

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第7期

Vol.34 No.7

**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

唐山市大气颗粒物 OC/EC 浓度谱分布观测研究 ..... 郭育红, 辛金元, 王跃思, 温天雪, 李杏茹, 封孝信 (2497)

北京东灵山地区主要大气污染物浓度变化特征 ..... 于阳春, 胡波, 王跃思 (2505)

奥运前期与奥运期间北京市大气细颗粒物特征比较分析 ..... 张菊, 欧阳志云, 苗鸿, 王效科, 任玉芬, 宋文质 (2512)

华东森林及高山背景区域臭氧变化特征及影响因素 ..... 苏彬彬 (2519)

北京市居家空气微生物粒径及分布特征研究 ..... 方治国, 孙平, 欧阳志云, 刘芃, 孙力, 王小勇 (2526)

民用燃煤源中多环芳烃排放因子实测及其影响因素研究 ..... 海婷婷, 陈颖军, 王艳, 田崇国, 林田 (2533)

醇类汽油车醇醛酮、芳香烃和烯烃类排放的试验研究 ..... 张凡, 王建华, 王小臣, 王建昕 (2539)

微波解吸-催化燃烧净化甲苯研究 ..... 曹晓强, 张浩, 黄学敏 (2546)

生物滴滤池对 BTEX 的去除及相应细菌群落分析 ..... 李建军, 廖东奇, 许玫英, 孙国萍 (2552)

炼油厂废水处理站挥发性羰基化合物成分谱研究 ..... 周博宇, 刘旺, 王伯光, 周咪, 黄青, 周磊 (2560)

春季东、黄海溶解甲烷的分布和海水交换通量 ..... 曹兴朋, 张桂玲, 马啸, 张国玲, 刘素美 (2565)

千岛湖湖泊区水体季节性分层特征研究 ..... 董春颖, 虞左明, 吴志旭, 吴春金 (2574)

新安江流域土地利用结构对水质的影响 ..... 曹芳芳, 李雪, 王东, 赵越, 王玉秋 (2582)

长江中下游草型湖泊浮游植物群落及其与环境因子的典范对应分析 ..... 孟睿, 何连生, 过龙根, 席北斗, 李中强, 舒俭民, 刁晓君, 李必才 (2588)

河口盐度梯度下溶解态核酸的微生物可利用性 ..... 杨青青, 李朋辉, 黄清辉 (2597)

水藻暴发的影响因素定量化研究初步 ..... 张卓, 宋志尧, 黄昌春, 俞肇元 (2603)

深水型水库藻类功能组时空演替及生境变化的影响 ..... 卢金锁, 胡亚潘 (2611)

结合水体光学分类反演太湖总悬浮物浓度 ..... 周晓宇, 孙德勇, 李云梅, 李俊生, 龚绍琦 (2618)

Subwet 模型在人工湿地设计中的应用 ..... 李慧峰, 黄津辉, 林超 (2628)

白洋淀荷茎叶提取液对铜绿微囊藻及四尾栅藻化感效应 ..... 何连生, 孟繁丽, 刁晓君, 李一葳, 孟睿, 席北斗, 舒俭民 (2637)

苦草 (*Vallisneria spiralis*) 对城市缓流河道黑臭底泥理化性质的影响 ..... 许宽, 刘波, 王国祥, 马久远, 曹勤, 周锋 (2642)

铁屑-微生物协同还原去除水体中 Cr(VI) 研究 ..... 汤洁, 王卓行, 徐新华 (2650)

铁铜催化剂非均相 Fenton 降解苯酚及机制研究 ..... 杨岳主, 李玉平, 杨道武, 段锋, 曹宏斌 (2658)

不同形态无机氮对水中微量药物安替比林光降解效能影响 ..... 赵倩, 陈超, 封莉, 张立秋 (2665)

邻苯二甲酸二甲酯的紫外光-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解机制研究 ..... 刘青, 陈成, 陈泓哲, 杨绍贵, 何欢, 孙成 (2670)

二胺基改性有序多孔 SBA-15 对溶液中 Cd<sup>2+</sup> 离子的吸附研究 ..... 张萌, 杨亚提, 秦睿, 王力, 张增强, 李忠宏, 李荣华, 孟昭福 (2677)

酸化蛭石的表面有机修饰及其对疏水性微污染物的吸附 ..... 蒋争明, 于旭彪, 胡芸, 任源, 李雪辉, 韦朝海 (2686)

基于废陶瓷的多孔陶瓷研制及其对 Ni<sup>2+</sup> 的吸附性能 ..... 张永利, 王承智, 史册, 尚玲玲, 马瑞, 董婉莉 (2694)

树皮支持的厌氧生物法去除地下水中的高氯酸盐 ..... 王蕊, 刘菲, 陈楠, 陈鸿汉 (2704)

Cr(VI) 污染地下水修复的 PRB 填料实验研究 ..... 朱文会, 董良飞, 王兴润, 翟亚丽 (2711)

化学沉淀法去除稀土湿法冶炼废水中钙与高浓度氨氮研究 ..... 王浩, 成官文, 宋晓薇, 徐子涵, 蒙金结, 董传强 (2718)

镍铁尾矿硫酸浸出动力学研究 ..... 陈安安, 周少奇, 黄鹏飞 (2729)

HRT 对 A<sup>2</sup>O 工艺中典型多环麝香迁移转化的影响 ..... 刘鹏程, 黄满红, 陈东辉, 陈亮 (2735)

发酵液作为 EBPR 碳源的动力学模拟 ..... 张超, 陈银广 (2741)

强化污泥利用水解反应器改善碳源与污泥减量作用研究 ..... 熊娅, 王强, 宋英豪, 朱民, 林秀军 (2748)

污泥胞外聚合物的提取方法及其对污泥脱水性能的影响 ..... 周俊, 周立祥, 黄焕忠 (2752)

不同粒径铁铝泥对砷(III)的吸附效果 ..... 林璐, 胥嘉瑞, 吴昊, 王昌辉, 裴元生 (2758)

我国畜禽粪便污染的区域差异与发展趋势分析 ..... 仇焕广, 廖绍攀, 井月, 栾江 (2766)

浙北平原富硒土壤资源区硒来源的定量分离 ..... 徐明星, 潘卫丰, 岑静, 马学文 (2775)

三江平原土地利用方式变化对土壤锰形态影响 ..... 张仲胜, 吕宪国, 宋晓林 (2782)

吉林前郭水田土壤有机碳垂向分布规律和储量研究 ..... 汤洁, 张雯辉, 李昭阳, 张楠, 胡猛 (2788)

关中地区农田土壤有机碳固存速率及影响因素: 以陕西武功县为例 ..... 张晓伟, 许明祥 (2793)

三峡库区不同林草措施土壤活性有机碳及抗蚀性研究 ..... 黄茹, 黄林, 何丙辉, 周立江, 于传, 王峰 (2800)

