的小城市，由于地理位置不同，冬季气候环境和风景迥异。

尔湾地处美国西部的阳光海岸，冬天气候温暖干燥，是一个冬季避寒的好地方，在我停留的两个多月的时间里，最低气温高达 8 摄氏度，中午气温有时达到 20 多度。尔湾的阳光角度很低，正午在外面走路特别刺眼，不过除了这一点，冬季在温暖的阳光中漫步感觉很不错。尔湾是一个年轻的城市，从开始建设就进行了良好的社区规划，建筑大部分都只有一至两层，每个社区附近基本都有配套的购物商场、餐饮场所。与广州的高楼大厦相比，少了很多现代化大都市的感觉，但更容易让人亲近。城市到处可见各种树木、草坪以及公园，例如，从我的住处到学校，中间需要经过两个公园，一个里面有高尔夫球场，另一个面积很大，有很多儿童娱乐设施，不过平时人都很少，是鸟儿的天堂，只有周末的时候采用一些年轻夫妇带着孩子到公园游玩。尔湾是美国非常富有的城市，生活都比较安逸。亚裔比例高达 40%，而黑人很少。在 UCI 校园中经常可以看到华裔面孔，路边可以听到熟悉的普通话，在 1 月初学校开学时，很多中国家长带孩子去学校办理入学手续。它的治安环境很好，在美国排名前列。记得有一次因为不了解假期公

公共汽车班次安排错过了末班车，我在晚上 9 点步行 1 个多小时，路上感觉都挺好。它是禁烟城市，在任何场所都不许抽烟，公共场所环境很好。尔湾有几家华人超市，里面出售各种中国食物，购物时有身在国内的感觉，另外还有韩国超市、日本超市，都是平时购物的好去处。尔湾有很多中餐馆，例如大家熟知的小肥羊、广式点心、川菜馆和湘菜馆，同时也有台湾风味火锅、韩式韩式烤肉、日本寿司以及越南面馆等。不过在培训后期，我最常去的餐馆是校园内号称全美最佳汉堡餐馆“In-N-Out”。它的汉堡种类很少，但是味道很适合中国人，份量很大而且价格便宜，在学校很受欢迎，在午饭期间 20 分钟，排队取餐的号码近百。UCI 校园设计很有特色，各个院系围绕一个公园建设，呈圆形，环境特别优美，不过对于我这个方向感不佳的人来说是个挑战，曾两次在晚上回家时迷路，差点误了公共汽车。尔湾的公共交通不如广州发达，公交车路线很少、班次也不多，但较其它城市还是很有优势，通过计划可以乘坐公共汽车到达你想去的地方。



图 1. NEC 工厂加速器组装塔

米德尔顿属于威斯康星州，位于其首府麦迪逊旁边，距离威斯康星大学麦迪逊分校不到二十公里。抵达米德尔顿前从飞机上俯瞰，地面、树木和屋顶都被厚厚的积雪覆盖，只有大大小小的道路分割白色的世界。在米德尔顿下雪是无声无

息的，记得一次傍晚的时候从 NEC（美国国家静电公司，加速器设备生产商）工厂返回旅馆途中，天气还是很正常的，等回到旅馆，做完晚饭，偶尔向窗外望去的时候，才发现外面的道路不知何时变成白色的，铺上了一层厚厚的雪。为了体验在零下 20 多摄氏度人的感觉，我全副武装在室外步行几公里，结果不到二十分钟后脸部和耳朵都冻僵失去了知觉，回到室内十多分钟才恢复过来。这让我感受到大自然的威力和自己的渺小。米德尔顿的建筑都不高，最高的也就是 NEC 安装加速器的塔楼，大约有 3-4 层楼的高度。米德尔顿很小，小到没有一家旅馆，另外也没有公共交通系统，导致培训期间住宿和交通都极不方便。城市中大部分都是白人，不过“有人的地方就有中国人”，这句话千真万确，在那么小的城市中有山西面馆、北京饺子店，里面的中餐都很正宗，另外有一家中国超市 J&P Fresh Market，去里面购物就像去到所里的宏城超市。此外，在山西面馆附近有日本寿司店、韩国豆腐煲，不过最受当地人欢迎的还是山西面馆隔壁的酒吧，里面有来自全世界的各种红酒、白酒，还可以各种咖啡，NEC 的工程师每周五早晨都会在这个酒吧聚会，公司也很通融地将上班时间推迟了一个小时。

如果将一个城市比喻为人，气候环境只是相应于人的外表，人才是城市的灵魂。尔湾的人很热情，也很喜欢他们的城市。记得我从洛杉矶国际机场到尔湾时，由于初来乍到，不了解当地情况，手里也只有一个租住房屋的地址，到达的时间又是晚上，对能够顺利到达、入住都很没有信心，当时我预订的是 supershuttle 公司小型穿梭巴士，司机劝我不用担心，很耐心地按照我提供的地址将我送到公寓门口，确认我联系上屋主后才离开。期间聊到尔湾的情况时，司机很自豪，告诉我尔湾是个很美丽、适合生活的城市，让我好好享受这里的生活，不过让他有些焦虑的是，由于大量的中国人移民到尔湾以及房地产投资，尔湾的房价飞涨，生活成本也很高，这些焦虑在我后面的生活中得到印证，我租住一个十多平方米的客厅，每月房租都需要 750 美元，如果是单间则需要 1200-1400 美元。对于尔湾普通年轻人来说，尽管生活压力很大，但他们对未来仍充满了希望。我租住的客厅之前的租客是一个刚移民到美国的中国人，英文名 Joe，他的叔叔在美国，他自己则是通过假结婚办理移民签证，到达美国以后由于学历低，只能帮他叔叔开办的公司送外卖，尔湾只有他一个人负责，每天工作到晚上 11 点多才能休息，

