

青霉菌 A1 对土壤中 Cu²⁺化学形态的影响

杜爱雪¹, 曹理想², 张仁铎¹

(1.中山大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510275; 2.中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 从一铜矿尾矿土壤中分离得到的高抗重金属盐青霉菌 A1, 对各重金属盐的最高抗性能力分别为 Cu²⁺ 150 mmol·L⁻¹、Zn²⁺ 150 mmol·L⁻¹、Pb²⁺ 35 mmol·L⁻¹、Ni²⁺ 15 mmol·L⁻¹、Cr⁶⁺ 5 mmol·L⁻¹、Cd²⁺ 5 mmol·L⁻¹。该青霉菌的生长可以增加培养液的酸性。采用室内培养方法, 研究了 A1 对土壤中 Cu²⁺化学形态的影响。结果表明, A1 的侵染使每千克土壤中水可溶态铜降低 3.8 mg, 酸提取态、氧化结合态、有机结合态铜分别增加 6.1、7.07、7.28 mg; 相比于未侵染 A1 的情况, 铜的水可溶含量降低了 23.3%, 酸提取态增加 3.1%, 氧化结合态增加 5.7%, 有机结合态增加 7.9%, 残余态减少 5.3%。因此, 青霉菌 A1 可有效地改变土壤中 Cu²⁺的化学存在形态, 影响铜的生物有效性。

关键词: 青霉; 生物有效性; 化学形态

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)05-1786-05

Effect of *Penicillium* Strain A1 on Chemical Forms of Copper in Soil

DU Ai-xue¹, CAO Li-xiang², ZHANG Ren-duo¹

(1. School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou 510275, China; 2. School of Life Science, Sun Yat -San University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Isolated from a copper mining area, *Penicillium* strain A1 has a high resistant ability to heavy metals. Tolerated levels to heavy metals of strain A1 were as follows: 150 mmol·L⁻¹ for Cu²⁺, 150 mmol·L⁻¹ for Zn²⁺, 35 mmol·L⁻¹ for Pb²⁺, 15 mmol·L⁻¹ for Ni²⁺, 5 mmol·L⁻¹ for Cr⁶⁺, 5 mmol·L⁻¹ for Cd²⁺. The growth of A1 could make increase of the acidity of its culture medium. We analyzed chemical forms of copper in soils infected by A1 or not, respectively. Results showed that the addition of A1 to soil resulted in reduction of water-soluble copper by 3.8 mg in every kilogram soil, and increase of acid-soluble form, oxidation form and organic combined form of Cu by 6.1, 7.07, and 7.28 mg in every kilogram soil, respectively. Compared with the soil not infected by A1, water-soluble copper reduced by 23.3%, the acidic form, oxidation form, and organic combined form of copper increased by 3.1%, 5.7%, and 7.9% respectively, and the residual form of copper reduced by 5.3% in the existence of A1. So conclusions were made that *Penicillium* strain A1 could change chemical forms of copper and bioavailability of copper in soil.

Keywords: *Penicillium* strain; bioavailability; chemical forms

在各种重金属元素中, 铜作为对生物影响最大、最直接的元素之一, 是有机体生命活动所必需的微量元素, 直接影响氧化还原反应中金属酶的活性^[1]。然而, 铜又可通过氧化蛋白质、分裂 DNA 和 RNA 等严重损害细胞^[2]而具有毒性, 且它的毒性强于大部分其他重金属元素。因此在有关重金属污染的研究中, 铜

污染的修复问题一直是广大研究者关注的问题。研究已表明许多微生物在铜污染修复中发挥了很好的作用^[3,4], 也筛选到了各种对铜耐受能力较强的菌株^[1,5], 从各个方面探讨了利用微生物修复土壤铜污染的理论可行性。

一般来讲, 土壤中重金属的毒性主要取决于其生物有效性。重金属的生物有效性是指重金属能对生物体产生毒性效应或被生物吸收的性质^[6]。研究已证实土壤微生物可以改变重金属的生物有效性, 而且土壤微生物影响植物对重金属的吸收主要是通过改变土壤中重金属的生物有效性而实现的, 如根际微生物可