土壤自养微生物同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究: <sup>14</sup>C 连续标记法 ..... 史然, 陈晓娟, 吴小红, 简燕, 袁红朝, 葛体达, 隋方功, 童成立, 吴金水 (2809)

西南丘陵区保护性耕作下小麦农田土壤呼吸及影响因素分析 ..... 张赛, 张晓雨, 王龙昌, 罗海秀, 周航飞, 马仲炼, 张翠微 (2815)

丹江口水库迁建区土壤有机氯农药的分布特征及风险评价 ..... 李子成, 秦延文, 郑丙辉, 张雷, 赵艳民, 时瑶 (2821)

农药企业场地苯系物污染风险及调控对策 ..... 虎博, 王铁宇, 杜立宇, 谭冰, 朱朝云, 吕永龙 (2829)

水分管理对硫铁镉在水稻根区变化规律及其在水稻中积累的影响 ..... 张雪霞, 张晓霞, 郑煜基, 王荣萍, 陈能场, 卢普相 (2837)

硝酸盐对沉积物中有机物氧化减量及微生物群落结构的影响 ..... 刘近, 邓代永, 孙国萍, 刘永定, 许玫英 (2847)

零价铁对脱色希瓦氏菌 S12 偶氮还原的促进作用 ..... 周庆, 陈杏娟, 郭俊, 孙国萍, 许玫英 (2855)

2 株好氧反硝化菌的筛选及其强化贫营养生物膜脱氮效果 ..... 全向春, 岑艳, 钱殷 (2862)

反硝化聚磷菌快速富集、培养及其荧光原位杂交技术鉴别 ..... 刘立, 汤兵, 黄绍松, 付丰连, 张启泰, 黎健彬, 罗建中 (2869)

1 株反硝化除磷菌的鉴定及其反硝化功能基因研究 ..... 张倩, 王弘宇, 桑稳姣, 李孟, 杨开, 马放 (2876)

1 株高效 BBP 降解菌的分离与特性研究 ..... 陈湖星, 杨雪, 张凯, 钟秋, 郭佳, 王攀, 熊丽, 刘德立 (2882)

微生物-化学水解联合作用下烟嘧磺隆的降解 ..... 张小林, 李咏梅, 袁志文 (2889)

扑草净降解菌的分离、筛选与鉴定及降解特性初步研究 ..... 周际海, 孙向婷, 胡锋, 李辉信 (2894)

固定化 *Lysinibacillus cresolovorans* 的 PVA-SA-PHB-AC 复合载体制备及间甲酚的降解 ..... 李婷, 任源, 韦朝海 (2899)

生物破乳菌 *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 表面活性物质提取与其破乳特性分析 ..... 黄翔峰, 张树聪, 彭开铭, 陆卫君, 刘佳 (2906)

A<sup>2</sup>O 工艺活性污泥中可培养丝状细菌的多样性 ..... 高莎, 金德才, 赵志瑞, 齐嵘, 彭霞微, 白志辉 (2912)

生活垃圾堆肥渗滤液污染物组成与演化规律研究 ..... 李丹, 何小松, 席北斗, 魏自民, 潘红卫, 赵国鹏, 崔东宇 (2918)

专辑征稿通知 (2551) 《环境科学》征稿简则 (2685) 《环境科学》征订启事 (2868) 信息 (2875)

# 1 株反硝化除磷菌的鉴定及其反硝化功能基因研究

张倩<sup>1</sup>, 王弘宇<sup>2</sup>, 桑稳姣<sup>1</sup>, 李孟<sup>1</sup>, 杨开<sup>2</sup>, 马放<sup>3</sup>

(1. 武汉理工大学土木工程与建筑学院, 武汉 430070; 2. 武汉大学土木建筑工程学院, 武汉 430072; 3. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090)

**摘要:** 研究反硝化除磷菌(denitrifying polyphosphate-accumulating organism, DPAO)的筛选、鉴定及反硝化功能基因。利用反硝化培养基分离得到菌株 ZQN2, 经好氧吸磷试验, 硝酸盐还原产气试验并辅助异染颗粒和 PHB 颗粒染色, 确定其为反硝化除磷菌。厌氧释磷/缺氧吸磷试验结果表明, 菌株 ZQN2 在厌氧段释磷并合成 PHB (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate), 在缺氧段以  $\text{NO}_3^-$  为电子受体氧化 PHB 并过量吸磷, 进行了同步反硝化除磷。对菌株 ZQN2 进行 16S rRNA 基因序列分析, 并构建系统进化树, 结果表明该菌株与 GenBank 数据库中多株 *Bacillus cereus* 菌株 16S rRNA 基因的同源性在 99% 以上。结合生理生化检测, 判断菌株 ZQN2 为蜡状芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)。对其反硝化功能基因的研究表明, 菌株 ZQN2 为 *nirS*<sup>+</sup> 和 *nirK*<sup>-</sup> 型, 从分子生物学角度确认其具有反硝化功能; 菌株 ZQN2 的 *nirS* 序列的系统发育分析结果表明, 其 *nirS* 序列与多株 *Pseudomonas aeruginosa* 的亲缘关系最接近, 这与基于 16S rRNA 的系统发育分析的结果不一致。

**关键词:** 反硝化除磷菌; 16S rRNA; 反硝化; 功能基因; 系统发育分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)07-2876-06

## Identification of a Denitrifying Polyphosphate-accumulating Organism (DPAO) and Study on Its Denitrifying Functional Genes

ZHANG Qian<sup>1</sup>, WANG Hong-yu<sup>2</sup>, SANG Wen-jiao<sup>1</sup>, LI Meng<sup>1</sup>, YANG Kai<sup>2</sup>, MA Fang<sup>3</sup>

(1. School of Civil Engineering and Architecture, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. School of Civil Engineering, Wuhan University, Wuhan 430072, China; 3. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

**Abstract:** A denitrifying polyphosphate-accumulating organism (DPAO) was isolated and identified, and the denitrifying functional genes were investigated. The strain ZQN2 was isolated using denitrifying medium. It was distinguished as DPAO by tests of aerobic phosphorus uptake, nitrate reduction, metachromatic granules and PHB (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate) granules dyeing. Test of anaerobic phosphorus release/anoxic phosphorus uptake showed that strain ZQN2 released phosphorus and synthesized PHB at the anaerobic phase and used  $\text{NO}_3^-$  as acceptor to oxidize PHB during the anoxic phase with luxury phosphorus uptake, performing the function of simultaneous denitrifying phosphorus removal. The 16S rRNA gene sequence of strain ZQN2 was used for homology analysis and construction of phylogenetic trees. The results suggested that the 16S rRNA gene sequence of ZQN2 had up to 99% homology with those of many strains of *Bacillus cereus* strains in GenBank database. With physiological and biochemical reactions, the strain ZQN2 was identified as *Bacillus cereus*. The result of denitrifying functional gene study suggested that strain ZQN2 was the type of *nirS*<sup>+</sup> and *nirK*<sup>-</sup>, which confirmed its denitrifying function from molecular biology point of view. Moreover, the phylogenetic analysis of *nirS* gene of ZQN2 showed that it was closely related to many strains of *Pseudomonas aeruginosa*, which was different from the analysis results of the 16S rRNA.