但是此后一年多他抽空去学校学习了语言，已经基本适应了美国的生活，他计划今年去学校进行专业学习，提高自己的技能水平，将来可以获得更好的工作环境和更高的薪水。在米德尔顿，由于住的是旅馆，接触外面的机会很少，大部分时间都是和 NEC 工程师打交道。从他们年龄上的差异、职位情况可以看到学习成长的过程，Thilo 大约 50 多岁是德国人，进入 NEC 已经十五年，已经是 NEC 排位第四的副总裁，负责小型加速器质谱的设计、总体负责设备安装调试和现场安装；Allan 是一位 70 后，在音乐爱好上花费了 8 年时间希望以此为生，失败后上大学进行物理专业学习，进入 NEC 大约 4 年担任机械工程师；Johnathan 只有二十六岁，进入 NEC 三年。在我看来，Johnathan 就是 2002 年版的 Thilo，现在还比较青涩，不过 Thilo 很看好他的发展。也许正是这一代代的学习传承，才能使美国发展出尖端、复杂的加速器质谱系统，而 NEC 只是美国千万家小型科技企业的一个缩影，它或许很小，小到近乎一个手工作坊，但是拥有自己的灵魂。

让我印象深刻的是美国社会的人性化以及信用。NEC 有一个小型的休息室，工作人员每天上午、下午工作期间都有一段休息时间，员工可以喝喝咖啡、聊聊天，墙上贴的就是员工的各种权利、受到意外伤害时求助方式及紧急事故处理方法；UCI 实验室里随处可见的提示标语，极大的降低了使用者的操作难度，另外数据流程设计中也考虑了如何避免由于人犯错误导致的数据错误。另外，我也深深体会到信用是美国的社会基础。和 Joe 聊天时，他提到曾经在 Uber 当过司机，有一次由于心情不好，得罪了一名乘客后被投诉，Uber 确认后取消了他的资格，导致他以后永远不能再成为 Uber 司机。在回国之前，我在 Amazon 上购买了一个新秀丽的行李箱，结果由于 USPS 投递时发错导致我没有收到，我打电话给 Amazon，在确认我的身份后短短两分钟给确认给我发新的行李箱或者给我退款，这在国内购物是不可想象的事情。这两件事情信用社会会极大的提高效率，失去信用后严重的后果也让人们尊重信用的价值。对比国内把欺骗当成一种智慧的现实，不禁让人感慨万分。

不过在这次美国之行中最重要的收获，是认识了一个人 John。在国人眼里，也许他只是一个 loser，不是美国籍，不是终身教授，不会开车也没有车，六十多岁了还是单身汉。但他是我的偶像。他个子不高（Gua，他的同事，一个幽默

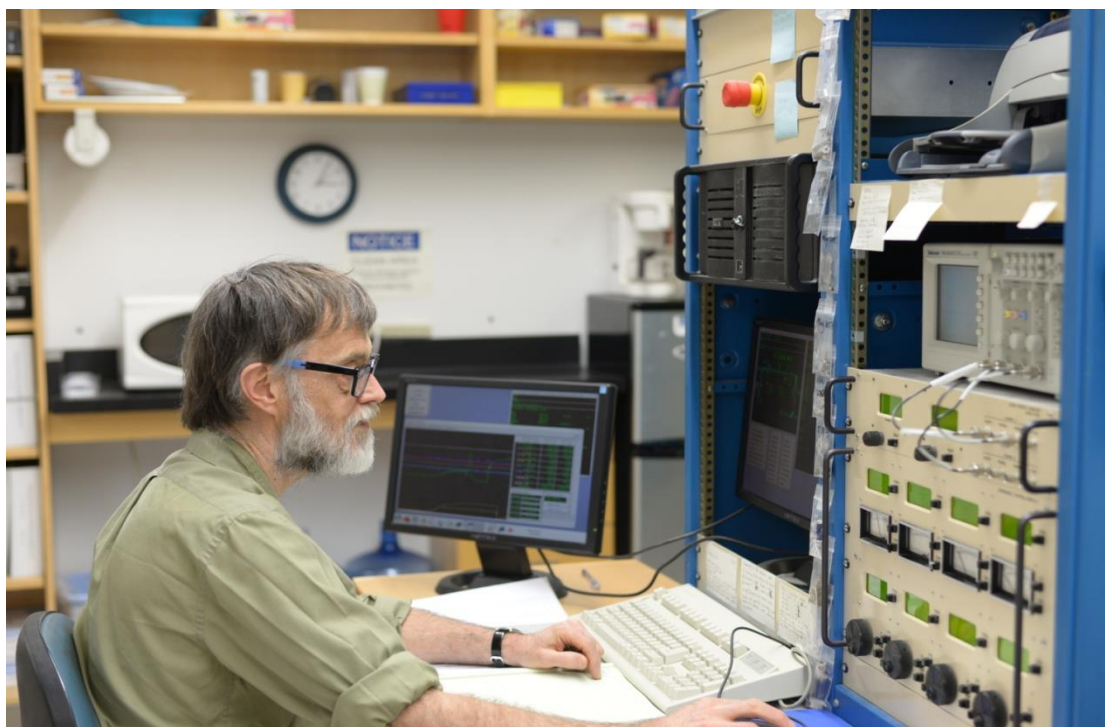


图 2. 我的偶像 John

开朗的巴西女人给他的外号“little man”), 但精力充沛, 反应很快, 每天早上 7 点多就到实验室, 晚上 9 点才回家, 一周工作七天几乎没有节假日, 神奇的是他几乎不吃午饭, 最多是一杯咖啡, 让我不禁好奇他几乎无穷的能量从何而来。在专业的领域, 他无所不能, 大到加速器离子源 Ionizer 设计、加速器剥离气体系统, 小到机械泵维修甚至木工活, 他都能轻松搞定。Thilo 曾经说他是天才, 提前做了 NEC 所有想做的事。他特别乐于助人, 在培训期间, 无论什么时候我提出的任何问题, 他都会很详细的给我解答, 如果有实物, 也会拿出来给我分析其功能和作用, 在他的帮助下, 我了解了负离子源的工作原理、如何计算加速器中束流形状、如何提高束流等。很多方面我只是刚刚接触, 但是他已经交给我知识的种子, 只待我继续深入。有趣的是, 当设备运行不正常时, John 也会很焦虑, “F\*\*\*”、“God damned”“Do you know who is the boss?”都是他的口头禅, 让人觉得还是一个亲切的普通人。不过我最喜欢的还是他鼓励我不要怕犯错误时的一句话: 不要害怕犯错, 今天的事故就是明天的故事, 让我这个过分谨慎小心的人也有了大胆尝试的勇气。最值得我学习的是: 他能像一个孩子喜欢自己的玩具一样做好一件事情, 而且始终能保持内心的平静。这给处于浮躁社会迷茫的我很大的震撼, 以前的我总是尝试寻找自己的路, 但始终避免不了和旁人比较, 理想和现