收稿日期: 2007-10-16

基金项目: 国家自然科学基金(50779080); 广东省基金自然科学基金团队项目(06202438)

作者简介: 杜爱雪(1984—), 女, 浙江温州人, 硕士研究生, 从事水环境污染修复研究。Email: aixue_456@163.com

增加土壤中水提取态铜(即可溶性铜的浓度)在铜总含量中所占的比例,促进植物 *Elsholtzia splendens* 对铜的吸收^[7]。Whiting 等^[8]报道了抗 Zn 细菌可使遏兰菜地上部分累积的 Zn 量提高 1 倍,Zn 总量提高了 4 倍(相比于未添加菌的情况)。同时对不能超累积 Zn 的 *Thlaspi arvense* 进行类似试验,结果表明根际细菌的加入虽然没有增加 *Thlaspi arvens* 对 Zn 的累积,但增加了土壤中水溶态 Zn 的含量。因此,通过微生物在土壤中的活动,可以改变土壤中重金属的活性,影响重金属污染的修复进程。

本实验从能直接反映重金属生物有效性的化学形态出发,研究青霉菌株 A1 对土壤中 Cu²⁺的可溶态、酸提取态、氧化结合态、有机结合态以及残余态等化学形态的影响,探讨菌株 A1 作用于铜的方式,以此考察该菌对土壤中铜化学行为的影响。

1 材料和方法

1.1 供试菌株及培养基

实验用菌为从一铜矿尾矿土壤中分离得到的青霉菌 A1, 其对各重金属盐的最高抗性能力分别为 Cu²⁺ 150 mmol·L⁻¹、Zn²⁺ 150 mmol·L⁻¹、Pb²⁺ 35 mmol·L⁻¹、Ni²⁺ 15 mmol·L⁻¹、Cr⁶⁺ 5 mmol·L⁻¹、Cd²⁺ 5 mmol·L⁻¹。采用的培养基为马铃薯葡萄糖(琼脂)培养基,其液体培养基的配方为马铃薯(去皮)200 g、葡萄糖 20 g、自来水 1 000 mL,pH 自然。配制方法:称取去皮新鲜马铃薯 200 g 切成小块,加自来水 1 L,煮沸 20 min,用 4 层纱布过滤,补足因蒸发损失的水到 1 L,加入葡萄糖 20 g,高压蒸汽 121 ℃灭菌 20 min。

1.2 供试土壤

土样为广州城郊土,采样点位于广州大学城内。采集的土样经自然风干,剔除砖块、植物根茎、人为侵入物等杂物后,碾碎过 2 mm 土筛,取过筛的土壤 400 g,加入 Cu²⁺浓度为 2 g·L⁻¹ 的 CuCl₂ 溶液 100 mL,搅拌均匀,稳定 1 周直至自然风干。取部分风干土样进一步研磨,过 0.125 mm 筛供铜全量测定用,以上两种处理的土样分别装于棕色试剂瓶中于 121 ℃灭菌 20 min 保藏。其中,未加铜溶液的原始土壤的 pH 为 4.25,含水率(重量比)为 0.78%,加铜溶液稳定处理后的实验用土的 pH 为 4.15,含水率为 1.21%,全铜量 803.5 mg·kg⁻¹。

1.3 A1 生长下含 Cu²⁺培养液的酸碱性

从保存菌株的试管斜面挑出一环孢子,分别接种到马铃薯葡萄糖琼脂培养基斜面,待孢子生出后,添

加无菌水,配成孢子的悬浊液。

分别配置 Cu²⁺浓度为 0、10、50、200、500 mg·L⁻¹ 的马铃薯葡萄糖培养液 50 mL 于 100 mL 的三角瓶中,测定溶液初始 pH 值。每瓶培养液添加 0.5 mL 孢子悬浊液,于摇床 30 ℃,150 r·min⁻¹ 恒温培养 1、2、3、4、5、6 d,分别测定每天溶液中的 pH 值。