**Key words:** denitrifying polyphosphate-accumulating organism (DPAO); 16S rRNA; denitrification; functional gene; phylogenetic analysis

反硝化和聚磷是污水生物脱氮除磷过程中两个十分重要的反应过程, 随着脱氮除磷技术在微生物领域不断地研究, 反硝化菌(denitrifiers)和除磷菌(polyphosphate accumulating organisms, PAOs)也逐渐被人们所认识和了解<sup>[1,2]</sup>。有学者认为在传统脱氮除磷工艺中, *Acinetobacter* 是除磷菌中占优势的菌种<sup>[3]</sup>, *Pseudomonas* 则在反硝化菌中占主导地位<sup>[4]</sup>。但传统的生物脱氮除磷存在自身难以解决的矛盾: 除磷菌和反硝化菌对碳源的竞争始终存在; 硝化菌、反硝化菌和除磷菌的菌龄不同, 各种菌群

混合在一起互相制约, 难以使系统达到最优的运行条件。反硝化除磷菌的发现使脱氮除磷工艺有了更为广阔的应用前景。目前普遍认可的除磷原理为: 厌氧条件下, 除磷菌将菌体内的聚磷水解成  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 释放到菌体外, 并在此过程中获取能量, 将环境中的

收稿日期: 2012-10-29; 修订日期: 2012-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(51208397; 51108360); 中国博士后科学基金项目(2011M501254); 湖北省自然科学基金项目(2011CDB428)

作者简介: 张倩(1983~), 女, 博士, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: qianzhang@whut.edu.cn

有机碳源转化到微生物体内合成贮能物质 PHA (polyhydroxyalkanoate); 好氧条件下, 除磷菌能以氧为电子受体分解菌体细胞内的 PHA 产生能量, 大部分用来供给自身细胞的合成及维持生命活动, 另外一部分则用于过量摄取环境中的无机磷酸盐, 并作为能量以聚磷的形式贮存于菌体细胞内. 与此除磷机制相似, DPAOs 利用  $\text{NO}_3^-$  而非  $\text{O}_2$  作为电子受体, 在缺氧条件下通过氧化内碳源 PHB (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate, PHA 的一类) 过量吸磷, 同时将  $\text{NO}_3^-$  还原, 使得吸磷和反硝化这 2 个原本对立的过程得到了统一<sup>[5]</sup>.

反硝化吸磷现象已经被人们所确认, Jørgensen 等<sup>[6]</sup>从微生物学角度也证实了同一菌种能够完成反硝化同时吸磷的任务. 目前普遍认为反硝化除磷菌的种类是多样的<sup>[7]</sup>, 但还存在很多问题没有解决. 例如, 利用传统分离技术分离反硝化除磷菌的种类较少; 分离的反硝化除磷菌缺少功能基因方面的分子生物学验证等问题<sup>[8]</sup>. 同时, 几乎所有研究都是基于 16S rRNA 序列对反硝化除磷菌进行系统发育分析; 许多研究人员都从试验模型和水厂中成功分离并培养了菌种, 在这些菌种中大多数经鉴定后都属于不动杆菌属和不动菌属<sup>[9, 10]</sup>;

表 1 反应器进出水指标/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 1 Influent and effluent index of the reactor/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

指标	COD	$\text{NH}_4^+-\text{N}$	$\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$	$\text{NO}_3^- -\text{N}$	$\text{NO}_2^- -\text{N}$	pH	MLSS
进水	120.71	21.71	2.61	0.02	0.08	7.4	3 824
出水	53.57	0.06	0.14	0.68	5.19		

## 1.2 菌株的分离和筛选

采用稀释混合平板法并使用反硝化培养基(柠檬酸钠,  $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$ ,  $2.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; pH 7.2) 对菌株进行分离, 然后参照文献<sup>[17]</sup>在富磷培养基( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $3.23\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $305.52\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $91.26\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $25.68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; PIPES buffer,  $8.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 微量元素<sup>[6]</sup>,  $2\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 为 7.2) 中进行好氧吸磷试验以筛选菌株. 并辅助进行硝酸盐还原产气试验<sup>[18]</sup>及异染颗粒和 PHB 颗粒染色检验<sup>[19]</sup>.

## 1.3 菌株的生理生化鉴定

菌株生理生化特性的鉴定参照文献<sup>[20]</sup>进行.

## 1.4 厌氧释磷/缺氧吸磷特性

菌株 ZQN2 在富磷培养基(200 mL) 中好氧培养

罗宁<sup>[11]</sup>的研究结果表明肠杆菌科细菌、气单胞菌属、假单胞菌属、莫拉氏菌属这 4 个细菌种属具有反硝化吸磷功能; 王春丽等<sup>[12]</sup>、苏俊峰等<sup>[13]</sup>和马放等<sup>[14]</sup>等分离出反硝化除磷菌, 经 16S rRNA 序列鉴定为假单胞菌属、肠杆菌属、不动杆菌属和芽胞杆菌属; 杨志愿等<sup>[15]</sup>分离了沙雷菌属、拉恩菌属、不动杆菌属; 吕志堂等<sup>[16]</sup>分离的嗜麦芽寡养单胞菌、水生丛毛单胞菌属和约翰逊氏不动杆菌都具有反硝化除磷菌特性. 但是, 对反硝化除磷菌的基于功能基因的系统发育分析尚为空白.

因此, 本研究从生物学角度出发, 筛选反硝化除磷菌, 考察其厌氧释磷/缺氧吸磷性能, 并对其进行基于 16S rRNA 和反硝化功能基因 *nirS* 和 *nirK* 的分析研究, 以期深入理解反硝化除磷机制, 为进一步构建高效反硝化除磷工程菌奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种来源

取自实验室稳定运行的 AOA (anaerobic/aerobic/anoxic, 厌氧/好氧/缺氧) SBR 反应器中缺氧段末的活性污泥. 该反应器采用生活污水作为试验用水, 稳定运行时进出水指标如表 1 所示.

20 h 后, 离心( $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 8 min), 无菌蒸馏水洗涤, 再离心( $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 8 min) 后弃上清液; 将沉淀再次投入到富磷培养基(200 mL) 中充氮气, 厌氧(密闭容器, 溶液中无分子态和化合态氧) 培养 160 min ( $140\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ), 结束后向其中投加  $\text{KNO}_3$  溶液, 使培养液中  $\text{NO}_3^- -\text{N}$  含量为  $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 充氮气, 缺氧(溶液中有化合态氧  $\text{NO}_3^- -\text{N}$ , 无分子态氧) 培养 180 min ( $140\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ). 其中厌氧 160 min/缺氧 180 min 是参照 SBR 反应器运行条件设定的. 期间每隔 30 min 取培养液, 离心( $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 8 min), 取上清液经  $0.22\ \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后测定滤液中  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  和  $\text{NO}_3^- -\text{N}$  等指标, 离心后的菌沉淀经冷冻干燥后测定菌体中的 PHB 含量.  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  采用钼锑抗分光光度法<sup>[21]</sup>测定,  $\text{NO}_3^- -\text{N}$  采用酚二磺酸光度法<sup>[21]</sup>测定, PHB 采用硫酸、甲醇消解-气相色谱法<sup>[22]</sup>的测定.