实的严重割裂让人很痛苦。现在的我还没有能力始终保持好自己的心态，但现在我已经有了方向。

总体来说，这次美国之旅虽然时间很短，但我见识了美国的社会。有人说，美国在走下坡路，我不以为然。社会发展并不是线型的，起点低的时候也许保持较快的发展，但到了一定程度，保持一个良好的状态也不容易。尔湾和米德尔顿只是美国的两个小城市，不能代表整个美国社会，但是从中看出民众物资丰富、生活快乐稳定。也许这种社会是中国所追求的，美国所拥有的，达到这种状态中国还需要很多年的努力。另外，我学习和掌握了很多加速器质谱专业的知识，对运行实验室有了更多的信心，更重要的是在这几个月里找回了自己内心里的宁静。



## PAHs 降解微生物的研究方法（可培养）及其降解机制概述

李继兵

从复杂的环境样品中将功能微生物分离出来，并对其进行详细完整的遗传、代谢分析，一直以来是环境微生物学研究中遇到的最大的挑战之一。纯培养法 (Avery and Leland, 1927) 是对功能微生物进行研究起步最早的方法，是微生物学研究的基石。其策略是通过提供适宜功能微生物生长的培养条件（碳源、氮源、pH、温度和氧）或加入抑制剂（抑制其他菌生长）对微生物进行筛选，再用平板划线分离法得到纯菌株。然而，纯培养方法只适用于培养可培养微生物群体。Biolog 法是目前已知的研究微生物代谢功能多样性很常见的方法之一。其最初仅被用于菌种鉴定。1989 年，Biolog 公司根据细菌代谢的氧化还原过程推出了 Biolog Microstation 自动鉴定系统，可用于环境、临床细菌的鉴定。1991 年 Biolog 微孔板应用于微生物群落特征的特征 (Garland and Mills, 1991)。该技术主要原理是通过微生物对不同碳源底物的利用情况来反应微生物群落的代谢功能多样性。PAHs 在环境中存在水解、光解、微生物降解等多种途径，大量的研究表明微生物降解是去除环境中 PAHs 的最主要途径 (Baek et al., 1991)。微生物降解包括好氧降解和厌氧降解。目前细菌对 PAHs 的好氧降解机制研究得比较透彻（本研究主要涉及到多环芳烃降解细菌的研究，因此，这里仅介绍了关于细菌的降解途径）。主要的降解菌包括 *Agmenellum* sp.、*Aeromonas* sp.、*Alcaligenes* sp.、*Acinetobacter* sp.、*Bacillus* sp.、*Berjerinckia* sp.、*Burkholderia* sp.、*Corynebacterium* sp.、*Cyclotrophicus* sp.、*Flavobacterium* sp.、*Micrococcus* sp.、*Moraxella* sp.、*Mycobacterium* sp.、*Nocardioides* sp.、*Pseudomonas* sp.、*Lutibacterium* sp.、*Rhodococcus* sp.、*Streptomyces* sp.、*Sphingomonas* sp.、*Stenotrophomonas* sp.、*Vibrio* sp.、*Paenibacillus* sp. 等 (Zhao et al., 2008)。虽然不同降解菌在降解底物、降解的途径等方面存在着差异，但其降解的关键步骤却基本相同。其步骤主要分为 3 步：1) 通过 PAHs 双加氧酶在芳香环上加入两个氧原子，使其转变为顺式二氢二羟基的形式；2) 进一步脱氢生成对应的二羟基化中间体，然后芳香环氧化裂

解；3) 产物进一步氧化为儿茶酚、龙胆酸等生物可利用的化合物，最后彻底降解。好氧细菌对菲降解一般步骤如图 1 所示(Moody et al., 2001)。

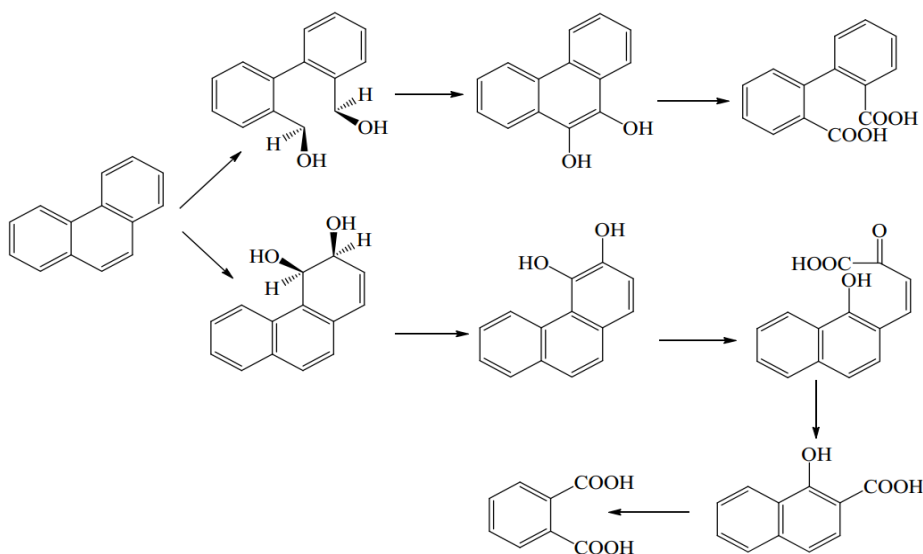


图 1 好氧细菌对菲降解一般步骤示意图 (Moody et al., 2001)

## 参考文献

- Avery, R.C., Leland, S.J., 1927. A simple method for the isolation of pure cultures from single bacterial cells. *J Exp Med* 45, 1003-1007.
- Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N., Perry, R., 1991. A Review Of Atmospheric Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons - Sources, Fate And Behavior. *Water Air Soil Poll* 60, 279-300.
- Garland, J.L., Mills, A.L., 1991. Classification And Characterization Of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis Of Patterns Of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization. *Appl Environ Microb* 57, 2351-2359.
- Moody, J.D., Freeman, J.P., Doerge, D.R., Cerniglia, C.E., 2001. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp strain PYR-1. *Appl Environ Microb* 67, 1476-1483.
- Zhao HP, Wu QS, Wang L, et al. 2008. Degradation of phenanthrene by bacterial strain isolated from soil in oil refinery fields in Shanghai China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 164: 863-869.