1.4 土壤中可溶性 Cu 的测定

可溶性 Cu 的测定方法参照 Chen 等^[7]:取一环 A1 孢子于马铃薯葡萄糖培养液中在 200 r·min⁻¹,30 ℃摇床恒温培养 24 h,10 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,所得菌体在磷酸盐缓冲液(pH7.0)洗涤 2 次,用无菌水重新悬浮洗涤,再离心,最后添加 5 mL 的无菌水制成菌悬液。取菌悬液 1 mL 于含 1.00 g 经灭菌处理的土壤的离心管中,无菌处理的离心管以添加相同量的无菌水为对照。称量所有离心管重量,再用棕色纸包裹离心管,30 ℃,200 r·min⁻¹ 摇床培养。一星期后再次称重,补充因蒸发损失的水量,加入 10 mL 的无菌水,振荡 4 h,提取土壤中可溶性铜量。土壤悬浮液于 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,过滤,用原子吸收分光光度计测定滤液中铜的含量。3 次重复。

1.5 土壤中 Cu 的化学存在形态

Cu 化学形态的测定用顺序提取法^[9]:

(1)酸可提取态含量测定。分别称取无菌及有 A1 侵染的土样 1.00 g 于 100 mL 离心管中,菌侵染土壤的处理过程同 1.4,再在各离心管中加入 40 mL 浓度为 0.11 mol·L⁻¹ 的 CH₃COOH,25 ℃,250 r·min⁻¹ 摇床上连续振荡 16 h 后,4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离上清液,在残余土样中加入 20 mL 蒸馏水振荡 15 min,4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,弃去上清液,残余土样供下一步实验使用。

(2)氧化结合态含量测定。在残留的土样中加入 0.5 mol·L⁻¹ 盐酸羟胺和 0.05 mol·L⁻¹ HNO₃ 的混合液 40 mL,25 ℃,250 r·min⁻¹ 连续振荡 16 h,4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离上清液,残余土壤供下一步测定。

(3)有机结合态含量测定。在残余土样中加入 10 mL H₂O₂,用 HNO₃ 调节 pH 值到 2~3,盖子松盖,在室温下放置 1 h(玻棒搅拌)后,用恒温水浴锅于 85 ℃保持 1 h,打开离心管盖子继续加热至体积不多于 3 mL,继续添加 10 mL H₂O₂,于 85 ℃恒温水浴锅保持 1 h,打开盖子加热至体积 1 mL,冷却后加入 1.0 mol·L⁻¹ pH 值为 2.0 的醋酸铵 50 mL,连续振荡 16 h 后,离心过滤即得有机结合态试液。

(4)残余态含量测定。用三酸硝化法处理分析试

液后所测定的 Cu 全量(即 $803.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别减去酸可提取态含量、氧化结合态含量和有机结合态含量即为残余态含量。

1.6 显著性分析

运用 DPS 软件统计,用 LSD 方法对数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 青霉菌 A1 的产酸性

由图 1 可知,无论是 A1 的培养液中有无 Cu^{2+} 的存在,随着 A1 的生长,溶液中的 pH 值都呈下降趋势,即溶液中的酸性逐渐增强。其中溶液中不存在 Cu^{2+} 时,下降幅度最大,pH 值从 6.30 降至 3.16。当 Cu^{2+} 为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其 pH 值从 5.92 降至 3.44; Cu^{2+} 为 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,pH 值从 4.24 下降到 3.60,下降幅度较小;当 Cu^{2+} 浓度分别为 50 和 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时也有相同的趋势, Cu^{2+} 浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,pH 值从 5.21 降至 4.02; Cu^{2+} 为 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,pH 值则从 3.53 降至 3.30(图中未显示数据)。因此 A1 的生长使溶液 pH 值明显降低,最后随 A1 的生长进入稳定期或衰落期,pH 值也趋于近似的稳定值。结果说明了 A1 在生长过程中可分泌酸性物质,增强环境的酸性。