### 1.5 16S rRNA 和反硝化功能基因序列扩增

采用试剂盒(上海华舜生物工程有限公司)提取细菌基因组总 DNA. 16S rRNA 全序列引

物<sup>[23]</sup>、反硝化功能基因 *nirS* 引物<sup>[24]</sup> 和 *nirK* 引物<sup>[25]</sup> 如表 2 所示,引物由宝生物工程(大连)有限公司合成.

表 2 细菌 PCR 扩增引物

Table 2 Primers for PCR amplification

引物	序列(5'-3')	靶位点
BSF08	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	16S rRNA, 8-27
BSR1541	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	16S rRNA, 1541-1522
cd3aF	GT(C/G)AACGT(C/G)AAG GA(A/G)AC(C/G)GG	<i>nirS</i> , 916-935
R3cd	GA(C/G)TTCGG(A/G)TG(C/G)GTCCTG A	<i>nirS</i> , 1322-1341
<i>nirK1F</i>	GG(A/C) ATG GT(G/T) CC(C/G) TGG CA	<i>nirK</i> , 526-542
<i>nirK2F</i>	GC(C/G)(C/A)T(C/G)ATGGT(C/G)CTGCC	<i>nirK</i> , 565-581
<i>nirK3R</i>	GAACCTGCCGGT(A/C/G)G(C/T)CCAGAC	<i>nirK</i> , 898-918
<i>nirK4R</i>	GG(A/G)AT(A/G)A(A/G)CCAGGTTTCC	<i>nirK</i> , 942-959
<i>nirK5R</i>	GCC TCG ATC AG(A/G) TT(A/G) TGG	<i>nirK</i> , 1023-1040

其中,功能基因 *nirK* 的正反引物相互配对,即 *nirK1F/nirK3R*、*nirK1F/nirK4R*、*nirK1F/nirK5R*、*nirK2F/nirK3R*、*nirK2F/nirK4R*、*nirK2F/nirK5R*. PCR 反应体系和反应条件参照文献[24, 25]进行. PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测. 然后将目的片段基因与 pMD 18-T 载体进行连接,转入大肠杆菌 TOP10 感受态细胞中,经菌落 PCR 检验剔除假阳性,将阳性克隆送至南京金斯瑞生物科技有限公司测序.

### 1.6 16S rRNA 和反硝化功能基因的系统发育分析

将测序结果在 GenBank 数据库中进行 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) 序列的相关性搜索,同时利用相关种属的 16S rRNA 序列或者功能基因序列,构建系统发育树. 序列对排用 CLUSTAL X1.8<sup>[26]</sup> 进行多序列匹配排列,进化树的构建用 Neighbour-joining 方法<sup>[27]</sup>. 进化树分枝模式的稳定性用 MEGA4 软件进行 Bootstrap 分析,重复 1 000 次,计算各分支的支持度,最后采用 NJ 程序<sup>[28]</sup> 构建 16S rRNA 和反硝化功能基因的系统发育树.

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株的筛选与生理生化鉴定

从反硝化培养基中分离纯化得到菌株 ZQN2, 进行好氧吸磷试验,12 h 后,  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  的去除率高达 90.63%, 硝酸盐还原产气试验结果为阳性,经染色检验菌体内有异染颗粒和 PHB 颗粒,异染颗粒和 PHB 颗粒染色照片分别如图 1 和图 2 所示,确定菌株 ZQN2 属于反硝化除磷菌. 菌株 ZQN2 的透射电镜照片如图 3 所示,可以看出,菌株 ZQN2 为短杆

状,大小约为  $1.6 \times 3.8 \mu\text{m}$ . 菌株 ZQN2 的生理生化测定结果如表 3 所示. 基于生理生化试验分析,及透射电镜分析,并参照文献[29],初步鉴定 ZQN2 属于芽胞杆菌属(*Bacillus sp.*).



图 1 菌株 ZQN2 的异染颗粒染色 ( $\times 1000$ )

Fig. 1 Metachromatic granules photo of strain ZQN2

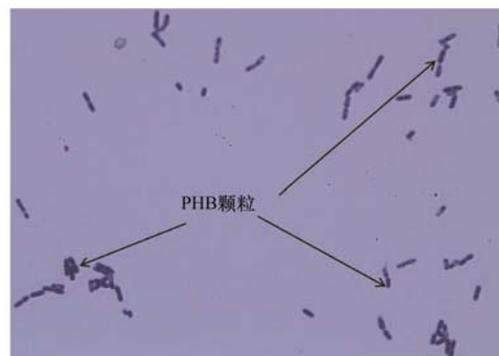


图 2 菌株 ZQN2 的 PHB 颗粒染色 ( $\times 1000$ )

Fig. 2 PHB staining photo of strain ZQN2

### 2.2 厌氧释磷/缺氧吸磷特性

菌株 ZQN2 的厌氧释磷/缺氧吸磷试验结果如

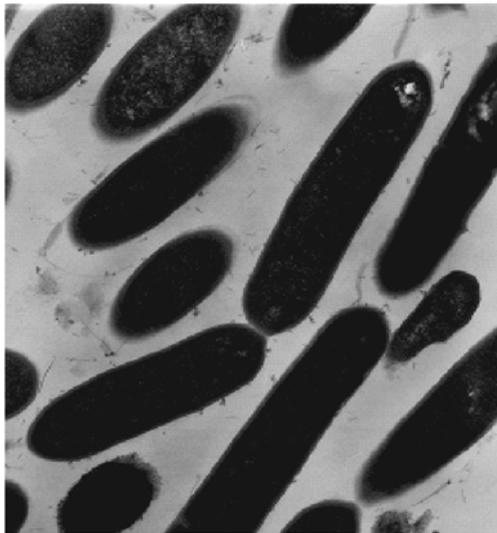
图3 菌株 ZQN2 透射电镜照片 ( $\times 20\,000$ )

Fig. 3 TEM photo of strain ZQN2

图4所示. 此厌氧释磷/缺氧吸磷特性试验是模拟 SBR 反应器 160 min 厌氧/180 min 缺氧的模式运行一个周期. 由于时间较短, 菌体细胞的增殖不多. 因此, 在本试验中忽略菌体细胞的增殖情况.