## 真菌菌丝：细菌在土壤中扩散的高速公路

李启虔

真菌与细菌广泛的存在于土壤生态系统中，真菌与细菌的迁移扩散作为土壤微生态物理行为的一种，在整个土壤生态系统的运转中起到重要作用。细菌在土壤中的运动主要受到土壤基质势的限制，大约为-50kPa。基质势是指在土壤基质（固体颗粒）的吸附作用下，土壤水较自由水降低的自由能（势值）。它不仅影响土壤水分的吸持，而且影响大量土壤水的运动(Worrich et al., 2016)。细菌很大程度上是依靠水为载体进行运动的。所以，在非饱和的土壤环境下，细菌自身的迁移能力非常有限，土壤中细菌菌落的平均距离仅为  $10^{-4}$ m(Bosma et al., 1997)。真菌占到土壤微生物生物量的 75%（约 0.2-0.4mg/g），并且不同于细菌，真菌在土壤中的迁移并不依赖于水饱和的土壤环境。真菌菌丝可以轻易的刺穿空气-水界面，在土壤里形成长达 20000 公里每立方米的密集网络(Pennisi, 2004)。丝状真菌生长菌丝的顶端，甚至可以楔入土壤微团聚体的内部，随后液泡化，膨胀，扩散分布到更多细菌难以企及的地方(Wick et al., 2010)。这些生长活跃的丝状真菌，为细菌在土壤中的运动提供了连续的表面与通道，有助于细菌在土壤中的扩散和迁移，Wick 等人将这种现象形象的比作真菌高速公路(Kohlmeier et al., 2005)。研究发现，亲水真菌会在其菌丝表面形成一层液膜，细菌能够沿着这层连续的液膜通道，高效的运动到目标底物处去。真菌高速公路能够桥接充满空气的土壤孔隙，

缩短细菌与其目标底物之间的距离，提高目标底物的降解效率(Furuno et al., 2010)。

Wick 设计了两个实验对真菌高速公路进行验证(Kohlmeier et al., 2005)。实验一如图 1A 所示，在圆形的 PDA 培养基上先后接种真菌 *F. oxysporum* 和细菌 *Achromobactersp. SK1*，然后在间隔 1mm 处放置另一块长方形的基础培养基，培养 5-7 天后，对基础培养基上的细

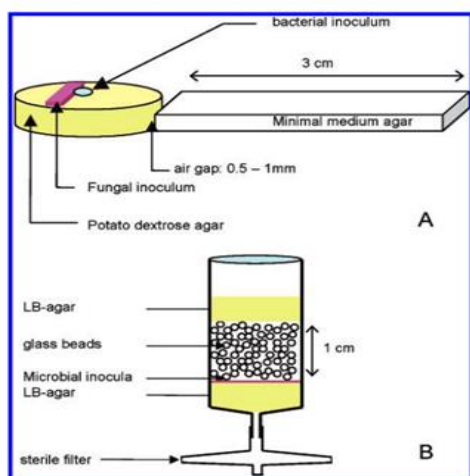


图 1 真菌高速公路实验

菌进行计数，并与仅接入细菌 *Achromobactersp. SK1* 的对照组进行比对。结果发现只有同时接入真菌细菌的实验组在基础培养基上面发现有细菌存在，说明细菌依靠真菌作为载体跨越空气间

