

DOI: 10.3880/j.issn.1004-6933.2015.02.008

饮用水中剑水蚤体表携带细菌机制研究

蔡 博¹, 谢美萍², 颜 勇², 林 涛¹, 陈 卫¹

(1. 河海大学环境学院, 江苏 南京 210098; 2. 扬州自来水有限责任公司, 江苏 扬州 225000)

摘要: 研究我国饮用水中剑水蚤体表携带细菌的来源, 其细菌种属、优势菌属与自然水体中细菌种属、优势菌属的区别, 以及细菌在剑水蚤体表分布的情况。结果表明: 剑水蚤体表细菌主要来源于自然水体, 其细菌种属与自然水体中的细菌种属相似度高达 74.8%, 而剑水蚤体表细菌的优势菌属与自然水体中细菌的优势菌属存在的差别较小; 自然水体中的优势菌属在剑水蚤体表不一定是优势菌属; 自然水体中自由细菌数量上比剑水蚤体表携带的细菌多。利用绿色荧光蛋白标记技术, 发现标记绿色荧光蛋白的大肠杆菌在剑水蚤体表分布不均匀, 细菌主要聚集在剑水蚤足部、尾部等长有刚毛的部位, 剑水蚤背部与腹部关节部位也附着部分细菌, 雌性剑水蚤的卵囊是细菌的重要载体。

关键词: 饮用水; 剑水蚤; 细菌种属; 优势菌属; 绿色荧光蛋白; 细菌携带机制

中图分类号: Q938.8 文献标志码: A 文章编号: 1004-6933(2015)02-0040-05

On bacteria-carrying mechanism of surface of *Cyclops* in drinking water

CAI Bo¹, XIE Meiping², YAN Yong², LIN Tao¹, CHEN Wei¹

(1. College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China;

2. Yangzhou Tap Water Co., Ltd, Yangzhou 225000, China)

Abstract: The author of this paper researched the source, species and distribution of the bacteria attached to the surface of *Cyclops*. The results indicate that the bacteria attached to the surface of *Cyclops* are from natural water body, and the similarity of the species between the bacteria attached to the surface of *Cyclops* and those in natural water body is as high as 74.8%. There is a little difference between the dominant bacteria species on the surface of *Cyclops* and those in natural water body. The dominant bacteria species in nature water body is not the dominant one on the surface of *Cyclops*. The number of free-living bacteria in natural water body is more than those attached to the surface of *Cyclops*. A phenomenon is found that bacteria are distributed unevenly on the surface of *Cyclops* by using the technology of green fluorescent protein. The bacteria mainly focus on the foot and tail of *Cyclops*, which are covered with specialized setae. There are also many bacteria attached to the joint of the back and abdomen of *Cyclops*. The oocyst of female *Cyclops* is another important carrier of bacteria.

Key words: drinking water; *Cyclops*; bacteria species; dominant bacteria species; green fluorescent protein; bacteria-carrying mechanism

饮用水安全是公共卫生安全体系的重要组成部分, 与人民身体健康和社会稳定息息相关。2006 年我国颁布了新的生活饮用水卫生标准 (GB 5749—2006), 与 1985 年的标准相比, 水质指标由 35 项增加至 106 项, 特别是规定了隐孢子虫和贾第虫 (以

下简称“两虫”) 的水质标准为小于 0.1 个/L。近年来浮游动物作为微生物的携带载体, 引起的水质安全问题成为研究的新热点。微生物可黏附在浮游动物的体表, 使浮游动物成为微生物的携带载体^[1]。Meinhard 等^[2]指出, 微生物可黏附在浮游动

基金项目: 国家自然科学基金 (51378173)

作者简介: 蔡博 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为饮用水处理中的浮游动物细菌携带机制。E-mail: caibolaodi@126.com

物的体表中,浮游动物体表携带的微生物可占水体微生物总量的 10% 以上。浮游动物具有传播细菌的能力,能在单独的水层之间向上、向下扩散细菌^[3]。Wolmarans 等^[4]发现,浮游动物个体可携带 10 ~ 400 个微生物,包括可引起腹泻的 *Aeromonas hydrophila* 和引起脑膜炎的 *Chryseobacterium meningosepticum*。受到浮游动物的保护,浮游动物所携带的微生物具有较强的抗消毒能力,对供水安全造成潜在的威胁。Tang 等^[5]研究表明,浮游动物的体表保护使其携带的微生物对余氯的抵抗能力增加 30 ~ 120 倍,未被灭活的微生物释放至水中,3 d 内恢复到 106 CFU/mL 的水平。Grossart 等^[6]发现贫营养水体的细菌比富营养化水体的细菌能更加牢固地附着于桡足类浮游动物,能更好地抵御环境波动。国外针对此类焦点问题的研究较早,但对浮游动物黏附细菌的机制缺乏探讨,细菌在浮游动物体表分布的情况还未见报道。