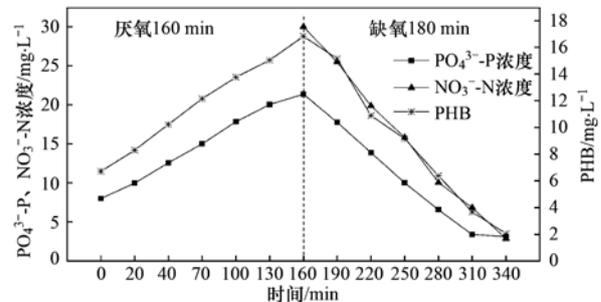


图4 菌株 ZQN2 厌氧释磷/缺氧吸磷结果

Fig. 4 Anaerobic phosphorus release/anoxic phosphorus uptake of strain ZQN2

表3 菌株 ZQN2 生理生化鉴定结果<sup>1)</sup>

Table 3 Identification by biochemical properties

项目	革兰氏染色	淀粉水解	葡萄糖氧化发酵	产吡啶	明胶液化	接触酶	氧化酶	M. R.	V. P.	柠檬酸盐利用	硝酸盐还原
鉴定结果	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

1) “+”为阳性,“-”为阴性

由图4可知,在160 min 厌氧条件下,培养液中  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  浓度由初始的  $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  增加到  $21.37\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,相应的菌体中 PHB 含量由初始的  $6.72\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  增加到  $16.83\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 在缺氧开始时向培养基中投加  $\text{KNO}_3$  使其  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  浓度达到  $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 缺氧结束时  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  浓度降至  $2.86\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  浓度降至  $3.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 菌体中 PHB 含量降至  $2.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 可以看出,厌氧段 PHB 含量随着释磷量的增加而增加,但在随后的缺氧段却随着吸磷量的增加而减少.

由此可知,菌株 ZQN2 遵循了典型的反硝化除磷菌的代谢模式<sup>[30]</sup>,即在厌氧条件下,菌株 ZQN2 分解体内的多聚磷酸盐(异染颗粒减小)产生能量,并释放出磷酸盐(环境中  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  含量增加)以维持菌株的代谢,同时将胞外有机物摄入胞内(环境中有机物含量降低)并合成 PHB(菌体内 PHB 含量增加),合成 PHB 的能量来自聚磷酸盐分解过程中产生的能量;缺氧条件下,菌株 ZQN2 以  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  为电子受体(环境中  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  含量减少),分解利用厌氧段合成的 PHB 产生能量(菌体内 PHB 含量降低),大部分供给细胞合成,维持生命活动,另一小部分过量摄取环境中的无机磷酸盐(环境中  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  含量

减少),并以聚磷的形式储存于菌体内(异染颗粒增大). 因此,菌株 ZQN2 具有反硝化和除磷的能力,是一株典型的反硝化除磷菌,能在缺氧条件下以  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  为电子受体氧化菌体内厌氧段合成的 PHB,并过量吸磷,进行了同步反硝化除磷.

### 2.3 16S rRNA 系统发育分析

提取菌株 ZQN2 的基因组总 DNA,以 BSF08 和 BSR1541 为引物,经 PCR 扩增后,获得 ZQN2 菌株 16S rRNA 约 1 500 bp 的扩增片段,NCBI 登录号为 GU384232. 将该序列用 BLAST 程序对 GenBank 数据库进行探索比较,结果表明,菌株 ZQN2 与 *Bacillus cereus* 的亲缘关系最接近,具有 99% 以上的相似性. 采用 MEGA 程序将该菌株与数据库中已报道菌株进行了系统发育进化分析,并绘制系统发育树,如图 5 所示. 结合菌株 ZQN2 的生理生化鉴定结果,将菌株 ZQN2 最终鉴定为蜡状芽胞杆菌 (*Bacillus cereus*).

### 2.4 反硝化功能基因的系统发育分析

与相对保守的 16S rRNA 相比,功能基因具有更多的序列变化,利用功能基因可以区分生态功能不同但亲缘相近的微生物种群,但更重要的是利用功能基因可以鉴定生态功能相同但亲缘较远的微生物

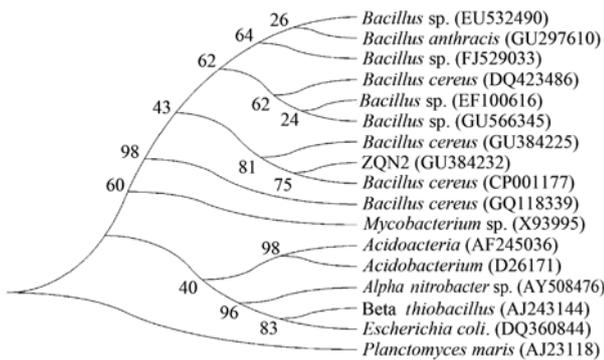


图5 用 NJ 法构建的基于 16S rRNA 序列同源性菌株 ZQN2 的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic neighbor-joining tree based on 16S rRNA from strain ZQN2

物种群,如反硝化菌.亚硝酸盐还原酶 Nir 分为 2 种:Cu 型亚硝酸盐还原酶和细胞色素  $cd_1$  型亚硝酸盐还原酶,分别由 *nirK* 和 *nirS* 基因编码.

本试验中使用 6 对引物扩增 *nirK* 基因,但扩增结果都呈阴性,即没有扩增出 *nirK* 基因条带. *nirS* 基因的 PCR 扩增所使用引物为 cd3aF 和 R3cd,经 PCR 扩增后结果呈阳性,GenBank 登录号为 GU563985. 结合 *nirK* 基因扩增结果可知,菌株 ZQN2 为 *nirS*<sup>+</sup> 和 *nirK*<sup>-</sup> 型. 这与一般普遍的观点相同,即认为同一株菌中不会同时出现这 2 种基因. 但是也有人发现了能同时含有这 2 种基因的菌株<sup>[31]</sup>. 此结果表明菌株 ZQN2 中的确存在亚硝酸盐还原酶,它催化了反硝化反应的进行.

对该 *nirS* 功能基因片段进行测序并利用 MEGA 程序将其与已报道的 *nirS* 基因片段进行了系统发育进化分析,并绘制了系统发育树,如图 6 所示.

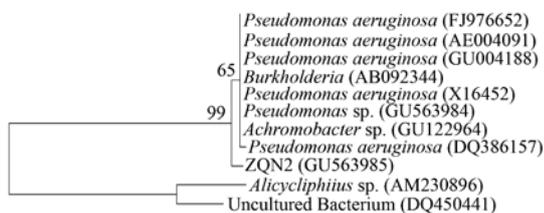


图6 用 NJ 法构建的基于 *nirS* 序列同源性菌株 ZQN2 的系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic neighbor-joining tree based on *nirS* from strain ZQN2

从图 6 中可以看出,菌株 ZQN2 的 *nirS* 序列与多株 *Pseudomonas aeruginosa* 的亲缘关系最接近,同源性达到 99%. 结合菌株 ZQN2 的 16S rRNA 系统发育分析可以看出,基于 *nirS* 基因的系统发育分析与 16S rRNA 的系统发育分析的结果不一致. 另外,

图 6 中的菌株 *Pseudomonas sp.* (GU563984) 是本实验室从同一环境中分离筛选出来的,可知,经 16S rRNA 鉴定为芽胞杆菌属 (*Bacillus sp.*) 的菌株 ZQN2 的 *nirS* 序列却与 *Pseudomonas sp.* 的亲缘关系最接近,进一步证实了 *nirS* 基因的系统发育分析与 16S rRNA 的系统发育分析的结果不一致.