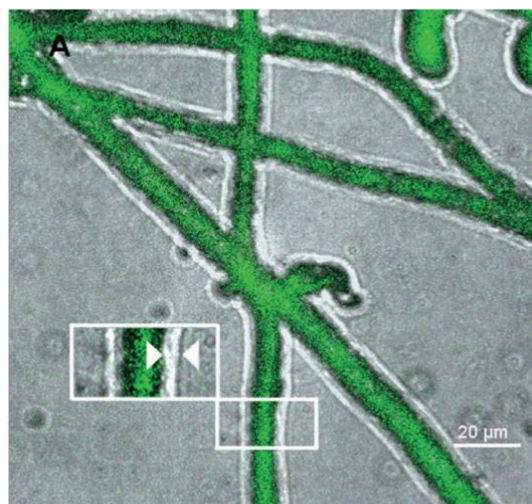


图 2 激光共聚焦扫描显微镜拍摄真菌液膜图

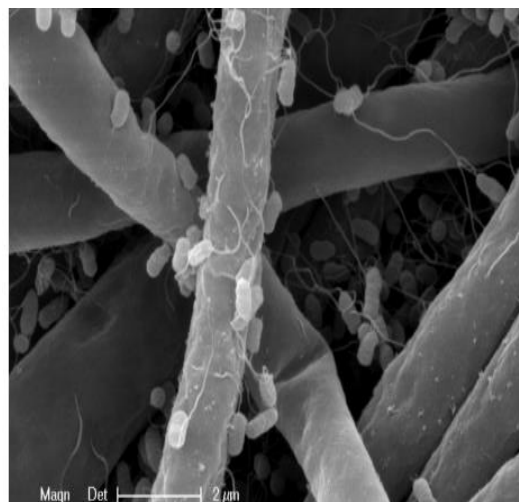


图 3 细菌沿真菌运动电镜图

隔，进行了扩散。实验二如图 1B 所示，模拟细菌在土壤中的扩散情况。在已灭菌的针筒中从上到下依次加入：顶部 LB 培养基：高度为 1cm，用来模拟人造土壤的玻璃珠床层 ( $\Phi=1\text{mm}$ )：LB 底部培养基。在底部的 LB 培养基上接种真菌、细菌、真菌和细菌。发现在三个试验组中，只有同时接种真菌和细菌的那组在顶部的 LB 培养基中发现了细菌 *Achromobactersp. SK1* 的存在。说明细菌借助真菌穿透了模拟土壤的玻璃珠床层，发生了远距离迁移。这种远距离迁移现象随后通过激光共聚焦扫描显微镜、电镜等显影手段得到证明(Furuno et al., 2010; Simon et al., 2015)。如图 2 所示，我们在激光共聚焦扫描显微镜拍摄下可以看到，真菌 *P. ultimum* 菌丝表面存在一层 3-4 $\mu\text{m}$  厚的液膜，图中白色部分。而从图 3 电镜拍摄的照片中我们可以明显观察到细菌包裹在真菌表面并传递蔓延。

综上所述，利用真菌高速公路，真菌联合细菌共同修复污染土壤是一种新的高效生物修复策略，值得我们进一步的研究和开发。

## 参考文献

Bosma, T.N.P., Middeldorp, P.J.M., Schraa, G., Zehnder, A.J.B., 1997. Mass transfer limitation of biotransformation: Quantifying bioavailability. *Environmental science &*

technology 31, 248-252.

Furuno, S., Pazolt, K., Rabe, C., Neu, T.R., Harms, H., Wick, L.Y., 2010. Fungal mycelia allow chemotactic dispersal of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria in water-unsaturated systems. *Environ Microbiol* 12, 1391-1398.

Kohlmeier, S., Smits, T.H.M., Ford, R.M., Keel, C., Harms, H., Wick, L.Y., 2005. Taking the fungal highway: Mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi. *Environmental science & technology* 39, 4640-4646.

Pennisi, E., 2004. The secret life of fungi. *Science* 304, 1620-1622.

Simon, A., Bindschedler, S., Job, D., Wick, L.Y., Filippidou, S., Kooli, W.M., Verrecchia, E.P., Junier, P., 2015. Exploiting the fungal highway: development of a novel tool for the in situ isolation of bacteria migrating along fungal mycelium. *FEMS Microbiol Ecol* 91.

Wick, L.Y., Furuno, S., Harms, H., 2010. Fungi as Transport Vectors for Contaminants and Contaminant-Degrading Bacteria, pp. 1555-1561.

Worrich, A., Konig, S., Miltner, A., Banitz, T., Centler, F., Frank, K., Thullner, M., Harms, H., Kastner, M., Wick, L.Y., 2016. Mycelia-like Networks Increase Bacterial Dispersal, Growth and Biodegradation in a Model Ecosystem at Varying Water Potentials. *Appl Environ Microbiol*.



## 磁性纳米颗粒制备方法总结

戴青

磁性纳米颗粒主要为铁系元素(Fe, Co, Ni)及其氧化物(如  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  等), 或其他金属元素与铁系元素的合金(如 FePt 等)及其氧化物(如  $\text{MgFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  等)构成晶核的纳米颗粒。由于其独特的结构和尺寸的影响, 磁性纳米颗粒表现出与宏观物质不同的物理、化学及生物特性。利用这些特殊的性质, 依据研究目的可以塑造出不同形状、不同功能、不同尺寸的磁性纳米颗粒, 用来解决相对应的科学问题。

目前主要的磁性纳米颗粒制备方法有 3 类: 物理法、化学法和生物法(Reddy et al., 2012): 1) 物理法包括气相沉淀法和电子束光刻法。这两种方法对控制颗粒尺寸方面并不十分完善(Mathur et al., 2008)。2) 化学法包括溶胶—凝胶法, 氧化法, 共沉淀法, 水热法, 流动注射合成法, 电化学法, 气溶胶/气相法, 超声化学分解法, 超临界流体法和纳米反应器合成法。化学合成法能够通过调节合成过程的换进条件很好的控制颗粒晶型和尺寸, 并依据不同的用途进一步对磁性纳米颗粒表面进行修饰和功能化; 如掺杂金属改变晶型结构(Elavarthi et al., 2016; Pazhanivelu et al., 2016), 掺杂油酸等有机聚合物作为稳定剂(Xu and Sun, 2007)等。3) 微生物合成法。该方法具有操作简便, 产品质量稳定, 能耗低, 成本低的特点(Reddy et al., 2012)。近期已有多篇文献报道(Liang et al., 2012; Moon et al., 2010)。

获得的磁性纳米颗粒可进一步对其表面进行包裹和修饰, 以避免发生聚集等现象, 提高其在环境中的稳定性, 并依据研究目的赋予磁性纳米颗粒不同的功能; 如采用无毒且有很好空间排斥性的 PGE 包裹保证其良好的生物相容性(Lutz et al., 2006), 采用二氧化硅包裹避免磁性纳米颗粒与其他物质发生不必要的化学反应(Ma et al., 2006)。

### 参考文献

Elavarthi, P., Kumar, A.A., Murali, G., Reddy, D.A., Gunasekhar, K.R., 2016. Room

temperature ferromagnetism and white light emissive CdS:Cr nanoparticles synthesized by chemical co-precipitation method. *J Alloy Compd* 656, 510-517.

Liang, Z.G., Mu, J., Shi, J.C., 2012. Preparation of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles by microbial reduction combining natural oxidation method, in: Zeng, J.M., Kim, Y.H., Chen, Y.F. (Eds.), *New Materials, Applications And Processes, Pts 1-3*. Trans Tech Publications Ltd, Stafa-Zurich, pp. 949-953.

Lutz, J.F., Stiller, S., Hoth, A., Kaufner, L., Pison, U., Cartier, R., 2006. One-pot synthesis of PEGylated ultrasmall iron-oxide nanoparticles and their in vivo evaluation as magnetic resonance imaging contrast agents. *Biomacromolecules* 7, 3132-3138.