现代分子生物学技术能够揭示 DNA 序列遗传多态性,可以用于鉴定生物种群系统发育关系,并通过数据库比较鉴定未知微生物,其中基于 16S rDNA 分子生物学技术已被广泛应用^[7-9]。本文以取自某水厂活性炭滤池的剑水蚤为研究对象,通过 PCR-DGGE 技术分析自然水体中细菌与剑水蚤体表携带细菌的种属差异,探究剑水蚤体表细菌来源,分析优势菌属的变化情况,推测细菌在自然水体与剑水蚤体表生存环境的差异。

绿色荧光蛋白标记(GFP)是一种细胞示踪技术,由于具有自发荧光等特性,可以用于观察肉眼无法看到的过程,在生物学领域得到广泛应用^[10-12]。本研究采用增强型绿色荧光蛋白(EGFP)对大肠杆菌进行标记,研究大肠杆菌在剑水蚤体表附着分布情况,系统分析细菌在剑水蚤体表附着机制。

1 试验材料与方法

根据水厂活性炭滤池中水蚤优势种属分布情况,本文选用桡足类水蚤中最具代表性的剑水蚤作为研究对象。试验中所用的器具和耗材均经过高温灭菌处理,试验在无菌工作室和超净工作台上进行。

1.1 剑水蚤体表细菌的提取与检测方法

剑水蚤样取自苏州市某水厂活性炭滤池,取样时间为 2014 年 5 月。原水水温为 24 °C, pH 值为 7.7, DO 质量浓度为 7.46 mg/L, BOD₅ 质量浓度为 1.39 mg/L, TP 质量浓度为 0.03 mg/L, TN 质量浓度为 2.74 mg/L。为研究剑水蚤体表细菌与自然水体的关系,试验过程中采用自然水体喂养剑水蚤。喂养 1 周后,成体剑水蚤死亡,幼体的剑水蚤正好经历

了从蚤卵发育成熟的过程,取这时的成体剑水蚤进行后续试验,同时收集部分培养用的太湖水(0.1 mL),用琼脂培养基 37 °C 下培养 24 h,收集的菌样即为自然水体中自由细菌。

取 15 只成体剑水蚤为 1 组,置于 200 目无菌滤网上,用无菌磷酸缓冲液冲洗 3 遍以上,收集最后一次冲洗液(0.1 mL),用琼脂培养基 37 °C 下培养 24 h,检测水蚤是否冲洗干净。

将剑水蚤转移至 50 mL 离心管中,加入 28 mL 无菌水和 2 mL 解吸附试剂。解吸附试剂的成分为:氯化钠 9%、聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯 1%、磷酸氢二钠 2.83%、磷酸二氢钾 1.36%、无菌水 85.81%。充分混匀后,2 000 rpm、25 °C,离心 3 min,取离心后的上清液,用琼脂培养基 37 °C 下培养 24 h,收集的菌样即为剑水蚤体表携带的细菌。

1.2 细菌基因组 DNA 提取方法

用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取水中自由细菌和剑水蚤体表携带的细菌的基因组 DNA。细菌基因组 DNA 提取试剂盒由上海捷瑞生物有限公司提供。用提取得到的 DNA 模板进行后续的 PCR-DGGE 试验,引物使用细菌 V3 区通用引物(由上海生物工程有限公司合成)518 R: 5-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3; GC338F: 5-CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGG CGG GGC GGG GGC GCG GGG GGC CTA CGG GAG GCA GC AG-3^[13]对模板 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 程序设定为:使用 0.2 mL PCR 管,采用 50 μL 系统;95 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 1 min,65 °C ~ 55 °C 退火,每循环降低 0.5 °C 1 min,72 °C 复性 45 s(共循环 20 次);94 °C 变性 1 min,55 °C 退火 1 min,72 °C 复性 45 s(循环 12 次);72 °C 延伸 8 min;4 °C 保存(共循环 32 次)。DGGE 试验采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶,变性剂浓度梯度为 35% ~ 65%,电泳电压 120 V,跑胶 8 h,SYBR Green I 染色,切胶回收 DNA 条带,再送往上海生物工程有限公司进行克隆测序,对 DNA 测序结果使用 Blast 鉴定菌种,并进行细菌群落结构分析。PCR 混合液和重蒸水(dd H₂O)由上海捷瑞生物有限公司提供。PCR 仪器使用 Bio-Rad C1000PCR 仪。DGGE 电泳仪采用 Bio-Rad Dcode 通用突变检测系统(Dcode System for DGGE)。