这一结论与 Heylen 等<sup>[32]</sup> 的研究结果不同. 他们发现很多可培养反硝化菌的 *nirS* 基因与 16S rRNA 系统发育关系除个别菌株之外在科、属水平上较为一致,而 *nirK* 与 16S rRNA 的系统发育关系则差别较大,同时还发现同一环境中的 *nirK* 基因常常同源性较高,即不同种属的反硝化菌可能有 100% 的 *nirK* 序列相似性,这很可能是反硝化基因种间水平传递的结果. 因此,他们认为 Nir 功能基因的多样性不能代表亚硝酸盐还原菌的多样性. 图 6 中,蜡状芽胞杆菌 ZQN2 (GU563985) 和假单胞菌 (GU563984),这 2 株从同一环境中筛选出来的经 16S rRNA 鉴定为不同属种的菌株的 *nirS* 基因的同源性却较高,这很可能是反硝化基因种间水平传递的结果.

### 3 结论

(1) 从反硝化培养基中分离得到反硝化除磷菌 ZQN2,结合生理生化结果和 16S rRNA 系统发育分析,将菌株 ZQN2 鉴定为蜡状芽胞杆菌 (*Bacillus cereus*).

(2) 厌氧释磷/缺氧吸磷试验表明,菌株 ZQN2 在厌氧条件下释磷并合成 PHB,在缺氧条件下以  $\text{NO}_3^-$  为电子受体氧化 PHB,进行了同步反硝化除磷,验证了同一株菌能独立完成反硝化吸磷.

(3) 反硝化功能基因的 PCR 扩增结果表明 ZQN2 为 *nirS*<sup>+</sup> 和 *nirK*<sup>-</sup> 型,这从分子生物学角度确认了菌株 ZQN2 具有反硝化功能,但基于 *nirS* 基因的系统发育分析与基于 16S rRNA 的系统发育分析的结果不一致.

#### 参考文献:

- [1] Carvalho G, Lemos P C, Oehmen A, et al. Denitrifying phosphorus removal: linking the process performance with the microbial community structure[J]. Water Research, 2007, 41 (19): 4383-4396.
- [2] 王景峰,金敏,谌自强,等. 1 株好氧脱氮菌的筛选与脱氮特性研究[J]. 环境科学, 2011, 32(8): 2409-2413.
- [3] Van Starckenburg W, Renisink J H, Rijs G B J. Biological P-removal: state of the art in the Netherlands[J]. Water Science and Technology, 1993, 27(5-6): 317-328.

- [ 4 ] Kavanaugh R G, Randall C W. Bacterial populations in a biological nutrient removal plant [ J ]. *Water Science and Technology*, 1994, **29**(7): 25-34.
- [ 5 ] Sorm R, Wanner J, Saltarelli R, *et al.* Verification of anoxic phosphate uptake as the main biochemical mechanism of the “dephanox” process [ J ]. *Water Science and Technology*, 1997, **35**(10): 87-94.
- [ 6 ] Jørgensen K S, Pauli A S L. Polyphosphate accumulation among denitrifying bacteria in activated sludge [ J ]. *Anaerobe*, 1995, **1**(3): 161-168.
- [ 7 ] 马放, 杨菲菲, 李昂, 等. 1 株高效反硝化聚磷菌的生物学特性研究 [ J ]. *环境科学*, 2011, **32**(9): 2710-2715.
- [ 8 ] Oehmen A, Lemos P C, Carvalho G, *et al.* Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale [ J ]. *Water Research*, 2007, **41**(11): 2271-2300.
- [ 9 ] Streichan M, Golecki J R, Schon G. Polyphosphate-accumulating bacteria from sewage plants with different processes for biological phosphorus removal [ J ]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1990, **73**(2): 113-124.
- [ 10 ] 吴蕾, 宋志文, 温少鹏, 等. 生物除磷微生物研究进展 [ J ]. *四川环境*, 2007, **26**(3): 94-98.
- [ 11 ] 罗宁. 双泥生物反硝化吸磷脱氮系统工艺的试验研究 [ D ]. 重庆: 重庆大学, 2003. 99-103.
- [ 12 ] 王春丽, 马放, 王强. 一株耐低温反硝化聚磷菌的筛选及其特性研究 [ J ]. *环境工程学报*, 2007, **1**(4): 21-24.
- [ 13 ] 苏俊峰, 黄廷林, 叶焱婧, 等. 一株反硝化聚磷菌的筛选鉴定及特性研究 [ J ]. *西安建筑科技大学学报 (自然科学版)*, 2009, **41**(4): 580-584.
- [ 14 ] 马放, 杨菲菲, 张倩, 等. 一株高效反硝化聚磷菌的筛选及脱氮除磷效能 [ J ]. *哈尔滨工业大学学报*, 2011, **43**(12): 42-47.
- [ 15 ] 杨志愿, 邱业先, 李孝坤, 等. 几株反硝化聚磷菌的筛选及其生理生化特性的鉴定 [ J ]. *苏州科技学院学报 (自然科学版)*, 2009, **26**(3): 42-48.
- [ 16 ] 吕志堂, 纪翠平, 苏强, 等. 3 株反硝化聚磷菌的分离与鉴定 [ J ]. *环境工程学报*, 2009, **3**(8): 1405-1408.
- [ 17 ] Merzouki M, Delgenès J P, Bernet N, *et al.* Polyphosphate-accumulating and denitrifying bacteria isolated from anaerobic-anoxic and anaerobic-aerobic sequencing batch reactors [ J ]. *Current Microbiology*, 1999, **38**(1): 9-17.
- [ 18 ] 许彦娟, 张利平. 反硝化聚磷菌的分离筛选及鉴定 [ J ]. *河北农业大学学报*, 2008, **31**(3): 60-63.
- [ 19 ] 沈萍, 范秀荣, 李广武. *微生物学实验* [ M ]. (第三版). 北京: 高等教育出版社, 2001. 26-32.
- [ 20 ] 东秀珠, 蔡妙英. *常见细菌系统鉴定手册* [ M ]. 北京: 科学出版社, 2001. 370-398.
- [ 21 ] 国家环境保护总局. *水和废水监测分析方法* [ M ]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 246-250.
- [ 22 ] 由阳, 彭永臻, 王淑莹, 等. 强化生物除磷系统胞内聚合物测定方法优化 [ J ]. *哈尔滨工业大学学报*, 2010, **42**(2): 207-211.
- [ 23 ] Wuyts J, Van de Peer Y, Winkelmann T, *et al.* The European database on small subunit ribosomal RNA [ J ]. *Nucleic Acids Research*, 2002, **30**(1): 183-185.
- [ 24 ] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis Å, *et al.* Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE [ J ]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**(3): 401-417.
- [ 25 ] Braker G, Fesefeldt A, Witzel K P. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(10): 3769-3775.
- [ 26 ] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [ J ]. *Nucleic Acids Research*, 1997, **25**(24): 4876-4882.
- [ 27 ] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [ J ]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, **4**(4): 406-425.
- [ 28 ] Perrière G, Gouy M. WWW-query: an on-line retrieval system for biological sequence banks [ J ]. *Biochimie*, 1996, **78**(5): 364-369.
- [ 29 ] 布坎南 R E, 吉本斯 N E 著, 中国科学院微生物研究所译. *伯杰细菌鉴定手册* [ M ]. (第八版). 北京: 科学出版社, 1984. 729-758.
- [ 30 ] Seviour R J, Mino T, Onuki M. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems [ J ]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, **27**(1): 99-127.
- [ 31 ] Prieme A, Braker G, Tiedje J M. Diversity of nitrite reductase (*nirK* and *nirS*) gene fragments in forested upland and wetland soils [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(4): 1893-1900.
- [ 32 ] Heylen K, Gevers D, Vanparys B, *et al.* The incidence of *nirS* and *nirK* and their genetic heterogeneity in cultivated denitrifiers [ J ]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(11): 2012-2021.