Ma, D.L., Guan, J.W., Normandin, F., Denomme, S., Enright, G., Veres, T., Simard, B., 2006. Multifunctional nano-architecture for biomedical applications. *Chem Mater* 18, 1920-1927.

Moon, J.W., Rawn, C.J., Rondinone, A.J., Love, L.J., Roh, Y., Everett, S.M., Lauf, R.J., Phelps, T.J., 2010. Large-scale production of magnetic nanoparticles using bacterial fermentation. *J Ind Microbiol Biot* 37, 1023-1031.

Pazhanivelu, V., Selvadurai, A.P.B., Zhao, Y.S., Thiyagarajan, R., Murugaraj, R., 2016. Room temperature ferromagnetism in Mn doped ZnO: Co nanoparticles by co-precipitation method. *Physica B* 481, 91-96.

Reddy, L.H., Arias, J.L., Nicolas, J., Couvreur, P., 2012. Magnetic Nanoparticles: Design and Characterization, Toxicity and Biocompatibility, Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Chem Rev* 112, 5818-5878.

Xu, C.J., Sun, S.H., 2007. Monodisperse magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Polym Int* 56, 821-826.



## 源清单估算化石碳和生物碳对 OC、EC 贡献

苏涛

STREETS 等人用源清单估算了全国及 31 个省份 1995 年和 2020 年 BC 的排放量, 其中全国总排放量分别为 1342.0Gg 和 1224.4Gg; 并且给出了这两个年份燃煤、生物燃料、燃油对 BC 的贡献值, 分别为 51.6%、44%、4.4%和 50.6%、36.3%、13.1%(Streets et al., 2001), 即化石碳和生物碳对 BC 的贡献分别为 56%、44%和 63.7%、36.3%。STREETS 等人用源清单估算也了 2000 年中国 BC、OC 的排放量, 分别为 1.05Tg 和 3.4Tg; 并且估算了生物碳对它们 BC、OC 的贡献, 分别为 44%和 22%(Streets, 2003)。根据 STREETS 等人给出的不同省份不同行业 1995 年和 2020 年 BC 排放量估计, 我们可以计算出其化石碳和生物碳贡献值。我们将民用生物燃料和田地燃烧归为生物碳贡献, 其它归为化石碳贡献, 如 1995 年和 2020 年全国这两个贡献量分别为 512.0Gg、74.7Gg 和 386.8Gg、56.1 Gg, 则已知的全国 BC 总排放量可以得出 1995 年和 2020 年生物碳对 BC 排放的贡献值分别为 43.7%和 36.2%, 与 STREETS 等人得出的 44%和 36.3%相差不大, 由此我们可以得到 1995 年和 2020 年不同省份化石碳和生物碳对 BC 的贡献值(如表 1 所示)。

从表中我们可以看出天津市 1995 年化石碳和生物碳对 BC 的贡献分别为 89%和 11%。而马建中用源清单估算了 2003 年天津市 EC 和 OC 排放量, 分别为 13.0Gg 和 24.0Gg; 并且估算了燃煤、移动源、秸秆燃烧对 EC 和 OC 的贡献, 分别是 42%、43%、15%和 42%、35%、23%(马建中, 2009), 即天津市 2003 年化石碳、生物碳对 EC 和 OC 的贡献分别是 85%、15%和 77%、23%。对比这两个化石碳和生物碳对 EC(BC)的贡献, 发现其值基本一致, 说明源清单估算不同省份贡献方法是正确并可行的。

源清单的应用越来越广泛, 但源清单存在着较大不确定性。影响源清单估算误差的因素主要包括排放因子、人类活动水平、燃料性质及除尘效率等(马建中, 2009)。特别是排放因子和人类活动水平不准确而导致的不确定度较大, 例如曹

国良等人(Cao et al., 2006)估算碳质气溶胶排放量比原先的研究量高,主要是由于原先农村产业和居民使用的燃煤燃烧估计量过低;并且在中国很少有当地已测量的排放因子,所以我们被迫使用其它国家的一些数据或者某些情况下使用全球平均排放因子(Cao et al., 2006)。这些都与中国实际情况不完全符合,存在着较大不确定度。在计算 BC、OC 排放量时,需要用到 BC、OC 排放因子,但很少有直接实验测量燃料燃烧时 BC 和 OC 排放因子,特别是在中国(W. Kirchstetter et al., 1999)。BC 和 OC 排放是由颗粒物排放因子和颗粒物中碳质组分比例计算出的(Bond et al., 2004; Streets, 2003; Streets et al., 2001)。正是由于测量的颗粒物排放因子和颗粒物中 BC 和 OC 的比值有着明显的差异(Chen et al., 2005)以及较广范围的排放因子在模型中被使用(Cao et al., 2006),所以估算时使用的 BC 和 OC 排放因子不确定度较大,即得出的贡献也有较大不确定性。总之源清单所依据的统计数据和技术信息得到完善,将大大提高源清单估算的确定度。

表 1: 1995 年和 2020 年不同省份化石碳和生物碳对 BC 的贡献值

省份	1995			2020		
	总排放量 (Gg)	化石碳贡献	生物碳贡献	总排放量 (Gg)	化石碳贡献	生物碳贡献
安徽	30.7	0.238	0.762	29.0	0.390	0.610
北京	27.9	0.914	0.086	11.3	0.876	0.124
福建	23.0	0.352	0.648	22.2	0.432	0.568
甘肃	28.3	0.675	0.325	23.0	0.674	0.326
广东	36.2	0.671	0.329	42.7	0.782	0.218
广西	30.9	0.236	0.764	27.5	0.309	0.691
贵州	72.6	0.730	0.270	99.1	0.839	0.161
海南	2.2	0.318	0.682	2.6	0.538	0.462
河北	83.6	0.688	0.312	79.3	0.750	0.250
黑龙江	57.7	0.477	0.523	43.8	0.463	0.537
河南	77.0	0.530	0.470	69.9	0.608	0.392
香港	1.7	1.000	0.000	2.7	1.000	0.000