1.3 剑水蚤体表附着细菌形成机制研究方法

为研究水中细菌在浮游动物体表附着分布情况,需要对细菌进行示踪标记。本研究采用绿色荧光蛋白标记法(GFP),考虑到浮游动物体表携带细菌数量有限,选用增强型绿色荧光蛋白(EGFP)作为表达蛋白,表达载体选用 pET-28a,表达菌株选用

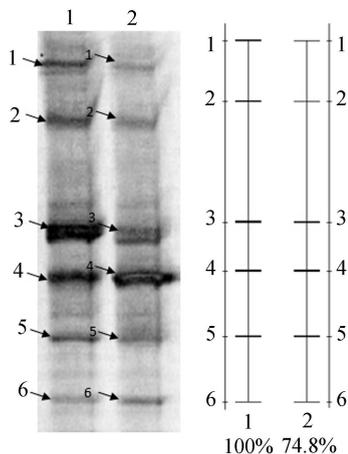
大肠杆菌 OP50 (*E. coli* OP50)。EGFP-pET-28a 由上海生物工程有限公司提供,大肠杆菌 OP50 购自南京便诊生物科技有限公司。

将上述经过体表细菌解吸附的剑水蚤收集置于无菌 200 目滤网上,用无菌磷酸缓冲液冲洗 3 遍以上,然后转移至一个 100 mL 无菌烧杯中,加入约 50 mL 无菌水,并加入经过绿色荧光蛋白表达的大肠杆菌,使水中大肠杆菌浓度约为 10^8 CFU/mL。经过 3 h,可以认为大肠杆菌已经充分附着于剑水蚤体表^[14]。再将剑水蚤置于 200 目无菌滤网上,用无菌磷酸缓冲液冲洗 3 遍以上,充分洗净未被附着的自由细菌。用荧光显微镜观察,荧光激发波波长为 484 ~ 507 nm。

2 试验结果与讨论

2.1 剑水蚤体表携带细菌来源

通过 PCR-DGGE 试验,凝胶电泳结果见图 1。泳道 1 表示自然水体中的自由细菌种属,泳道 2 表示剑水蚤体表携带的细菌种属。从图 1 中可以直观地看出剑水蚤体表细菌与水中自由细菌种类基本一致,条带相似性分析证实了二者相似度高达 74.8%。这表明剑水蚤体表携带的细菌主要来自于水体环境,且细菌种类与水中自由细菌种类高度一致。Tang 等^[5]认为浮游动物携带的细菌与水体中的自由细菌不是相互孤立的,二者存在一定联系。水体中自由细菌可以附着于浮游动物体表,成为浮游动物体表携带的细菌,同时浮游动物体表携带的细菌也可能由于浮游动物剧烈运动,受到水流冲刷作用而进入自然水体成为自由细菌。



注:图中的数字为条带编号对应的菌种

图 1 细菌基因组 DGGE 指纹图谱及条带相似性分析结果

相似度对应种属、DNA 测序结果见表 1。使用 Quantity One 软件计算条带 Trace 值可以近似分析各菌属数量上的差异,Trace 值以及换算后菌属所占

比例见表 2。结合表 1 与表 2,可以发现,由于剑水蚤体表与自然水体环境的差异,导致不同菌属的数量也存在差异。如,自然水体中的自由细菌 1 号菌属鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii* ACICU) 的数量约是其在剑水蚤体表的 2 倍。而在自然水体中占绝对优势的 3 号菌属变形杆菌属 (*Betaproteobacteria bacterium*) 在剑水蚤体表数量减少较多。整体来看,自然水体中的自由细菌数量比剑水蚤体表细菌丰富。二者在细菌种类上没有差异,但是各菌属所占比例以及优势菌属种类存在一定差异。