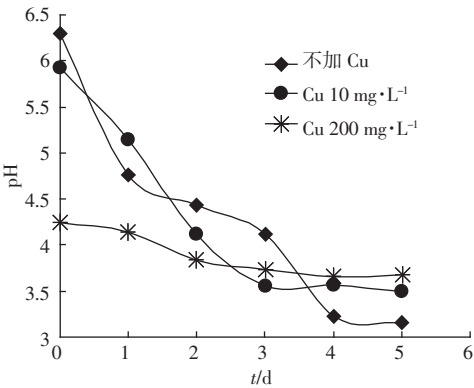


图 1 A1 的产酸性
Figure 1 Effect of A1 on pH of its growth solution

2.2 青霉菌 A1 对可溶性铜的影响

由表 1 可知,每千克被青霉菌株 A1 侵染的土壤可被水提取出来的铜量为 12.54 mg ,相对于未侵染的情况($16.34\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),A1 使每千克土的水溶态铜减少了 3.8 mg ,相当于降低了 23.3%。说明了 A1 可以显著降低土壤中水可溶性铜的量。这可能与菌株本身的性质有关,一方面实验已经证明 A1 本身对水溶液中的铜有一定的吸附累积作用;另一方面,A1 的产酸性分

表 1 土壤中可提取的铜量			
Table 1 Water-soluble copper in soil infected by A1 or not			
不加菌		加菌	
提取量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	占土壤铜总量比例/%	提取量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	占土壤铜总量比例/%
16.34±0.39	2.03	12.54±1.71	1.56

泌出的有机酸等酸性物质对铜具有绑定作用,从而减小了铜溶于水的量。

2.3 青霉菌 A1 对铜化学存在形态的影响

2.3.1 显著性分析

对侵染和未侵染 A1 的土壤中铜的酸提取态、氧化结合态、有机结合态含量等运用 LSD 检验方法检验。

表 2 不同处理下土壤中铜的化学存在形态				
Table 2 Chemical forms of copper in different soils				
处理	不加菌		加菌	
	各形态铜量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	占土壤总量比例/%	各形态铜量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	占土壤总量比例/%
酸提取态	199.60±1.74	24.84	205.73±1.29	25.60
氧化结合态	124.93±1.22	15.55	132.00±2.43	16.43
有机结合态	92.56±2.94	11.52	99.84±1.38	12.43
残余态	386.41±2.09	48.09	365.93±2.92	45.54

由表 3 可知,菌处理间的 P 值为 0.009 8,其值小于 0.01。因此,添加菌和未添加菌的土壤中铜的化学形态存在显著性差异,也即青霉菌 A1 的加入对土壤中铜的化学形态有显著的影响。

2.3.2 A1 对铜化学形态的显著影响

表 2 结合表 1,青霉 A1 使土壤中酸提取态的铜量增加了 6.13 mg ,相对于未侵染该菌株的土壤,增加了 3.1%。这可能与 A1 本身的产酸性有关,土壤中的酸性增强可以活化重金属,同时酸性物质的增多相应地提高了酸的量,增加铜溶解于酸的机会而被提取出来。研究证明微生物有机酸的分泌可以增加重金属的生物有效性^[10,11]。

相似地,A1 使每千克土壤的氧化物结合态铜增加 7.07 mg ,使氧化物结合态铜占土壤铜总量的比例提高 5.7%,是未侵染 A1 土壤的 1.06 倍,增加了 5.7%。另外,A1 对有机结合态铜也有相似的增长作用,使有机结合态铜占土壤铜总量的比例升高

表 3 方差分析表					
Table 3 Result of variance analysis					
变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
菌处理间	448.391 1	1	448.391 1	9.412 0	0.009 8
铜形态间	35 576.878 5	2	17 788.439 3	373.376 0	0.000 1