湖北	83.5	0.544	0.456	107.1	0.722	0.278
湖南	80.7	0.572	0.428	68.7	0.592	0.408
江苏	63.4	0.345	0.655	48.9	0.515	0.485
江西	40.0	0.420	0.580	38.0	0.511	0.489
吉林	47.4	0.538	0.462	35.2	0.511	0.489
辽宁	75.2	0.633	0.367	57.6	0.628	0.372
内蒙古	29.2	0.572	0.428	25.7	0.619	0.381
宁夏	5.6	0.571	0.429	5.6	0.661	0.339
青海	6.8	0.794	0.206	4.9	0.776	0.224
陕西	31.8	0.550	0.450	27.8	0.586	0.414
山东	78.9	0.450	0.550	70.0	0.654	0.346
上海	10.4	0.875	0.125	11.4	0.930	0.070
山西	43.8	0.906	0.094	34.0	0.918	0.082
四川	127.4	0.471	0.529	111.4	0.510	0.490
天津	21.8	0.890	0.110	5.9	0.780	0.220
新疆	41.2	0.862	0.138	27.6	0.833	0.167
西藏	1.6	0.563	0.438	1.5	0.600	0.400
云南	47.8	0.517	0.483	59.2	0.676	0.324
浙江	32.8	0.332	0.668	31.3	0.466	0.534
全国	1342.0	0.563	0.437	1224.4	0.638	0.362

## 参考文献

Bond, T.C., Streets, D.G., Yarber, K.F., Nelson, S.M., Woo, J.H., Klimont, Z., 2004. A technology-based global inventory of black and organic carbon emissions from combustion. *J Geophys Res-Atmos* 109.

Cao, G., Zhang, X., Zheng, F., 2006. Inventory of black carbon and organic carbon emissions from China. *Atmospheric Environment* 40, 6516-6527.

Chen, Y.J., Sheng, G.Y., Bi, X.H., Feng, Y.L., Mai, B.X., Fu, J.M., 2005. Emission

factors for carbonaceous particles and polycyclic aromatic hydrocarbons from residential coal combustion in China. *Environ Sci Technol* 39, 1861-1867.

Streets, D.G., 2003. An inventory of gaseous and primary aerosol emissions in Asia in the year 2000. *Journal of Geophysical Research* 108, 8809.

Streets, D.G., Gupta, S., Waldhoff, S.T., Wang, M.Q., Bond, T.C., Bo, Y.Y., 2001. Black carbon emissions in China. *Atmospheric Environment* 35, 4281-4296.

W. Kirchstetter, T., Harley, R.A., Kreisberg, N.M., Stolzenburg, M.R., Hering, S.V., 1999. On-road measurement of fine particle and nitrogen oxide emissions from light- and heavy-duty motor vehicles. *Atmospheric Environment* 33, 2955-2968.

马建中, 2009. 天津市 EC 和 OC 气溶胶排放源的估算. *环境科学研究* 22, 1269-1275.



## 土壤微生物群落组成结构和多样性研究进展（二）

孙迎韬

### 高通量测序技术定义

高通量测序技术 (High-throughput sequencing), 又称“下一代测序”, 以能一次并行对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定和一般读长较短等为标志。高通量测序法不仅通量高, 且同时能够分析数以百计的不同环境样品, 此外, 能较为客观地反映环境低丰度的重要功能微生物, 是研究复杂环境中微生物群落的组成、结构、遗传进化关系和功能活性等的重要工具 (Shendure et al., 2008; Kim et al., 2013; Rinke et al., 2013)

### 高通量测序技术分类

根据其原理高通量测序可分为两类:聚合酶合成测序和连接酶合成测序。

**聚合酶合成测序法**包括 Roche 公司的 454 技术和 Illumina 的 Solexa 技术。454 采用焦磷酸合成测序法, 依靠生物发光进行 DNA 序列分析的新技术, 避免 Sanger 测序法的荧光标记和跑琼脂糖胶的繁琐步骤, 而利用 GS FLX 系统对 DNA 分子进行扩增, 实现了大规模并行测序 (Rochberg et al., 2008)。Illumina/Solexa 测序技术的基本原理是边合成边测序(sequencing by synthesis, SBS), 即测序以环境样品基因组 DNA 单链为模板, 在合成互补链时, 利用带荧光标记的 dNTP 发出不同颜色的荧光来确定不同的碱基(Seo et al., 2005; Ju et al., 2006)。此外, 随着双端测序(pairedend, PE)技术的成熟, 测序长度可达到单端测序的 2 倍。与 454 相比, Solexa 拥有更高的通量, 更低的成本。虽测序片段长度仍较短, 但对多数基因组研究来说, Solexa 仍为第二代测序技术的首选(Turcatti et al., 2008)。

**连接酶合成测序法**代表性的是 ABI 公司的 SOLID 测序仪技术。SOLID 高通量测序技术以四色荧光标记寡核苷酸的连续连接合成 (“双碱基编码原理”) 为基础, 取代了传统的聚合酶连接反应, 采用 DNA 连接酶可对单拷贝 DNA 片段进行边合成边测序。由于其测序过程中应用双碱基编码, 即每个碱基被重复阅读

2 次，读取长度可达  $2 \times 50$  bp，这样就使得 SOLID 系统原始碱基数据的准确度大于 99.94%，从而很大程度上降低错误率（秦贞奎, 2011）。

## 高通量测序技术研究进展

近年来，高通量测序技术被广泛应用于土壤、海洋、肠道以及极端环境如尾矿、沙漠和永冻土等环境样品的微生物群落组成分析研究（Roesch et al., 2007; Petrosino et al., 2009; Fierer et al., 2012; Fang et al., 2014; Morgan et al., 2014; Xu et al., 2014）。其中，应用最广泛的为针对基于 16S rDNA 基因扩增的细菌组成和多样性研究（Sogin et al., 2006; Murphy et al., 2010; Rousk et al., 2010; Nacke et al., 2011; Serino et al., 2012）。此外，大量学者针对环境样品中特殊功能的微生物的功能基因进行高通量测序分析，如针对氮循环功能微生物的固氮还原酶 *nifH* 基因和氨基氧化酶 *amoA* 基因等（Mou et al., 2008; Pegard et al., 2009; Kowalczyk et al., 2011）。这些研究揭示了各个功能菌群的构成和多样性，同时能在更精确的分类水平(比如种属水平)对微生物的群落进行更深入的研究（Gilbert et al., 2009; Di et al., 2013）。高通量测序技术则能够在整体微生物群落的组成、结构、遗传进化关系和功能活性等，并能较为客观地反映其中低丰度的重要功能微生物。近年来高通量测序通量的增加、成本的降低和海量数据分析方法日趋成熟，将进一步扩大其在不同生境的应用范围（Kim et al., 2013）。