表 1 原水水样中的细菌及剑水蚤体表携带的细菌鉴定结果

条带编号	细菌种属	相似度/%
1	<i>Acinetobacter baumannii</i> ACICU	100
2	<i>C. albicans</i> small subunit	99
3	<i>Betaproteobacteria bacterium</i>	97
4	<i>Bacillus thuringiensis</i> HD-771	99
5	Uncultured <i>Leptospirillum</i> sp.	98
6	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> strain	99

表 2 DGGE 条带 DNA Quantity Trace 值

条带编号	泳道 1 Trace 值/int×mm	泳道 1 菌属 所占比例/%	泳道 2 Trace 值/int×mm	泳道 2 菌属 所占比例/%
1	152.794	11.788	77.576	8.296
2	148.339	11.445	124.626	13.328
3	476.198	36.739	194.755	20.828
4	314.860	24.292	347.214	37.133
5	137.051	10.574	96.599	10.331
6	66.914	5.162	94.280	10.083

2.2 剑水蚤体表细菌分布情况

GFP 荧光显微镜分析结果见图 2。剑水蚤身体各部位携带细菌能力不一样,细菌主要富集在剑水蚤的足部,而剑水蚤甲壳质背部的细菌很少,也有少部分细菌藏在剑水蚤背部甲壳的关节部位(图 2(A))。剑水蚤的腹部以及尾部也容易黏附细菌,如图 2(B)和图 2(C)所示。在剑水蚤颚部、腹部与尾部位置有明显的荧光亮点,表明在这些部位含有大量绿色荧光蛋白标记的细菌。此外,雌性剑水蚤的卵囊也是细菌的重要载体。从图 2(D)中可以看出,雌性剑水蚤的卵囊部位荧光信号强烈,表明剑水蚤卵囊可以携带大量细菌。

造成细菌在剑水蚤体表分布不均的主要原因是剑水蚤体表结构的差异。剑水蚤属于桡足类浮游动物,长有 5 对作为游泳器官的胸足,具有发达的羽状刚毛。其颚部长有触角,触角上也长有羽状刚毛,方便剑水蚤滤食水中食物。尾叉的背面有纵行隆线,内缘有 1 列刚毛。甲壳类浮游动物刚毛多由几丁质物质构成。几丁质具有丰富的氨基和羟基,对重金

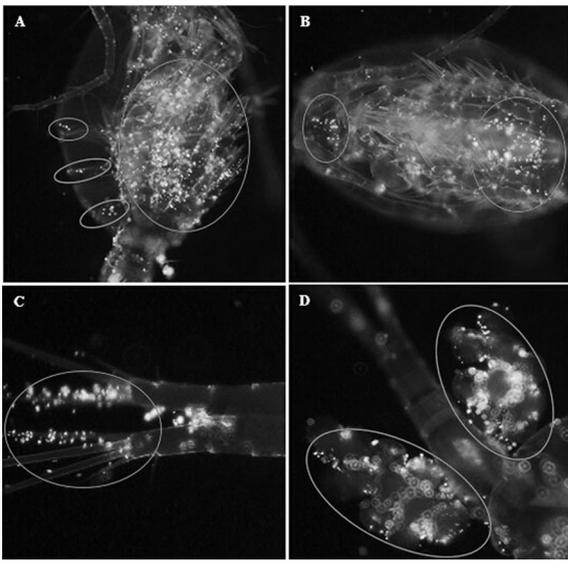


图2 剑水蚤体表附着绿色荧光蛋白标记的大肠杆菌

属离子有较高的络合能力,并且能吸附水中的悬浮颗粒,吸附颜料颜色等,是一种天然吸附剂^[15],对细菌也有一定的吸附作用。因而剑水蚤的足部、颚部和尾部是细菌的主要聚集场所。剑水蚤光滑的甲壳经常在游泳的时候受水流冲刷,因而不易稳定附着细菌,但是其甲壳连接部位的节间膜受水流冲刷作用较小,表面存在就较多褶皱,可以任意折叠,具有较强的可伸缩性和较大的比表面^[16],容易黏附水中的营养物质,是细菌很好的生长场所,因而在剑水蚤的背部及腹部的关节连接部位富集有细菌。雌性剑水蚤在生殖繁衍时,由输卵管分泌物把卵聚集成大小、形状和位置不同的卵囊,悬挂于雌体腹面两侧,形成两个卵囊。这种输卵管分泌物在黏附蚤卵的同时,也会附着大量细菌^[17]。翟宝香等^[18]通过电镜观察,发现轮虫卵表面存在大量气孔,这些气孔往往黏附一些物质。剑水蚤的蚤卵与轮虫卵具有相似的结构,表面也会有大量气孔,能吸附水中一些物质。这使雌性剑水蚤的卵囊成为细菌的一个重要载体,雌性剑水蚤能够比雄性剑水蚤携带更多数量的细菌^[19]。

