

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第3期

Vol.35 No.3

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

青岛近海生物气溶胶中可培养微生物浓度及群落多样性的季节变化	祁建华, 武丽婧, 高冬梅, 金川 (801)
基于重庆本地碳成分谱的 PM _{2.5} 碳组分来源分析	张灿, 周志恩, 翟崇治, 白志鹏, 陈刚才, 姬亚芹, 任丽红, 方维凯 (810)
重庆市北碚城区大气污染物浓度变化特征观测研究	徐鹏, 郝庆菊, 吉东生, 张军科, 刘子锐, 胡波, 王跃思, 江长胜 (820)
基于气溶胶光学特性垂直分布的一次浮尘过程分析	王苑, 邓军英, 史兰红, 陈勇航, 张强, 王胜, 徐婷婷 (830)
基于悬铃木叶片重金属累积特性的大气污染分析和评价	刘玲, 方炎明, 王顺昌, 谢影, 汪承润 (839)
典型染整企业定型机废气排放特征及潜在环境危害浅析	徐志荣, 王鹏, 王浙明, 许明珠, 吴剑波, 李嫣 (847)
火电厂大气污染物排放标准实施效果的数值模拟研究	王占山, 潘丽波 (853)
国IV天然气公交车实际道路颗粒物排放特性	楼狄明, 成伟, 冯谦 (864)
稻草和玉米秸秆烟尘中的正构脂肪醇	刘刚, 李久海, 吴丹, 徐慧 (870)
河口湿地近地面大气 CO ₂ 浓度日变化和季节变化	张林海, 仝川, 曾从盛 (879)
三峡库区库中干流及支流水体夏季二氧化碳分压及扩散通量	李双, 王雨春, 操满, 钱慧君, 许涛, 周子然, 邓兵, 汪福顺 (885)
施用畜禽粪便堆肥的蔬菜地 CH ₄ 、N ₂ O 和 NH ₃ 排放特征	万合峰, 赵晨阳, 钟佳, 葛振, 魏源送, 郑嘉熹, 鄢玉龙, 韩圣慧, 郑博福, 李洪枚 (892)
干湿交替条件下不同晶型铁氧化物对水稻土甲烷排放的影响	张天娇, 汤佳, 庄莉, 熊格生, 刘志, 周顺桂 (901)
长江口邻近海域沉积物中生物硅溶解行为研究	吴彬, 吕伟香, 鲁超, 刘素美 (908)
汾河中游浮游藻类群落特征及水质分析	王爱爱, 冯佳, 谢树莲 (915)
基于三维荧光光谱-平行因子技术联用的湖泊浮游藻化学分类学研究	陈小娜, 韩秀荣, 苏荣国, 石晓勇 (924)
三峡库区典型消落带土壤及沉积物中溶解性有机质 (DOM) 的紫外-可见光谱特征	李璐璐, 江韬, 闫金龙, 郭念, 魏世强, 王定勇, 高洁, 赵铮 (933)
黄河口湿地表层沉积物中磷赋存形态的分析	于子洋, 杜俊涛, 姚庆祯, 陈洪涛, 于志刚 (942)
太湖和呼伦湖沉积物对磷的吸附特征及影响因素	揣小明, 杨柳燕, 程书波, 陈小锋, 穆云松 (951)
黄浦江溶解有机质光学特性与消毒副产物 NDMA 生成潜能的关系	董倩倩, 张艾, 李咏梅, 陈玲, 黄清辉 (958)
纳米零价铁降解水中多溴联苯醚 (PBDEs) 及降解途径研究	杨雨寒, 徐伟伟, 彭思侃, 卢善富, 相艳, 梁大为 (964)
铸铁还原氯乙酸的影响因素与机制研究	唐顺, 杨宏伟, 王小任, 解跃峰 (972)
磷回收对厌氧/好氧交替式生物滤池蓄磷/除磷的影响	张顺, 田晴, 汤曼琳, 李方 (979)
预处理方法对玉米芯作为反硝化固体碳源的影响	赵文莉, 郝瑞霞, 李斌, 张文怡, 杜鹏 (987)
陶粒 CANON 反应器的接种启动与运行	付昆明, 左早荣, 仇付国 (995)
冬季低温下 MBR 与 CAS 工艺运行及微生物群落特征	黄菲, 梅晓洁, 王志伟, 吴志超 (1002)
烷基多苷促进污泥水解产酸的研究	陈灿, 孙秀云, 黄诚, 沈锦优, 王连军 (1009)
高温厌氧消化中底物浓度对病原指示微生物杀灭的影响	操宏庆, 章菲菲, 李健, 童子林, 胡真虎 (1016)
兰州市大气降尘重金属污染评价及健康风险评价	李萍, 薛粟尹, 王胜利, 南忠仁 (1021)
珠江河口水域有机磷农药水生生态系统风险评价	郭强, 田慧, 毛潇萱, 黄韬, 高宏, 马建民, 吴军年 (1029)
海州湾表层沉积物重金属的来源特征及风险评价	李飞, 徐敏 (1035)
再生水无计划间接补充饮用水的雌激素健康风险	吴乾元, 邵一如, 王超, 孙艳, 胡洪营 (1041)
瓦埠湖流域庄墓镇农田土壤氮磷分布及流失风险评估	李如忠, 邵阳, 徐晶晶, 丁贵珍 (1051)
三峡库区消落带土壤汞形态分布与风险评价	张成, 陈宏, 王定勇, 孙荣国, 张金洋 (1060)
基于棕地的居民小区土壤重金属健康风险评价	陈星, 马建华, 李新宁, 刘德新, 李一蒙 (1068)
干旱区绿洲土壤氟污染生态风险评估研究	薛粟尹, 李萍, 王胜利, 南忠仁 (1075)
缙云山 3 种典型森林降雨过程及其氮素输入	孙素琪, 王玉杰, 王云琦, 张会兰, 于雷, 刘婕 (1081)
三峡库区兰陵溪小流域土地利用及景观格局对氮磷输出的影响	韩黎阳, 黄志霖, 肖文发, 田耀武, 曾立雄, 吴东 (1091)
黄土丘陵区县域农田土壤近 30 年有机碳变化及影响因素研究: 以甘肃庄浪县为例	师晨迪, 许明祥, 邱宇洁, 张志霞, 张晓伟 (1098)
天然林土壤有机碳及矿化特征研究	杨添, 戴伟, 安晓娟, 庞欢, 邹建美, 张瑞 (1105)
不同土壤湿润速率下中性紫色土磷素淋溶的动态变化	张思兰, 石孝均, 郭涛 (1111)
硫脲对酸性红壤 pH 值与金属元素有效性的影响	杨波, 王文, 曾清如, 周细红 (1119)
6 种陕北适生豆科植物生长对原油污染土壤的响应	山宝琴, 张永涛, 曹巧玲, 康振妍, 李淑媛 (1125)
基于 N:P 化学计量特征的高寒草甸植物养分状况研究	张仁懿, 徐当会, 陈凌云, 王刚 (1131)
人工生物结皮的发育演替及表土持水特性研究	吴丽, 陈晓国, 张高科, 兰书斌, 张德禄, 胡春香 (1138)
农田土壤自养微生物碳同化潜力及其功能基因数量、关键酶活性分析	陈晓娟, 吴小江, 简燕, 袁红朝, 周萍, 葛体达, 童成立, 邹冬生, 吴金水 (1144)
中亚热带马尾松林凋落物分解过程中的微生物与酶活性动态	宋影, 辜夕容, 严海元, 毛文韬, 吴雪莲, 万宇轩 (1151)
苏南地区香樟树皮中有机氯农药 (OCPs) 的污染水平及来源解析	周丽, 张秀蓝, 杨文龙, 李玲玲, 史双昕, 张利飞, 董亮, 黄业茹 (1159)
UV-B 辐射增强与 1,2,4-三氯苯污染复合胁迫对青菜生长的影响	刘翠英, 樊建凌, 徐向华 (1164)
Cu 和 Cd 胁迫下接种外生菌根真菌对油松根际耐热蛋白固持重金属能力的影响	张英伟, 柴立伟, 王东伟, 汪杰, 黄艺 (1169)
对硝基苯胺耐盐降解菌 S8 的筛选及特性研究	宋彩霞, 邓新平, 厉阍, 肖伟 (1176)
克雷伯氏菌生产絮凝剂 M-C11 的培养优化及其在污泥脱水中的应用	刘杰伟, 马俊伟, 刘彦忠, 杨娅, 岳东北, 王洪涛 (1183)
铅元素人为循环环境释放物形态分析	梁静, 毛建素 (1191)
污染排放与环境质量关系模型构建与应用	李名升, 孙媛, 陈远航, 张建辉 (1198)
微囊藻毒素微生物降解途径与分子机制研究进展	闫海, 王华生, 刘晓璐, 尹春华, 许倩倩, 吕乐, 马万彪 (1205)
《环境科学》征订启事 (809) 《环境科学》征稿简则 (819) 信息 (971, 978, 1050, 1175)	