0.91%, 即每千克土中有机结合态铜增加 7.28 mg, 是未侵染 A1 时的 1.08 倍, 增加 7.9%。这也可能与微生物本身分泌的有机酸有关。另外, 微生物及其残体也增加了土壤中有机物质的含量。有机质含量的增多, 增加了有机物对铜的绑定、螯合等作用从而提高铜与有机物结合的机会。

从总体上讲, A1 的存在可使土壤中酸提取态、氧化结合态、有机结合态 3 种形态铜含量之和占土壤中铜总量的比例上升 2.55%, 相应地减少了较稳定的残余态铜的量, 同时相比于土壤中无菌情况, A1 的添加使土壤中水溶态铜降低了 23.3%, 酸提取态、氧化结合态、有机结合态铜分别增加了 3.1%、5.7%、7.9%, 残余态铜减少了 5.3%。得到结论, 青霉菌 A1 可显著改变土壤中铜的化学存在形态, 从而影响土壤中铜的生物有效性。

3 讨论

对于任何重金属来说, 往往只有生物有效态的部分可以被植物等生物吸收和富集, 但实际上土壤中有效态的重金属含量较低, 相应地, 能被植物吸收富集的金属部分也较少, 因此需要找到一些途径可以增加土壤中重金属的生物有效性, 加快金属污染修复的进程。研究已经证明添加 EDTA、CDTA 等螯合剂能改变土壤重金属的有效态, 促进植物对重金属的吸收和富集。但是施用过高的螯合剂会对土壤生物产生毒性, 并可引起重金属的淋溶, 存在一定的环境风险^[12,13]。所以, 从环境上考虑, 微生物相对更具环境友好性, 因而也成了改变重金属生物有效性相对较安全可靠的选择。

重金属的化学形态是评价其生物有效性的重要手段。对重金属的化学形态分类有多种, Tessier^[14]将重金属形态分为可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机态、残渣态, 对应于三步连续提取法, 酸可提取态相当于可交换态和碳酸盐结合态的总和, 这些组分与土壤结合较弱, 在酸性条件下易被释放。青霉菌 A1 使每千克土壤中铜的酸提取态增加了 6.1 mg, 比未侵染 A1 的土壤增加了 3.1%, 因此, 在酸性条件下, 尤其是酸雨比较严重的地区, 土壤中 A1 的存在促进了土壤中铜的迁移性及活性, 提高生物有效性, 可更好地促进植物等生物对铜的吸收。氧化物结合态主要为与易还原性铁锰氧化物结合的重金属, 在还原条件下较易被释放。A1 使氧化物结合态铜增加了 5.7%, 反映出在还原条件下, A1 可促进土壤中铜

的释放。

重金属的可淋溶性则代表了正常条件下可被淋出的部分, 主要是指水可溶性。此形态金属具有最大的可移动性和生物有效性, 代表了土壤中重金属最活跃部分。A1 的添加, 使土壤中水溶态铜量减少了 23.3%。因此, 在正常条件下, 土壤中 A1 的存在可抑制金属铜被水淋洗出来, 从而减小了铜对环境的直接毒性。在这一点上与 Chen、Whiting 等^[7,8]添加菌增加土壤中铜的水溶态的研究结果相反。