## CONTENTS

Observation of Size Distribution of Atmospheric OC/EC in Tangshan, China .....	GUO Yu-hong, XIN Jin-yuan, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (2497)
Changing Characteristics of the Main Air Pollutants of the Dongling Mountain in Beijing .....	YU Yang-chun, HU Bo, WANG Yue-si (2505)
Characteristic Comparative Study of Particulate Matters in Beijing Before and During the Olympics .....	ZHANG Ju, OUYANG Zhi-yun, MIAO Hong, <i>et al.</i> (2512)
Characteristics and Impact Factors of O <sub>3</sub> Concentrations in Mountain Background Region of East China .....	SU Bin-bin (2519)
Studies on the Size Distribution of Airborne Microbes at Home in Beijing .....	FANG Zhi-guo, SUN Ping, OUYANG Zhi-yun, <i>et al.</i> (2526)
Emission Factors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Residential Coal Combustion and Its Influence Factors .....	HAI Ting-ting, CHEN Ying-jun, WANG Yan, <i>et al.</i> (2533)
Experimental Research on Alcohols, Aldehydes, Aromatic Hydrocarbons and Olefins Emissions from Alcohols Fuelled Vehicles .....	ZHANG Fan, WANG Jian-hai, WANG Xiao-cheng, <i>et al.</i> (2539)
Combination Process of Microwave Desorption-Catalytic Combustion for Toluene Treatment .....	CAO Xiao-qiang, ZHANG Hao, HUANG Xue-min (2546)
Removal of BTEX by a Biotrickling Filter and Analysis of Corresponding Bacterial Communities .....	LI Jian-jun, LIAO Dong-qi, XU Mei-ying, <i>et al.</i> (2552)
Source Profile of Volatile Carbonyl Compounds in Wastewater Treatment Plant of an Oil Refinery .....	ZHOU Bo-yu, LIU Wang, WANG Bo-guang, <i>et al.</i> (2560)
Distribution and Air-Sea Fluxes of Methane in the Yellow Sea and the East China Sea in the Spring .....	CAO Xing-peng, ZHANG Gui-ling, MA Xiao, <i>et al.</i> (2565)
Study on Seasonal Characteristics of Thermal Stratification in Lacustrine Zone of Lake Qiandao .....	DONG Chun-ying, YU Zuo-ming, WU Zhi-xu, <i>et al.</i> (2574)
Effects of Land Use Structure on Water Quality in Xin'anjiang River .....	CAO Fang-fang, LI Xue, WANG Dong, <i>et al.</i> (2582)
Canonical Correspondence Analysis Between Phytoplankton Community and Environmental Factors in Macrophytic Lakes of the Middle and Lower Reaches of Yangtze River .....	MENG Rui, HE Lian-sheng, GUO Long-gen, <i>et al.</i> (2588)
Microbial Bioavailability of Dissolved Nucleic Acids Across the Estuarine Salinity Gradient .....	YANG Qing-qing, LI Peng-hui, HUANG Qing-hui (2597)
Elementary Quantitative Study on Factors of Phytoplankton Bloom .....	ZHANG Zhuo, SONG Zhi-yao, HUANG Chang-chun, <i>et al.</i> (2603)
Spatiotemporal Succession of Algae Functional Groups and the Influence of Environment Change in a Deep-water Reservoir .....	LU Jin-suo, HU Ya-pan (2611)
Hyperspectral Remote Sensing of Total Suspended Matter Concentrations in Lake Taihu Based on Water Optical Classification .....	ZHOU Xiao-yu, SUN De-yong, LI Yun-mei, <i>et al.</i> (2618)
Application of Subwet Model in the Design of Constructed Wetland .....	LI Hui-feng, HUANG Jin-hui, LIN Chao (2628)
Allelopathic Effect of <i>Nelumbo nucifera</i> Stem and Leaf Tissue Extract on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i> and <i>Scenedesmus quadricauda</i> .....	HE Lian-sheng, MENG Fan-li, DIAO Xiao-jun, <i>et al.</i> (2637)
Influence of <i>Vallisneria spiralis</i> on the Physicochemical Properties of Black-odor Sediment in Urban Sluggish River .....	XU Kuan, LIU Bo, WANG Guo-xiang, <i>et al.</i> (2642)
Removal of Cr(VI) by Iron Filings with Microorganisms to Recover Iron Reactivity .....	TANG Jie, WANG Zhuo-xing, XU Xin-hua (2650)
Degradation of Phenol with a Fe/Cu-Catalytic Heterogeneous-Fenton Process .....	YANG Yue-zhu, LI Yu-ping, YANG Dao-wu, <i>et al.</i> (2658)
Effect of Different Forms of Inorganic Nitrogen on the Photodegradation of Antipyrine in Water .....	ZHAO Qian, CHEN Chao, FENG Li, <i>et al.</i> (2665)
Degradation Mechanisms of Dimethyl Phthalate in the UV-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> System .....	LIU Qing, CHEN Cheng, CHEN Hong-zhe, <i>et al.</i> (2670)
Adsorption of Cd <sup>2+</sup> Ions in Aqueous by Diamine-Modified Ordered Mesoporous SBA-15 Particles .....	ZHANG Meng, YANG Ya-ti, QIN Rui, <i>et al.</i> (2677)
Surface Organic Modification of Acid Vermiculite and Its Adsorption of Hydrophobic Micro Pollutants in Aqueous Solutions .....	JIANG Zheng-ming, YU Xu-biao, HU Yu, <i>et al.</i> (2686)
Preparation of Porous Ceramics Based on Waste Ceramics and Its Ni <sup>2+</sup> Adsorption Characteristics .....	ZHANG Yong-li, WANG Cheng-zhi, SHI Ce, <i>et al.</i> (2694)
Perchlorate Removal from Underground Water by Anaerobic Biological Reduction with Bark .....	WANG Rui, LIU Fei, CHEN Nan, <i>et al.</i> (2704)
Experimental Study on the Remediation of Chromium Contaminated Groundwater with PRB Media .....	ZHU Wen-hui, DONG Liang-fei, WANG Xing-run, <i>et al.</i> (2711)
Removal of Calcium and High-strength Ammonia Nitrogen from the Wastewater of Rare-earth Elements Hydrometallurgical Process by Chemical Precipitation .....	WANG Hao, CHENG Guan-wen, SONG Xiao-wei, <i>et al.</i> (2718)