3 结论

a. 剑水蚤体表细菌主要来源于自然水体,且与水中的自然细菌存在一定联系,二者在一定情况下可以相互转化。

b. 剑水蚤体表细菌与自然水体中的自由细菌在种类上趋于一致,二者相似度高达 74.8%,而在优势菌属种群上存在略微差别。自然水体中占绝对优势的自由细菌在剑水蚤体表不一定能成为优势菌属。此外,自由细菌在数量上多于剑水蚤体表携带细菌。

c. 剑水蚤体表细菌分布不均匀,细菌主要聚集

在剑水蚤足部与尾部等长有刚毛的部位,剑水蚤甲壳之间的节间膜,如背部和腹部的关节部位,也长有部分细菌;雌性剑水蚤的卵囊是细菌的重要载体,这也是雌性剑水蚤比雄性剑水蚤对饮用水安全威胁更大的一个原因。

d. 剑水蚤不同部位对细菌的黏附能力不同,不同器官针对细菌的黏附机制不同。

参考文献:

- [1] WEEKS M A, LEADBEATER B S C, CALLOW M E, et al. Effects of backwashing on the prosobranch snail *Potamopyrgus jenkinsi* Smith in granular activated carbon (GAC) adsorbers [J]. *Water Research*, 2007, 41(12): 2690-2696.
- [2] MEINHARD S, HANS PETER G, BERND S, et al. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 28(2): 175-211.
- [3] GROSSART H P, DZIALLAS C, LEUNERT F, et al. Bacteria dispersal by hitchhiking on zooplankton [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(26): 11959-11964.
- [4] WOLMARANS E, DUPREEZ H H, DEWET C M E, et al. Significance of bacteria associated with invertebrates in drinking water distribution networks. [J]. *Water Science and Technology*, 2005, 52(8): 171-175.
- [5] TANG K W, DZIALLAS C, GROSSART H. Zooplankton and aggregates as refuge for aquatic bacteria: protection from UV, heat and ozone stresses used for water treatment [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(2): 378-390.
- [6] GROSSART H, DZIALLAS C, TANG K W. Bacterial diversity associated with freshwater zooplankton [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(1): 50-55.
- [7] 张宝涛,王立群,伍宁丰,等. PCR-DGGE 技术及其在微生物生态学中的应用[J]. *生物信息学*, 2006, 4(3): 132-134. (ZHANG Baotao, WANG Liqun, WU Ningfeng, et al. Application of PCR-DGGE in microbial ecology [J]. *China Journal of Bioinformatics*, 2006, 4(3): 132-134 (in Chinese))
- [8] LI Y, LI F, ZHANG X, et al. Vertical distribution of bacterial and archaeal communities along discrete layers of a deep-sea cold sediment sample at the East Pacific Rise (13°N) [J]. *Extremophiles*, 2008, 12(4): 573-585.
- [9] 原雅维,傅莲英,刘国生,等. 海水养殖沉积环境细菌多样性 PCR-DGGE 分析[J]. *河南师范大学学报:自然科学版*, 2010, 38(5): 150-154. (YUAN Yawei, FU Lianying, LIU Guosheng, et al. Bacterial diversity in sediments of aquaculture environment using PCR-DGGE