总而言之, 利用菌株 A1 可以显著改变土壤中铜的化学存在形态, 增加土壤中铜的酸提取态, 减少水溶态铜量。因此, 在酸性条件下, A1 可增加铜的生物有效性, 若此时 A1 和植物共存则可促进植物对铜的吸收, 但若 A1 单独存在于酸性土壤反而会促进铜的迁移, 加剧铜的污染。然而, 在正常条件下, A1 可明显抑制铜直接溶于水的机会, 减小铜随水的迁移, 从而减小了铜的直接危害。这些结果都为青霉菌 A1 及其和植物的联合作用在土壤铜污染中的应用奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] Solioz M, Stoyanov J V. Copper homeostasis in *Enterococcus hirae* [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2003, 27: 183–195.
- [2] Garcia S, Prado M, Degano R, et al. A copper-responsive transcription factor, CRF1, mediates copper and cadmium resistance in *Yarrowia lipolytica* [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 37359–37368.
- [3] Erardi F X, Failla M L, Falkinham J O. Plasmid-encoded copper resistance and precipitation by *Mycobacterium scrofulaceum* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53(8): 1951–1954.
- [4] 王发园, 林先贵, 尹 睿. 不同施铜水平下接种 AM 真菌对海州香薷根际 pH 的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(6): 922–925.
WANG Fa-yuan, LIN Xian-gui, YIN Rui. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on rhizosphere pH of *Elsholtzia splendens* under different Cu levels [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(6): 922–925.
- [5] 韦明肯, 唐华英, 梁 铃, 等. 青霉菌 *Penicillium janthinellum* 菌株 GXCR 的高抗重金属盐及其对 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 离子吸收的特性 [J]. 菌物学报, 2006, 25(4): 616–623.
WEI Ming-ken, TANG Hua-ying, LIANG Ling, et al. Characteristics of high resistance to heavy metal salts and uptake of Cu^{2+} and Zn^{2+} Ions of *Penicillium Janthinellum* [J]. *Mycosystema*, 2006, 25(4): 616–623.
- [6] Nelson A T. Use of biomonitoring of control toxics in the US, EPA/600/R-3-157 fish physiology, toxicology, and water quality management [R]. Processings of an International Symposium Sacramento, California, US-A, 1993, 18–19.
- [7] Chen Y X, Wang Y P, Lin Q, et al. Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by

Elsholtzia splendens[J]. *Environment International*, 2005, 31:861–866.

[8] Whiting S N, de Souza, Mark P, et al. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(15):3144–3150.

[9] Rauret G, Lopez-Sanchez J F, Sahuquillo A, et al. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1999, 1:57–61.

[10] De Souza M P, Huang C A P, Chee N, et al. Rhizosphere bacteria enhance the accumulation of selenium and mercury in wetland plants[J]. *Planta*, 1999, 209:259–263.

[11] Wang C L, Maratukulam P D, Lum A M, et al. Metabolic engineering of

an aerobic sulfate reduction pathway and its application to precipitation of cadmium on the cell surface [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66:4497–4502.

[12] Blaylock M, Salt D E, Dushenkov S, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents[J]. *Environ Sci Technol*, 1997, 31:860–865.

[13] Kos B, Lestan D. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers[J]. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(3):624–629.

[14] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7):844–851.



2009 年《农业环境科学学报》

《农业环境科学学报》(原《农业环境保护》)是由农业部主管、农业部环境保护科研监测所、中国农业生态环境保护协会主办的全国性学术期刊。本刊是中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊,列于被引频次最高的中国科技期刊 500 名之内并入编《中国学术期刊(光盘版)》。本刊还被国外多家著名检索机构收录,如美国《化学文摘》(CA)和俄罗斯《文摘杂志》(AJ),美国《剑桥科学文摘社网站:水系统、水科学与渔业文摘、环境工程、水资源文摘及环境科学与污染管理》等 7 种国际检索系统列为来源期刊。本刊主要刊登农业生态环境科学领域具有创新性的研究成果,包括新理论、新技术和新方法。读者对象为从事农业科学、环境科学、林业科学、生态学、医学和资源保护等领域的科技人员和院校师生。

《农业环境科学学报》为月刊,大 16 开,216 页,每本定价 40.00 元,全年定价 480.00 元。国内外公开发行,全国各地邮局征订,邮发代号 6–64。如读者在当地邮局漏订,可通过邮局汇款至本刊编辑部补订。此外,编辑部存有 2000 年以前的各卷合订本,欢迎选购。

编辑部地址:300191 天津市南开区复康路 31 号

电话:(022)23674336,23006209 传真:(022)23006209

电子信箱:caep@vip.163.com 网址:www.aes.org.cn