## 参考文献

- Di Bella, J.M., Bao, Y.G., Gloor, G.B., Burton, J.P., Reid, G., 2013. High throughput sequencing methods and analysis for microbiome research. *J Microbiol Meth* 95, 401-414.
- Fang, H., Cai, L., Yang, Y., Ju, F., Li, X.D., Yu, Y.L., Zhang, T., 2014. Metagenomic analysis reveals potential biodegradation pathways of persistent pesticides in freshwater and marine sediments. *Sci Total Environ* 470, 983-992.
- Fierer, N., Leff, J.W., Adams, B.J., Nielsen, U.N., Bates, S.T., Lauber, C.L., Owens, S., Gilbert, J.A., Wall, D.H., Caporaso, J.G., 2012. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *P Natl Acad Sci USA* 109,

21390-21395.

Gilbert, J.A., Dupont, C.L., 2011. Microbial Metagenomics: Beyond the Genome. *Annual Review of Marine Science*, Vol 3 3, 347-371.

Ju, J.Y., Kim, D.H., Bi, L.R., Meng, Q.L., Bai, X.P., Li, Z.M., Li, X.X., Marma, M.S., Shi, S., Wu, J., Edwards, J.R., Romu, A., Turro, N.J., 2006. Four-color DNA sequencing by synthesis using cleavable fluorescent nucleotide reversible terminators. *P Natl Acad Sci USA* 103, 19635-19640.

Kim, M.J., Nelson, W., Soderlund, C.A., Gang, D.R., 2013. Next-Generation Sequencing-Based Transcriptional Profiling of Sacred Lotus "China Antique". *Trop Plant Biol* 6, 161-179.

Kowalczyk, R., Taberlet, P., Coissac, E., Valentini, A., Miquel, C., Kaminski, T., Wojcik, J.M., 2011. Influence of management practices on large herbivore diet-Case of European bison in Bialowieza Primeval Forest (Poland). *Forest Ecol Manag* 261, 821-828.

Morgan, X.C., Huttenhower, C., 2014. Meta'omic Analytic Techniques for Studying the Intestinal Microbiome. *Gastroenterology* 146, 1437-U1424.

Mou, X.Z., Sun, S.L., Edwards, R.A., Hodson, R.E., Moran, M.A., 2008. Bacterial carbon processing by generalist species in the coastal ocean. *Nature* 451, 708-U704.

Murphy, E.F., Cotter, P.D., Healy, S., Marques, T.M., O'Sullivan, O., Fouhy, F., Clarke, S.F., O'Toole, P.W., Quigley, E.M., Stanton, C., Ross, P.R., O'Doherty, R.M., Shanahan, F., 2010. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut* 59, 1635-1642.

Pegard, A., Miquel, C., Valentini, A., Coissac, E., Bouvier, F., Francois, D., Taberlet, P., Engel, E., Pompanon, F., 2009. Universal DNA-Based Methods for Assessing the Diet of Grazing Livestock and Wildlife from Feces. *J Agr Food Chem* 57, 5700-5706.

Petrosino, J.F., Highlander, S., Luna, R.A., Gibbs, R.A., Versalovic, J., 2009. Metagenomic Pyrosequencing and Microbial Identification. *Clin Chem* 55, 856-866.

Rinke, C., Schwientek, P., Sczyrba, A., Ivanova, N.N., Anderson, I.J., Cheng, J.F.,

Darling, A., Malfatti, S., Swan, B.K., Gies, E.A., Dodsworth, J.A., Hedlund, B.P., Tsiamis, G., Sievert, S.M., Liu, W.T., Eisen, J.A., Hallam, S.J., Kyrpides, N.C., Stepanauskas, R., Rubin, E.M., Hugenholtz, P., Woyke, T., 2013. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature* 499, 431-437.

Roesch, L.F., Fulthorpe, R.R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A.K.M., Kent, A.D., Daroub, S.H., Camargo, F.A.O., Farmerie, W.G., Triplett, E.W., 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *Isme J* 1, 283-290.

Rothberg, J.M., Leamon, J.H., 2008. The development and impact of 454 sequencing. *Nat Biotechnol* 26, 1117-1124.

Rousk, J., Baath, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *Isme J* 4, 1340-1351.

Seo, T.S., Bai, X.P., Kim, D.H., Meng, Q.L., Shi, S.D., Ruparel, H., Li, Z.M., Turro, N.J., Ju, J.Y., 2005. Four-color DNA sequencing by synthesis on a chip using photocleavable fluorescent nucleotides. *P Natl Acad Sci USA* 102, 5926-5931.

Serino, M., Luche, E., Gres, S., Baylac, A., Berge, M., Cenac, C., Waget, A., Klopp, P., Iacovoni, J., Klopp, C., Mariette, J., Bouchez, O., Lluch, J., Ouarne, F., Monsan, P., Valet, P., Roques, C., Amar, J., Bouloumie, A., Theodorou, V., Burcelin, R., 2012. Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota. *Gut* 61, 543-553.

Sogin, M.L., Morrison, H.G., Huber, J.A., Mark Welch, D., Huse, S.M., Neal, P.R., Arrieta, J.M., Herndl, G.J., 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *P Natl Acad Sci USA* 103, 12115-12120.

秦贞奎.栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)性别分化相关基因的筛选以及两个相关基因的表达分析[D].青岛:中国海洋大学,2011:12