对硝基苯胺耐盐降解菌 S8 的筛选及特性研究

宋彩霞, 邓新平*, 厉闾*, 肖伟

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要: 从江苏农药厂活性污泥中筛选出 1 株能以对硝基苯胺为唯一碳源和氮源生长代谢的耐盐降解菌 S8. 通过对其形态特征、生理生化特性以及 16S rDNA 序列分析, 确定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*). 研究表明, 该菌株具有较强的对硝基苯胺降解能力. 当温度 31℃ 和 pH 6.0 时, S8 在 72 h 内对 60 mg·L⁻¹ 和 120 mg·L⁻¹ 对硝基苯胺的降解率分别为 65.6% 和 55.8%. 在高盐条件下, S8 仍有较强的降解能力, 当盐含量为 7% 时, 对硝基苯胺降解率为 49.5% (72 h); 当盐含量为 10% 时, 对硝基苯胺降解率为 27.4% (72 h). 利用 LC-MS 法分析降解产物时, 共发现 6 种分子量不同的化合物, 其中两种为苯酚及对苯二酚. 此为首次关于对硝基苯胺耐盐菌株的研究报道, 菌株 S8 可用于含有对硝基苯胺的高盐工业废水的微生物修复.

关键词: 枯草芽孢杆菌; 对硝基苯胺; 高盐; 降解特性; 降解产物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)03-1176-07 DOI: 10.13227/j.hjks.2014.03.051

Isolation and Characterization of a Halotolerant *p*-nitroaniline Degrading Strain S8

SONG Cai-xia, DENG Xin-ping, LI Tian, XIAO Wei

(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: A bacterial strain S8 was isolated from pesticide-contaminated sludge, which showed ability of utilizing *p*-nitroaniline as the sole source of carbon and nitrogen for growth. Based on the morphology, the physiological and biochemical characteristics, and the 16S rDNA sequence analysis, the strain was identified as *Bacillus subtilis*. Strain S8 showed high efficiency in *p*-nitroaniline degradation. 65.6% and 55.8% of *p*-nitroaniline (60 mg·L⁻¹ and 120 mg·L⁻¹) were degraded by this strain within 72 hours under the optimal conditions of 31℃ and pH 6.0. Besides, strain S8 degraded 49.5% *p*-nitroaniline in 7% NaCl and 27.4% *p*-nitroaniline in 10% NaCl (72 h), which showed that the strain S8 had a high salinity tolerance. When the LC-MS method was used for identification of the biodegradation products, six kinds of degradation products were found, two of which were identified as phenol and hydroquinone. To date, this is the first report on the degradation of *p*-nitroaniline by *Bacillus subtilis*. These results suggest that S8 could be a potential candidate for treating *p*-nitroaniline-contaminated saline wastewater.

Key words: *Bacillus subtilis*; *p*-nitroaniline; salinity; degradation characteristics; biodegradation product

对硝基苯胺 (*p*-nitroaniline) 是印染、橡胶、制药、塑料和油漆等行业的重要原料, 是印染工业的中间体, 在环境中很难被微生物降解且对水生生物和高等动物有很强的毒性^[1~4]. 对硝基苯胺对环境的污染一直被人们所关注, 美国、日本等国家将其列入主要监测项目或优先监测污染物^[5], 在我国也被列为环境中的重点污染物^[6].

对硝基苯胺工业废水的处理方法主要有物理化学法和生物法^[7~10]. 微生物修复法相对物理化学方法更加环保且成本低廉, 有更广泛的应用前景. 目前, 关于对硝基苯胺降解菌研究较少且集中在常规高效降解菌的研究^[10~13]. 但对硝基苯胺作为染料工业的中间体, 含对硝基苯胺的废水中常常含有高盐, 微生物由于受到对硝基苯胺与高盐度的双重毒害作用, 而使传统生物处理方法的效率大大降低. 主要表现在: ①高盐可以导致生物活性降低, 甚至造成微生物胞浆分离^[14, 15]. ②废水中的 TOC 和 COD

去除率随着盐浓度升高而下降, 造成出水水质下降^[16, 17]. 因此, 常规条件下获得的微生物并不适合处理高盐对硝基苯胺废水的处理^[18], 而目前尚鲜有关于高盐降解菌的研究报道.

本研究从农药厂活性污泥中分离到 1 株能以对硝基苯胺作为单一碳源和氮源生长代谢的高效降解菌 S8. 发现该菌株在 5% NaCl 条件下, 可以较好地降解对硝基苯胺. 该菌株的发现, 为生物修复对硝基苯高盐工业废水提供了较好的应用前景.

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

对硝基苯胺纯度 ≥ 98% (天津市光复精细化工

收稿日期: 2013-07-04; 修订日期: 2013-09-28

作者简介: 宋彩霞 (1989~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境毒理学, E-mail: 805501393@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: denggood@126.com; lihwang@swu.edu.cn

研究所); 甲醇 HPLC 级色谱纯 (Sigma-Aldrich 公司); 高效液相色谱仪 Agilent 1260 (美国安捷伦公司); 液质联用仪 LCMS-8030 (日本岛津公司)。

1.2 培养基

LB 液体培养基(per liter): 胰蛋白胍(Tryptone) 10 g, 酵母提取物(Yeast extract) 5 g, 氯化钠(NaCl) 10 g。

LB 固体培养基(per liter): 胰蛋白胍(Tryptone) 10 g, 酵母提取物(Yeast extract) 5 g, 氯化钠(NaCl) 10 g, 琼脂(agar) 15 g。

MSM 基础无机盐培养基(per liter): 氯化钠(NaCl) 1 g, 磷酸氢二钾(K_2HPO_4) 1 g, 硫酸铵 $[(NH_4)_2SO_4]$ 1 g, 硫酸镁($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.2 g, 1 mL 缓冲盐溶液。缓冲盐溶液(per liter): 硫酸亚铁($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 1 g, 氯化锰($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) 1 g, 硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) 1 g, pH 7.0。