- [J]. Journal of Henan Normal University: Natural Science, 2010, 38(5): 150-154. (in Chinese))
- [10] 卫吉芸,刘桂林. 绿色荧光蛋白及在生物技术研究中的应用[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2011, 31(3): 100-101. (WEI Jiyun, LIU Guilin. The application of green fluorescent protein in biotechnology [J]. Animal Science Abroad(Pigs and Poultry), 2011, 31(3): 100-101. (in Chinese))
- [11] 田涛,王琦. 绿色荧光蛋白作为分子标记物在微生物学中的应用[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(1): 68-72. (TIAN Tao, WANG Qi. The application of green fluorescent protein (GFP) as molecular marker in microbiology [J]. Journal of Microbiology, 2005, 25(1): 68-72. (in Chinese))
- [12] 董惠钧,付景林,李永泉,等. 微流控芯片监测绿色荧光蛋白在枯草芽孢杆菌中的表达[J]. 生物工程学报, 2009, 6(7): 1077-1081. (DONG Huijun, FU Jinglin, LI Yongquan, et al. Microfluidic chip for detecting the expression of green fluorescent protein in *Bacillus subtilis* [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 6(7): 1077-1081. (in Chinese))
- [13] AMPE F, BEN O N, MOIZAN C, et al. Polyphasic study of the spatial distribution of microorganisms in Mexican pozol, a fermented maize dough, demonstrates the need for cultivation-independent methods to investigate traditional fermentations [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(12): 5464-5473.
- [14] BICHAÏ F, BARBEAU B, PAYMENT P. Protection against UV disinfection of *E. coli* bacteria and *B. subtilis* spores ingested by *C. elegans* nematodes [J]. Water Research, 2009, 43(14): 3397-3406.
- [15] 朱碧英,王小羽. 海洋甲壳动物中几丁质的利用[J]. 科技通报, 1986, 2(4): 29-30. (ZHU Biying, WANG Xiaoyu. The use of chitin of ocean zooplankton [J]. Science Bulletin, 1986, 2(4): 29-30. (in Chinese))
- [16] 彩万志,庞雄飞,花保祯,等. 普通昆虫学[M]. 2版. 北京:中国农业大学出版社, 2011: 83-84.
- [17] 商栩,王桂忠,李少菁. 带卵囊和自由产卵桡足类水蚤群体增殖比较研究[J]. 福建农业学报, 2005, 20(4): 251-256. (SHANG Xu, WANG Guizhong, LI Shaojing. Comparative studies on the group increasing of egg-carrying and free-spawning copepods [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2005, 20(4): 251-256. (in Chinese))
- [18] 翟宝香,李永函,赵小奕,等. 用电镜对两种轮虫休眠卵卵膜的初步观察[J]. 大连水产学院学报, 1987(1): 19-28. (ZHAI Baoxing, LI Yonghan, ZHAO Xiaoyi, et al. Preliminary observation on the membrane of the resting eggs of two kinds of rotifers with an electronic microscope [J]. Journal of Dalian Fisheries College, 1987(1): 19-28. (in Chinese))
- [19] 林涛,曹钰,陈卫. 饮用水处理中剑水蚤携带细菌的研究[J]. 华中科技大学学报:自然科学版, 2013, 41(4): 128-132. (LIN Tao, CAO Yu, CHEN Wei. Bacteria associated with *cyclops* in drinking water treatment process [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology: Natural Science Edition, 2013, 41(4): 128-132. (in Chinese))

(收稿日期:2014-07-01 编辑:彭桃英)

(上接第39页)

- [2] 夏军. 可持续水资源管理:理论·方法·应用[M]. 北京:化学工业出版社, 2005:12-16.
- [3] 冯尚友,刘国全. 水资源持续利用的框架[J]. 水科学进展, 1997, 8(4): 301-307. (FENG Shangyou, LIU Guoquan. A holistic framework for sustaining water resources utilization [J]. Advances in Water Science, 1997, 8(4): 301-307. (in Chinese))
- [4] 徐起. TRIZ 创新理论实用指南[M]. 北京:北京理工大学出版社, 2011:2-16.
- [5] 程文亮. 基于 TRIZ 创新理论的战略定位冲突解决矩阵研究 [J]. 科技管理研究, 2011(24): 159-164. (CHENG Wenliang. The matrix of strategic positioning for the conflict resolution based on TRIZ [J]. Science and Technology Management Research, 2011(24): 159-164. (in Chinese))
- [6] 程文亮,程志华,张东生. 基于 TRIZ 的管理创新体系框架研究 [J]. 科技管理研究, 2011(2): 23-57. (CHENG Wenliang, CHENG Zhihua, ZHANG Dongsheng. System framework of managerial innovation research based on TRIZ [J]. Science and Technology Management Research, 2011(2): 23-57. (in Chinese))
- [7] ZHANG Jing. Research on developing environmental protection industry based on TRIZ theory [J]. Procedia Environmental Sciences, 2010, 2:1326-1334.
- [8] 尹志杰,管玉卉,胡晓雪. 区域水资源可持续利用系统评价的集对分析模型 [J]. 水资源保护, 2010, 26(4): 28-33. (YIN Zhijie, GUAN Yuhui, HU Xiaoxue. Set pair analysis model for assessment of regional water resources sustainable utilization system [J]. Water Resources Protection, 2010, 26(4): 28-33. (in Chinese))

(收稿日期:2014-10-29 编辑:徐娟)