Leaching Kinetics of Josephinite Tailings with Sulfuric Acid .....	CHEN An-an, ZHOU Shao-qi, HUANG Peng-fei (2729)
Effects of HRT on Fate of Typical Polycyclic Musk by A <sup>2</sup> O Process .....	LIU Peng-cheng, HUANG Man-hong, CHEN Dong-hui, <i>et al.</i> (2735)
Kinetic Simulation of Enhanced Biological Phosphorus Removal with Fermentation Broth as Carbon Source .....	ZHANG Chao, CHEN Yin-guang (2741)
Effluent Carbon Source Improvement and Sludge Reduction by Hydrolysis Reactor with Enhanced Sludge Utilization .....	XIONG Ya, WANG Qiang, SONG Ying-hao, <i>et al.</i> (2748)
Optimization of Extracellular Polymeric Substance Extraction Method and Its Role in the Dewaterability of Sludge .....	ZHOU Jun, ZHOU Li-xiang, WONG Woo-chung (2752)
Effectiveness of Arsenite Adsorption by Ferric and Alum Water Treatment Residuals with Different Grain Sizes .....	LIN Lu, XU Jia-rui, WU Hao, <i>et al.</i> (2758)
Regional Differences and Development Tendency of Livestock Manure Pollution in China .....	QIU Huan-guang, LIAO Shao-pan, JING Yue, <i>et al.</i> (2766)
Quantitative Partitioning of Soil Selenium in the Selenium-Rich Area of Northern Zhejiang Plain .....	XU Ming-xing, PAN Wei-feng, CENG Jing, <i>et al.</i> (2775)
Effects of Land Use on Manganese Distribution and Fractions in Wetland Soil of Sanjiang Plain, Northeast China .....	ZHANG Zhong-sheng, LU Xian-guo, SONG Xiao-lin (2782)
Research on Vertical Distribution Pattern and Reserve of Organic Carbon in Paddy Field Soil of Qiangou, Jilin .....	TANG Jie, ZHANG Wen-hui, LI Zhao-yang, <i>et al.</i> (2788)
Soil Organic Carbon Sequestration Rate and Its Influencing Factors in Farmland of Guanzhong Plain; A Case Study in Wugong County, Shanxi Province .....	ZHANG Xiao-wei, XU Ming-xiang (2793)
Effects of Biological Regulated Measures on Active Organic Carbon and Erosion-Resistance in the Three Gorges Reservoir Region Soil .....	HUANG Ru, HUANG Lin, HE Bing-hui, <i>et al.</i> (2800)
Quantifying Soil Autotrophic Microbes-Assimilated Carbon Input into Soil Organic Carbon Pools Following Continuous <sup>14</sup> C Labeling .....	SHI Ran, CHEN Xiao-juan, WU Xiao-hong, <i>et al.</i> (2809)
Analysis of Soil Respiration and Influence Factors in Wheat Farmland Under Conservation Tillage in Southwest Hilly Region .....	ZHANG Sai, ZHANG Xiao-yu, WANG Long-chang, <i>et al.</i> (2815)
Distribution Characteristics and Risk Evaluation of Organochlorine Pesticides in Soil from Relocation Areas of the Danjiangkou Reservoir .....	LI Zi-cheng, QIN Yan-wen, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2821)
Risk Assessment and Countermeasure of BTEX in Pesticide Factory .....	PANG Bo, WANG Tie-yu, DU Li-yu, <i>et al.</i> (2829)
Accumulation of S, Fe and Cd in Rhizosphere of Rice and Their Uptake in Rice with Different Water Managements .....	ZHANG Xue-xia, ZHANG Xiao-xia, ZHENG Yu-ji, <i>et al.</i> (2837)
Effects of Nitrate on Organic Removal and Microbial Community Structure in the Sediments .....	LIU Jin, DENG Dai-yong, SUN Guo-ping, <i>et al.</i> (2847)
Zero-Valent Iron-Enhanced Azoreduction by the <i>Shewanella decolorationis</i> S12 .....	ZHOU Qing, CHEN Xing-juan, GUO Jun, <i>et al.</i> (2855)
Isolation, Identification of Two Aerobic Denitrifiers and Bioaugmentation for Enhancing Denitrification of Biofilm Under Oligotrophic Conditions .....	QUAN Xiang-chun, CEN Yan, QIAN Yin (2862)
Rapid Enrichment and Cultivation of Denitrifying Phosphate-Removal Bacteria and Its Identification by Fluorescence <i>in situ</i> Hybridization Technology .....	LIU Li, TANG Bing, HUANG Shao-song, <i>et al.</i> (2869)
Identification of a Denitrifying Polyphosphate-accumulating Organism (DPAO) and Study on Its Denitrifying Functional Genes .....	ZHANG Qian, WANG Hong-yu, SANG Wen-jiao, <i>et al.</i> (2876)
Isolation and Characterization of a Highly Efficient BBP-degrading Bacterium .....	CHEN Hu-xing, YANG Xue, ZHANG Kai, <i>et al.</i> (2882)
Degradation of Nicosulfuron by Combination Effects of Microorganisms and Chemical Hydrolysis .....	ZHANG Xiao-lin, LI Yong-mei, YUAN Zhi-wen (2889)
Isolation, Screening and Identification of Prometryne-Degrading Bacteria and Their Degrading Characteristics .....	ZHOU Ji-hai, SUN Xiang-wu, HU Feng, <i>et al.</i> (2894)
Preparation of PVA-SA-PHB-AC Composite Carrier and <i>m</i> -Cresol Biodegradation by Immobilized <i>Lysinibacillus cresolivorans</i> .....	LI Ting, REN Yuan, WEI Chao-hai (2899)
Extraction of Surface Active Substance and Analysis of Demulsifying Characteristics for the Demulsifying Strain <i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1 .....	HUANG Xiang-feng, ZHANG Shu-cong, PENG Kai-ming, <i>et al.</i> (2906)
Diversity of Culturable Filamentous Bacteria in the Activated Sludge from A <sup>2</sup> O Wastewater Treatment Process .....	GAO Sha, JIN De-cai, ZHAO Zhi-rui, <i>et al.</i> (2912)
Composition and Transformation of Leachates During Municipal Solid Waste Composting .....	LI Dan, HE Xiao-song, XI Bei-dou, <i>et al.</i> (2918)

# 《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7月15日 34卷 第7期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 7 Jul. 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