1.3 菌株的筛选及分离纯化

称取所采农药厂活性污泥 5 g 加到含 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对硝基苯胺的 50 mL 基础无机盐培养基中, 于 28°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温摇床振荡培养 24 h, 用平行划线法将培养液划线涂布于含 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对硝基苯胺的 LB 固体培养基上, 在 28°C 的恒温培养箱倒置培养 2~3 d; 挑取形态不同的单菌落用十字划线法接种于 LB 固体培养基恒温培养, 同法纯化 2~3 次直至分离得到单一菌株。分别测定各菌株对对硝基苯胺的降解能力, 取其中降解率最高的 1 株为本实验所用菌株。

1.4 菌株 S8 鉴定

1.4.1 菌株形态特征及生理生化指标测定

在生物显微镜下观察菌株形态、大小等特征, 参照伯杰氏细菌鉴定手册对菌株生理生化指标进行测定。

1.4.2 16S rDNA 序列分析

使用天根生化科技有限公司的 TIANamp Bacteria DNA kit 提取菌株 DNA, 采用通用引物(即上游引物为: $5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'$; 下游引物为: $5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'$) 对其进行扩增, PCR 扩增条件为: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 75 s, 30 个循环后 72°C 延伸 7 min。PCR 产物回收并克隆后, 将菌液送至北京六合华大基因科技股份有限公司测序。序列同 GenBank 数据库中基因序列进行 BLAST 比对, 用 MEGA5.0 构建系统进化树。

1.5 菌株 S8 的生长及降解特性研究

用接种环从 4°C 保存的斜面上挑取一环细菌 S8, 接到含 50 mL LB 液体培养基的灭菌三角瓶中, 于 28°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养至对数生长期, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 弃上清液, 加入无菌水洗液, 同法反复洗涤 3 次。将菌体稀释为吸光度为 1.0 (D_{600}) 的菌悬液。取 1 mL 转接到含 49 mL 基础盐溶液的 250 mL 三角瓶中(溶液中对硝基苯胺初始浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 置于 28°C , $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养, 72 h 后检测菌液 D_{600} 及对硝基苯胺浓度。下面将采用此法分别检测不同因子对 S8 降解对硝基苯胺的影响。

测定温度(25、28、31、34、37 和 40°C) 对菌株 S8 生长及降解对硝基苯胺的影响。初始条件: MSM 溶液中对硝基苯胺初始浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。72 h 后检测菌液 D_{600} 及对硝基苯胺的浓度, 同时以不接 S8 的 MSM 溶液作为空白对照。

测定 pH(4、5、6、7、8、9 和 10) 对菌株 S8 生长及降解对硝基苯胺的影响。初始条件: MSM 溶液中对硝基苯胺初始浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 31°C 。72 h 后检测菌液 D_{600} 及对硝基苯胺的浓度, 同时以不接 S8 的 MSM 溶液作为空白对照。

测定对硝基苯胺初始浓度(60、120、180、240、300 及 $360 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对菌株 S8 降解对硝基苯胺的影响。初始条件: MSM 溶液中对硝基苯胺初始浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 31°C , pH 为 6.0。72 h 后检测对硝基苯胺的浓度, 同时以不接 S8 的 MSM 溶液作为空白对照。

测定不同 NaCl 浓度(0.1%、0.5%、1%、3%、5%、7%、10%) 的 MSM 溶液对菌株 S8 生长及降解对硝基苯胺的影响。初始条件: MSM 溶液中对硝基苯胺初始浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 31°C , pH 为 6.0。72 h 后检测菌液 D_{600} 及对硝基苯胺的浓度, 同时以不接 S8 的 MSM 溶液作为空白对照。

以上实验均重复 3 次, 数据分析取其平均值。

1.6 对硝基苯胺降解产物的初步确定

用 LC-MS 法分别检测 72 h 菌液及不接 S8 的 MSM 溶液(空白对照), 找出菌液中的产物峰并确定产物分子量; 将所得的产物谱图与对应的标准品进行比对分析, 进一步确定产物名称。

1.7 分析方法

用高效液相色谱仪(Agilent 1260) 测定对硝基苯胺的含量。检测条件为: 色谱柱 ZORBAX SB-C18 ($4.6 \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), 柱温 37°C , 流动相甲醇: 水 = 60:40, 流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测器(DAD) 波长

为 254 nm.

用 LC-MS 法分析鉴定对硝基苯胺的降解产物. ESI 离子源; 正、负离子模式采集数据; 扫描范围 80 ~ 160 m/z, 干燥气 N_2 流速为 $15 L \cdot min^{-1}$.

2 结果与分析

2.1 菌株 S8 的形态学与生理生化特征

通过富集培养、分离纯化, 从农药厂活性污泥中分离得到对硝基苯胺降解率最高的菌株 S8 (表 1). 在 7% NaCl 和 10% NaCl 条件下, S8 能够以对

表 1 菌株 S8 的部分生理生化特征

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain S8			
检测指标	结果	检测指标	结果
氧气	好氧	淀粉	+
革兰氏染色	+	木糖	+
甲基红	-	明胶	-
接触酶	+	尿素	+
葡萄糖产酸	+	苯丙氨酸	-
葡萄糖产气	-	硝酸盐	+
阿拉伯糖产酸	+	亚硝酸盐	+
甘露醇	+	柠檬酸盐	+
VP 试验	+	7% NaCl	+
吡啶	-	10% NaCl	+

硝基苯胺作为单一碳源和氮源生长. 在 LB 固体培养基上, 菌落较大, 粗糙, 呈乳白色, 不透明. 在显微镜下观察, 菌体形态为杆状, 单个或链状排列, 无荚膜, 能运动, 大小为 $(0.7 \sim 0.8) \mu m \times (2 \sim 3) \mu m$.

2.2 菌株 S8 的 16S rDNA 分子鉴定与系统发育分析

分析测序结果可知, 菌株 S8 的 16S rDNA 序列全长为 1542 bp, GenBank 登录号为 KF278709. 将其序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对, 选取其中与菌株 S8 的 16S rDNA 相似性高的基因序列, 用 MEGA5.0 构建系统发育树 (图 1). 其中, 与 *Bacillus subtilis* strain Bs (NO. KF278709.1) 的序列相似性为 99%. 结合其形态学及生理生化特征, 初步确定 S8 为 *Bacillus subtilis*.

2.3 菌株 S8 的生长及降解特性研究

2.3.1 温度对 S8 生长和对硝基苯胺降解的影响

温度对 S8 的生长和对硝基苯胺降解的影响如图 2 所示. 当温度在 $25 \sim 40^\circ C$ 范围内时, S8 生长和对硝基苯胺的降解随温度变化有相似规律, 降解率和 D_{600} 值随温度的不断升高先升高后下降. $31^\circ C$

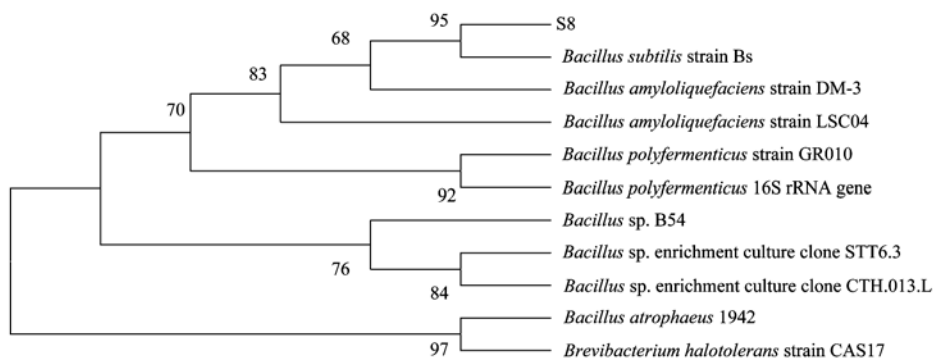


图 1 菌株 S8 的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain S8 and related species based on 16S rDNA

时, 菌株的生长及对对硝基苯胺的降解率均达到最大值.

2.3.2 pH 对 S8 的生长和对硝基苯胺降解的影响

pH 对 S8 的生长和对硝基苯胺降解的影响如图 3 所示. 从中可知, 当 pH 范围为 $4 \sim 10$ 时, S8 的生长和对硝基苯胺的降解状况均较好, 并且菌株生长和对硝基苯胺的降解随 pH 的变化有相似的规律, 降解率和 D_{600} 值随 pH 的不断升高先升高后下降. 当 pH 为 6.0 时, S8 的生长和对硝基苯胺的降解情况达到最佳. pH 过酸或过碱时, 菌株生长缓慢且对硝基苯胺降解率有明显下降.

2.3.3 对硝基苯胺初始浓度对降解率的影响

对硝基苯胺初始浓度对降解率的影响如图 4 所示. 从中可知, 当对硝基苯胺浓度为 $60 mg \cdot L^{-1}$ 和 $120 mg \cdot L^{-1}$ 时, 72 h 后, 实际浓度分别为: $20.6 mg \cdot L^{-1}$ 和 $53 mg \cdot L^{-1}$ (降解率分别为 65.6% 和 55.8%); 而当对硝基苯胺初始浓度达到 $360 mg \cdot L^{-1}$ 时, 72 h 后实际浓度为 $331.9 mg \cdot L^{-1}$ (降解率为 7.8%). 结果表明, S8 对不同浓度的对硝基苯胺都有一定的降解能力, 随着对硝基苯胺浓度的提高, S8 对其降解率逐渐降低. 当底物浓度过高时, 可以为菌株生长代谢提供足够的碳源和氮源, 但对菌株

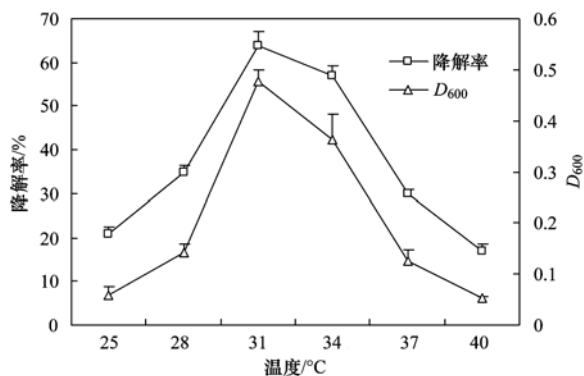


图2 温度对 S8 生长和对硝基苯胺降解的影响

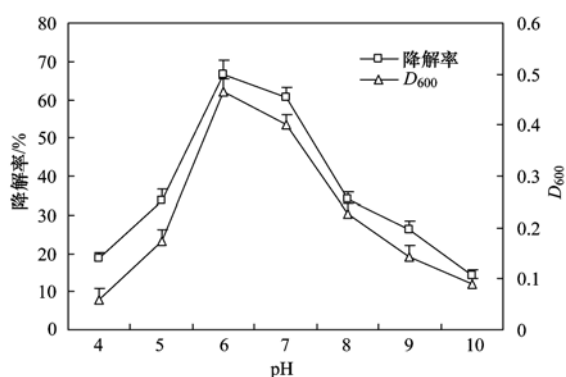
Fig. 2 Effect of temperature on the growth and *p*-nitroaniline degradation of S8

图3 pH 值对 S8 生长和对硝基苯胺降解的影响

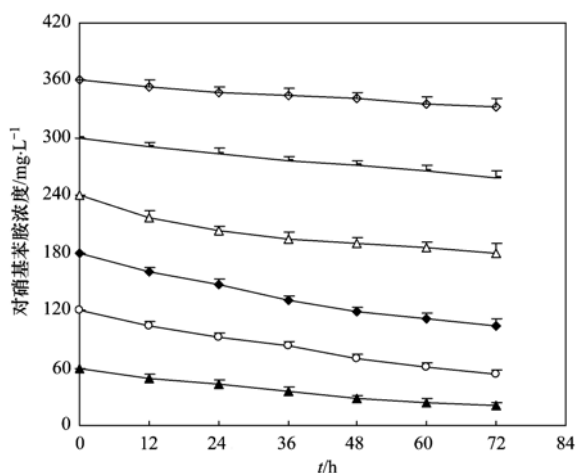
Fig. 3 Effect of pH value on the growth of S8 and *p*-nitroaniline degradation of S8

图4 对硝基苯胺初始浓度对降解率的影响

Fig. 4 Effect of *p*-nitroaniline concentration on the degradation

有一定的毒性作用^[19],使其降解能力受到抑制。

2.3.4 NaCl 含量对 S8 的生长和对硝基苯胺降解的影响

NaCl 含量对 S8 的生长和对硝基苯胺降解的影响如图 5 所示。从中可知,当 NaCl 含量在 0.1% ~

7% 的范围内时, S8 的生长情况和对硝基苯胺的降解情况均较好,统计结果表明,NaCl 含量从 0.1% 升高到 3% 或从 1% 升高到 7% 时,降解率之间没有显著性差异, S8 能在较宽的盐度范围内保持对对硝基苯胺较好的降解效果。当 NaCl 含量继续升高达到 10% 时,对硝基苯胺降解率有明显下降。这表明 S8 有较宽的盐度耐受范围且能耐受高盐环境。

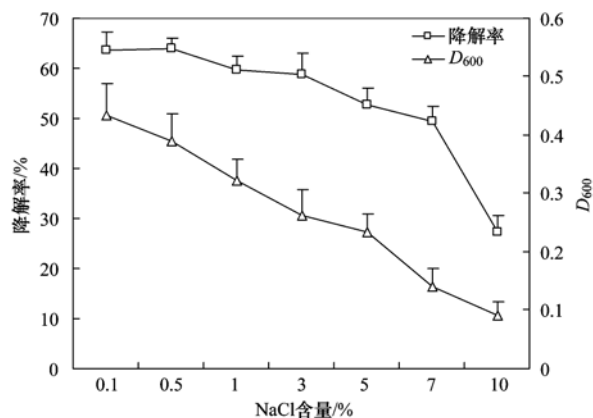


图5 NaCl 含量对 S8 生长和对硝基苯胺降解的影响

Fig. 5 Effect of salinity on the growth of S8 and *p*-nitroaniline degradation of S8

2.3.5 对硝基苯胺降解产物的初步确定

通过 LC-MS 对菌株 S8 降解对硝基苯胺的产物进行检测,比较样品与空白对照的检测结果,发现菌液谱图比对照中多出分子量分别为 88 (a)、94 (b)、98 (c)、102 (d)、110 (e) 及 112 (f) 的化合物,初步推断其为对硝基苯胺的降解产物。各个化合物的质谱图如图 6 所示,其中,分子量为 94 和 110 的化合物分别与苯酚及对苯二酚的分子量及保留时间一致,说明苯酚及对苯二酚是对硝基苯胺的两种降解产物。

3 讨论

枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 主要分布在土壤及腐败的有机物中,在污水处理中有非常广泛的应用,尤其是在含染料工业废水的生物降解中有重要作用。Zissi 等^[20,21]利用枯草芽孢杆菌处理纺织工业废水中的偶氮染料; Itoh 等^[22]发现枯草芽孢杆菌可降解部分蒽醌类染料; Azmi 等^[23]也有关于枯草芽孢杆菌可降解三氯甲烷染料的报道。至今尚鲜见枯草芽孢杆菌降解对硝基苯胺的报道,本研究分离得到 1 株枯草芽孢杆菌 S8,该菌能以对硝基苯胺作为唯一碳源、氮源生长,72 h 内能降解 65.6% 的 60 mg·L⁻¹ 对硝基苯胺,这是枯草芽孢杆菌降解对

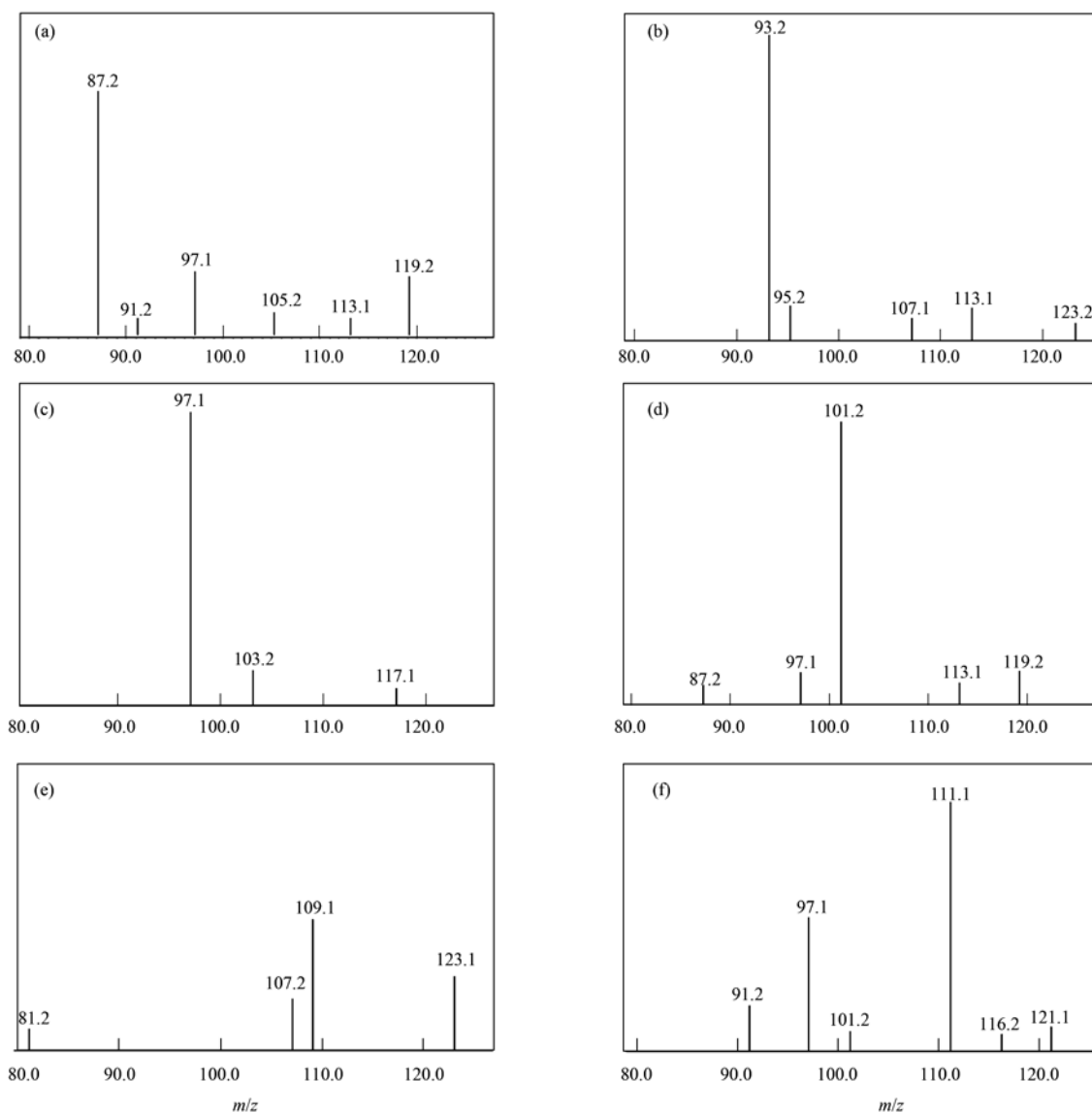


图 6 对硝基苯胺降解产物的质谱图

Fig. 6 Mass spectra of the biodegradation products of *p*-nitroaniline degradation

硝基苯胺的首次报道。

研究表明,微生物对污染物的降解,受到微生物自身的生长及降解酶的制约,而微生物的生长与酶的活性都与温度密切相关^[24]。当环境温度较低时,微生物生长代谢较为缓慢,酶产量少,对污染物降解效率低,随着温度升高,代谢趋于旺盛,受污染物诱导产生的降解酶增多,降解效率随之提高^[25]。由图2结果推断,31℃是S8的最佳生长温度及其降解酶的最适降解温度,此时S8体内降解酶产量多或活性高,因而对对硝基苯胺的降解效果最好达到64.0%。当温度高于或低于最适生长和降解温度时,随着温度升高或降低,S8生长比较缓慢且其降解酶活性逐渐降低,导致对硝基苯胺降解率的逐渐下降。温度为25℃和40℃时,降解率仅为20.9%及17%。

培养环境的pH值会影响菌株对营养物质的吸收利用和酶的活性,从而影响菌株对对硝基苯胺的降解。图3结果表明,pH 6.0时S8生长最旺盛且对硝基苯胺降解率最高,当pH高于或低于6.0时,菌株生长缓慢,降解酶活性受到酸性或碱性环境的抑制,导致其对对硝基苯胺的降解率降低。另外,pH过酸或过碱时还会破坏细胞表面电位^[26],甚至导致细胞结构发生改变,也直接导致S8对对硝基苯胺降解能力下降,当pH为4和10时,对硝基苯胺降解率均低于20%。

国内外有关对硝基苯胺降解菌的报道较少,已报道菌株存在降解对硝基苯胺的浓度普遍较低,降解速率慢,需要添加外来碳源等问题。Khalid等^[10]从活性污泥中筛选到3株对硝基苯胺的降解菌:

Acinetobacter sp.、*Citrobacter freundii* 和 *Klebsiella oxytoca*, 经过好氧混合培养, 72 h 内可降解 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($13.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 对硝基苯胺; Zeyer 等^[11] 在纯培养条件下, 分离到 1 株假单胞菌 *Pseudomonas* sp. strain P6, 该菌在 pH 7.0、28℃ 条件下, 8 d 后可降解 73% 的 $1.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($207 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 对硝基苯胺; 沈晓莉等^[13] 从污泥中分离到 1 株对硝基苯胺降解菌 *Microbacterium* sp. PNA8, 该菌在 pH 7.0、30℃ 及添加 $0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母膏的培养基中能将 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($41.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 对硝基苯胺在 4 d 内降解完全. 图 4 表明, 菌株 S8 能在 72 h 内降解 65.6% 的 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 55.8% 的 $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对硝基苯胺. 与已报道的菌株相比, S8 对降解对硝基苯胺的培养条件要求低, 在不添加外来碳源的情况下能处理较高浓度的底物浓度, 且降解速率快, 能耐受高盐, 在实际应用中具有较大的优势.

对硝基苯胺主要用于染料工业, 此类化工废水中常常含有高盐^[27]. 高盐含量影响菌株细胞数量, 从而降低菌株对底物的降解率, 当环境中盐含量过高时, 部分细菌不能维持细胞渗透压平衡而脱水死亡, 且不同的盐含量会引起不同数量的细菌发生脱水死亡^[28]. 另外, 盐含量的变化会干扰细菌从环境中吸收自身生长所需物质, 当盐含量过高时, 细菌的物质吸收被阻断, 导致其生长及功能受到抑制甚至死亡. 图 5 表明, 菌株 S8 随着盐含量的不断提高, 其 D_{600} 值及对对硝基苯胺的降解率均逐渐下降. 对硝基苯胺是 S8 生长的唯一碳源和能源物质, 当 NaCl 含量过高时, S8 由于利用对硝基苯胺的过程被阻断而导致其生长受到抑制, 也使其对对硝基苯胺的降解率降低. 盐含量对 S8 降解对硝基苯胺的影响与已报道的鞘氨醇单胞菌降解多环烷烃^[29] 的规律相似. 目前, 利用高盐降解菌处理工业废水中的有毒物质的研究较多, 已报道的有利用高盐降解菌降解烷烃和芳香烃^[30]、甲醛^[31]、菲^[32]、苯酚^[33~35]、硝基苯^[36,37] 和 3,4-二氯苯胺等^[38]. 菌株 S8 是首株能去除对硝基苯胺的耐高盐降解菌, S8 可作为对硝基苯胺工业废水生物降解的新菌株, 由于工业废水中盐度范围波动大^[14], S8 能耐受较宽的盐度范围是其应用于废水处理的一大优势.

目前, 关于微生物降解对硝基苯胺的降解产物方面鲜见报道, 降解途径及机制尚不明确. 本研究中采用 LC-MS 法对其降解产物进行初步分析, 发现样品中比空白对照中多出相对分子质量分别为 88、94、98、102、110 及 112 的化合物, 初步推断其为对

硝基苯胺的 6 种降解产物. 将各个化合物的分子量分别在谱库中检索, 发现分子量为 94 和 110 的化合物分别与苯酚及对苯二酚分子量一致, 同时这两种化合物的保留时间与苯酚及对苯二酚标准品的保留时间相同, 说明对硝基苯胺的降解产物中含有苯酚及对苯二酚. 另外 4 种相对分子质量的化合物还未鉴定出其化合物名称, 需要进行进一步的研究.

4 结论

(1) 通过菌种富集培养分离纯化获得 1 株能利用对硝基苯胺作为唯一碳源和能源生长的菌株 S8, 对其形态学特征、生理生化指标测定及 16S rDNA 进行分析, 初步确定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*).

(2) S8 生长和降解对硝基苯胺的最佳条件为: 温度 31℃, pH 6.0. 在此条件下, S8 在 72 h 内对 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对硝基苯胺的降解率为 65.6%, 对 $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $180 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对硝基苯胺的降解率分别为 55.8% 和 42.1%.

(3) S8 能耐受高浓度的 NaCl 含量, 且在高盐条件下对对硝基苯胺有较好的降解效果. 当 NaCl 含量为 5% 和 7% 时, 降解率分别为 52.7% 和 49.5%; 而当 NaCl 含量为 10% 时, 降解率降为 27.4%.

(4) 通过 LC-MS 法对菌株 S8 降解对硝基苯胺的产物进行分析, 共得到 6 种相对分子质量不同的化合物, 其中两种为苯酚和对苯二酚, 另外 4 种尚不明确, 需进行进一步探讨.

参考文献:

- [1] Ozturk A, Abdullah M I. Toxicological effect of indole and its azo dye derivatives on some microorganisms under aerobic conditions [J]. Science of the Total Environment, 2006, **358**(1-3): 137-142.
- [2] Pinheiro H M, Touraud E, Thomas O. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters [J]. Dyes and Pigments, 2004, **61**(2): 121-139.
- [3] Saupe A. High-rate biodegradation of 3- and 4-nitroaniline [J]. Chemosphere, 1999, **39**(13): 2325-2346.
- [4] Weisburger J H. Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health [J]. Mutation Research, 2002, **506-507**(250): 9-20.
- [5] 周文敏. 环境优先化合物 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [6] 杨彬, 雷乐成. 混合培养微生物好氧降解对硝基苯胺的特性研究 [J]. 环境工程, 2003, **21**(3): 73-75.
- [7] Chakinala A G, Gogate P R, Burgess A E, et al. Industrial wastewater treatment using hydrodynamic cavitation and

- heterogeneous advanced Fenton processing [J]. Chemical Engineering Journal, 2009, **152**(2-3): 498-502.
- [8] Sarasa J, Roche M P, Ormad M P, *et al.* Treatment of a wastewater resulting from dyes manufacturing with ozone and chemical coagulation[J]. Water Research, 1998, **32**(9): 2721-2727.
- [9] Hu W Y, Zheng Z, Zheng S R, *et al.* Degradation of *p*-nitroaniline by ultrasound and zero-valent iron[J]. Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control, 2005, **6**(3): 28-36.
- [10] Khalid A, Arshad M, Crowley D E. Biodegradation potential of pure and mixed bacterial cultures for removal of 4-nitroaniline from textile dye wastewater[J]. Water Research, 2009, **43**(4): 1110-1116.
- [11] Zeyer J, Kearney P C. Microbial Metabolism of ¹⁴C-Nitroaniline to ¹⁴C-Carbon Dioxide[J]. Agricultural and Food Chemistry, 1983, **31**(2): 304-308.
- [12] Qureshi A, Verma V, Kapley A, *et al.* Degradation of 4-nitroaniline by *Stenotrophomonas* strain HPC 135 [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, **60**(4): 215-218.
- [13] 沈晓莉, 王健鑫, 陈小龙, 等. 一株对硝基苯胺降解菌 *Microbacterium* sp. PNA8 的分离鉴定及其降解条件研究[J]. 微生物学通报, 2009, **36**(10): 1496-1500.
- [14] Peyton B M, Wilson T, Yonge D R. Kinetics of phenol biodegradation in high salt solutions[J]. Water Research, 2002, **36**(19): 4811-4820.
- [15] Kapardar R K, Ranjan R, Grover A, *et al.* Identification and characterization of genes conferring salt tolerance to *Escherichia coli* from pond water metagenome[J]. Bioresource Technology, 2010, **101**(11): 3917-3924.
- [16] Kargi F, Dinçer A R. Enhancement of biological treatment performance of saline wastewater by halophilic bacteria [J]. Bioprocess Engineering, 1996, **15**(1): 51-58.
- [17] Kargi F. Empirical models for biological treatment of saline wastewater in rotating biodisc contactor [J]. Process Biochemistry, 2002, **38**(3): 399-403.
- [18] Manu B, Chaudhari S. Decolorization of indigo and azo dyes in semicontinuous reactors with long hydraulic retention time[J]. Process Biochemistry, 2003, **38**(8): 1213-1221.
- [19] Morasch B, Annweiler E, Warthmann R J, *et al.* The use of a solid adsorber resin for enrichment of bacteria with toxic substrates and to identify metabolites: degradation of naphthalene, *O*-, and *m*-xylene by sulfate-reducing bacteria[J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, **44**(2): 183-191.
- [20] Zissi U, Lyberatos G, Pavlou S. Biodegradation of *p*-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis* under aerobic conditions [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1997, **19**(1): 49-55.
- [21] Zissi U, Lyberatos G. Azo-dye biodegradation under anoxic conditions[J]. Water Science and Technology, 1996, **34**(5-6): 495-500.
- [22] Itoh K, Yatome C, Ogawa T. Biodegradation of anthraquinone dyes by *Bacillus subtilis* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1993, **50**(4): 522-527.
- [23] Azmi W, Sani R K, Banerjee U C. Biodegradation of triphenylmethane dyes[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1998, **22**(3): 185-191.
- [24] 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 农业废弃物静态高温堆腐过程中的生物化学变化[J]. 中国农业科学, 2005, **38**(8): 1699-1705.
- [25] Ye J S, Yin H, Qiang J, *et al.* Biodegradation of anthracene by *Aspergillus fumigatus*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, **185**(1): 174-181.
- [26] 梁梦晓, 倪晋仁. SBR 中好氧颗粒污泥的培养及特性研究[J]. 应用基础与工程科学学报, 2009, **17**(4): 502-512.
- [27] Bromley-Challenor K C A, Knapp J S, Zhang Z, *et al.* Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions [J]. Water Research, 2000, **34**(18): 4410-4418.
- [28] Kargi F, Uygur A. Biological treatment of saline wastewater in an aerated percolator unit utilizing halophilic bacteria [J]. Environmental Technology, 1996, **17**(3): 325-330.
- [29] Chen J L, Wong M H, Wong Y S, *et al.* Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Sphingomonas* sp. a bacterial strain isolated from mangrove sediment[J]. Marine Pollution Bulletin, 2008, **57**(6-12): 695-702.
- [30] Bertrand J C, Amallah M, Acquaviva M, *et al.* Biodegradation of hydrocarbons by an extremely halophilic archaeobacterium[J]. Letters in Applied Microbiology, 1990, **11**(5): 260-263.
- [31] Azachi M, Henis Y, Oren A, *et al.* Transformation of formaldehyde by a *Halomonas* sp. [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1995, **41**(6): 548-553.
- [32] McMeekin T A, Nichols P D, Nichols D S, *et al.* Biology and biotechnological potential of halotolerant bacteria from Antarctic saline lakes[J]. Experientia, 1993, **49**(12): 1042-1046.
- [33] Woolard C R, Irvine R L. Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor[J]. Water Research, 1995, **29**(4): 1159-1168.
- [34] Woolard C R, Irvine R L. Biological treatment of hypersaline wastewater by a biofilm of halophilic bacteria [J]. Water Environment Research, 1994, **66**(3): 230-235.
- [35] Hinteregger C, Streichsber F. *Halomonas* sp., a moderately halophilic strain, for biotreatment of saline phenolic waste-water [J]. Biotechnology Letters, 1997, **19**(11): 1099-1102.
- [36] Zheng C L, Qu B F, Wang J, *et al.* Isolation and characterization of a novel nitrobenzene-degrading bacterium with high salinity tolerance; *Micrococcus luteus* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **165**(1-3): 1152-1158.
- [37] 厉阂, 钱坤, 肖伟, 等. 嗜盐拟香妹菌 Y6 降解硝基苯的特性研究[J]. 环境科学, 2013, **34**(2): 753-759.
- [38] Li T, Deng X P, Wang J J, *et al.* Biodegradation of 3, 4-dichloroaniline by a novel *Myroides odoratimimus* strain LWD09 with moderate salinity tolerance [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2012, **223**(3): 3271-3279.

CONTENTS

Concentration and Community Diversity of Microbes in Bioaerosols in the Qingdao Coastal Region	QI Jian-hua, WU Li-jing, GAO Dong-mei, <i>et al.</i> (801)
Carbon Source Apportionment of PM _{2.5} in Chongqing Based on Local Carbon Profiles	ZHANG Can, ZHOU Zhi-en, ZHAI Chong-zhi, <i>et al.</i> (810)
Observation of Atmospheric Pollutants in the Urban Area of Beibei District, Chongqing	XU Peng, HAO Qing-ju, JI Dong-sheng, <i>et al.</i> (820)
A Floating-Dust Case Study Based on the Vertical Distribution of Aerosol Optical Properties	WANG Yuan, DENG Jun-ying, SHI Lan-hong, <i>et al.</i> (830)
Analysis and Assessment of Atmospheric Pollution Based on Accumulation Characterization of Heavy Metals in <i>Platanus acerifolia</i> Leaves	LIU Ling, FANG Yan-ming, WANG Shun-chang, <i>et al.</i> (839)
Study on the Emission Characteristics and Potential Environment Hazards of the Heat-setting Machine of the Typical Dyeing and Finishing Enterprise	XU Zhi-rong, WANG Peng, WANG Zhe-ming, <i>et al.</i> (847)
Implementation Results of Emission Standards of Air Pollutants for Thermal Power Plants; a Numerical Simulation	WANG Zhan-shan, PAN Li-bo (853)
On Road Particle Emission Characteristics of a Chinese Phase IV Natural Gas Bus	LOU Di-ming, CHENG Wei, FENG Qian (864)
Chemical Compositions of <i>n</i> -Alkanols in Smoke from Rice and Maize Straw Combustion	LIU Gang, LI Jiu-hai, WU Dan, <i>et al.</i> (870)
Diurnal and Seasonal Variations of Surface Atmospheric CO ₂ Concentration in the River Estuarine Marsh	ZHANG Lin-hai, TONG Chuan, ZENG Cong-sheng (879)
Partial Pressure and Diffusion Flux of Dissolved Carbon Dioxide in the Mainstream and Tributary of the Central Three Gorges Reservoir in Summer	LI Shuang, WANG Yu-chun, CAO Man, <i>et al.</i> (885)
Emission of CH ₄ , N ₂ O and NH ₃ from Vegetable Field Applied with Animal Manure Composts	WAN He-feng, ZHAO Chen-yang, ZHONG Jia, <i>et al.</i> (892)
Effects of Different Iron Oxides on Methane Emission in Paddy Soil as Related to Drying/Wetting Cycles	ZHANG Tian-jiao, TANG Jia, ZHUANG Li, <i>et al.</i> (901)
Study on the Dissolution Behavior of Biogenic Silica in the Changjiang Estuary Adjacent Sea	WU Bin, LÜ Wei-xiang, LU Chao, <i>et al.</i> (908)
Phytoplankton Community Structure and Assessment of Water Quality in the Middle and Lower Reaches of Fenhe River	WANG Ai-ai, FENG Jia, XIE Shu-lian (915)
Lake Algae Chemotaxonomy Technology Based on Fluorescence Excitation Emission Matrix and Parallel Factor Analysis	CHEN Xiao-na, HAN Xiu-rong, SU Rong-guo, <i>et al.</i> (924)
Ultraviolet-Visible (UV-Vis) Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) in Soils and Sediments of Typical Water-Level Fluctuation Zones of Three Gorges Reservoir Areas	LI Lu-lu, JIANG Tao, YAN Jin-long, <i>et al.</i> (933)
Distribution of Phosphorus in Surface Sediments from the Yellow River Estuary Wetland	YU Zi-yang, DU Jun-tao, YAO Qing-zhen, <i>et al.</i> (942)
Characteristics and Influencing Factors of Phosphorus Adsorption on Sediment in Lake Taihu and Lake Hulun	CHUAI Xiao-ming, YANG Liu-yan, CHENG Shu-bo, <i>et al.</i> (951)
Linking Optical Properties of Dissolved Organic Matter with NDMA Formation Potential in the Huangpu River	DONG Qian-qian, ZHANG Ai, LI Yong-mei, <i>et al.</i> (958)
Reductive Debromination of Polybrominated Diphenyl Ethers in Aquifer by Nano Zero-valent Iron; Debromination Kinetics and Pathway	YANG Yu-han, XU Wei-wei, PENG Si-kan, <i>et al.</i> (964)
Influencing Factors and Reaction Mechanism of Chloroacetic Acid Reduction by Cast Iron	TANG Shun, YANG Hong-wei, WANG Xiao-mao, <i>et al.</i> (972)
Effect of Phosphorus Recovery on Phosphorous Bioaccumulation/Harvesting in an Alternating Anaerobic/Aerobic Biofilter System	ZHANG Shun, TIAN Qing, TANG Man-lin, <i>et al.</i> (979)
Effects of Pretreatment Methods on Corncob as Carbon Source for Denitrification	ZHAO Wen-li, HAO Rui-xia, LI Bin, <i>et al.</i> (987)
Start-Up by Inoculation and Operation of a CANON Reactor with Haydite as the Carrier	FU Kun-ming, ZUO Zao-rong, QIU Fu-guo (995)
Diversity of Operation Performance and Microbial Community Structures in MBRs and CAS Processes at Low Temperature	HUANG Fei, MEI Xiao-jie, WANG Zhi-wei, <i>et al.</i> (1002)
Enhanced Hydrolysis and Acidification of Waste Activated Sludge by Alkyl Polyglycosides	CHEN Can, SUN Xiu-yun, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (1009)
Effect of Substrate Concentration on Pathogen Indicators Inactivation During Thermophilic Anaerobic Digestion	CAO Hong-qing, ZHANG Fei-fei, LI Jian, <i>et al.</i> (1016)
Pollution Evaluation and Health Risk Assessment of Heavy Metals from Atmospheric Deposition in Lanzhou	LI Ping, XUE Su-yin, WANG Sheng-li, <i>et al.</i> (1021)
Ecological Risk Assessment of Organophosphorus Pesticides in Aquatic Ecosystems of Pearl River Estuary	GUO Qiang, TIAN Hui, MAO Xiao-xuan, <i>et al.</i> (1029)
Source Characteristics and Contamination Evaluation of Heavy Metals in the Surface Sediments of Haizhou Bay	LI Fei, XU Min (1035)
Health Risk Induced by Estrogens During Unplanned Indirect Potable Reuse of Reclaimed Water from Domestic Wastewater	WU Qian-yuan, SHAO Yi-ru, WANG Chao, <i>et al.</i> (1041)
Distribution Characteristics and Erosion Risk of Nitrogen and Phosphorus in Soils of Zhuangmu Town in Lake Wabuhu Basin	LI Ru-zhong, ZOU Yang, XU Jing-jing, <i>et al.</i> (1051)
Distribution and Risk Assessment of Mercury Species in Soil of the Water-Level-Fluctuating Zone in the Three Gorges Reservoir	ZHANG Cheng, CHEN Hong, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (1060)
Health Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Residential Communities Built on Brownfields	CHEN Xing, MA Jian-hua, LI Xin-ning, <i>et al.</i> (1068)
Study on Ecological Risk Assessment Technology of Fluoride Pollution from Arid Oasis Soil	XUE Su-yin, LI Ping, WANG Sheng-li, <i>et al.</i> (1075)
Rainfall Process and Nitrogen Input in Three Typical Forests of Jinyun Mountain	SUN Su-qi, WANG Yu-jie, WANG Yun-qi, <i>et al.</i> (1081)
Effects of Land Use and Landscape Pattern on Nitrogen and Phosphorus Exports in Lanlingxi Watershed of the Three Gorges Reservoir Area, China	HAN Li-yang, HUANG Zhi-lin, XIAO Wen-fa, <i>et al.</i> (1091)
Changes and Influencing Factors of the Soil Organic Carbon in Farmland in the Last 30 Years on Hilly Loess Plateau; A Case Study in Zhuanglang County, Gansu Province	SHI Chen-di, XU Ming-xiang, QIU Yu-jie, <i>et al.</i> (1098)
Organic Carbon and Carbon Mineralization Characteristics in Nature Forestry Soil	YANG Tian, DAI Wei, AN Xiao-juan, <i>et al.</i> (1105)
Dynamic Change of Phosphorus Leaching of Neutral Purple Soil at Different Re-wetting Rate	ZHANG Si-lan, SHI Xiao-jun, GUO Tao (1111)
Effects of Thiourea on pH and Availability of Metal Ions in Acid Red Soil	YANG Bo, WANG Wen, ZENG Qing-ru, <i>et al.</i> (1119)
Growth Responses of Six Leguminous Plants Adaptable in Northern Shaanxi to Petroleum Contaminated Soil	SHAN Bao-qin, ZHANG Yong-tao, CAO Qiao-ling, <i>et al.</i> (1125)
Plant N Status in the Alpine Grassland of the Qinghai-Tibet Plateau; Base on the N:P Stoichiometry	ZHANG Ren-yi, XU Dang-hui, CHEN Ling-yun, <i>et al.</i> (1131)
Development and Succession of Artificial Biological Soil Crusts and Water Holding Characteristics of Topsoil	WU Li, CHEN Xiao-guo, ZHANG Gao-ke, <i>et al.</i> (1138)
Carbon Dioxide Assimilation Potential, Functional Gene Amount and RubisCO Activity of Autotrophic Microorganisms in Agricultural Soils	CHEN Xiao-juan, WU Xiao-hong, JIAN Yan, <i>et al.</i> (1144)
Dynamics of Microbes and Enzyme Activities During Litter Decomposition of <i>Pinus massoniana</i> Forest in Mid-subtropical Area	SONG Ying, GU Xi-rong, YAN Hai-yuan, <i>et al.</i> (1151)
Levels and Possible Sources of Organochlorine Pesticides (OCPs) in Camphor (<i>Cinnamomum camphora</i>) Tree Bark from Southern Jiangsu, China	ZHOU Li, ZHANG Xiu-lan, YANG Wen-long, <i>et al.</i> (1159)
Combined Stress of Enhanced UV-B Radiation and 1,2,4-Trichlorobenzene Contamination on the Growth of Green Vegetable	LIU Cui-ying, FAN Jian-ling, XU Xiang-hua (1164)
Effect of Ectomycorrhizae on Heavy Metals Sequestration by Thermostable Protein in Rhizosphere of <i>Pinus tabulaeformis</i> Under Cu and Cd Stress	ZHANG Ying-wei, CHAI Li-wei, WANG Dong-wei, <i>et al.</i> (1169)
Isolation and Characterization of a Halotolerant <i>p</i> -nitroaniline Degrading Strain S8	SONG Cai-xia, DENG Xin-ping, LI Tian, <i>et al.</i> (1176)
Optimized Cultivation of a Bioflocculant M-C11 Produced by <i>Klebsiella pneumoniae</i> and Its Application in Sludge Dewatering	LIU Jie-wei, MA Jun-wei, LIU Yan-zhong, <i>et al.</i> (1183)
Speciation Analysis of Lead Losses from Anthropogenic Flow in China	LIANG Jing, MAO Jian-su (1191)
Establishment and Application of Pollutant Discharge-Environment Quality Model	LI Ming-sheng, SUN Yuan, CHEN Yuan-hang, <i>et al.</i> (1198)
Advances in the Pathway and Molecular Mechanism for the Biodegradation of Microcystins	YAN Hai, WANG Hua-sheng, LIU Xiao-lu, <i>et al.</i> (1205)

《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)

2014年3月15日 35卷 第3期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 3 Mar. 15, 2014

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