

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, 刘芄, 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, 王建海, 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气交换通量	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 (<i>Vallisneria spiralis</i>) 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, 曹勋, 周峰 (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 ₂ O ₂ 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 ²⁺ 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 ²⁺ 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 ² 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直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: ¹⁴ 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	庞博, 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, 桑穗姣, 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, 孙向武, 胡锋, 李辉信 (2894)
固定化 <i>Lysinibacillus cresolovorans</i> 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 <i>Alcaligenes</i> 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, 彭开彰, 陆丽君, 刘佳 (2906)
A ² 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, 彭霞薇, 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)	

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^{1,2,3}, 孙向武¹, 胡锋³, 李辉信^{3*}

(1. 常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164; 2. 中国科学院土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008; 3. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要: 从安徽农药厂废水处理系统的活性污泥中筛选扑草净 (prometryne) 降解菌。通过富集驯化和选择性培养筛选纯化细菌, 分离到2株细菌, 分别命名为 P-1、P-2。根据表型特征、生理生化特性和16S rDNA 序列同源性分析: P-1 为 G⁻, 鉴定为苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*); P-2 为 G⁺, 鉴定为芽胞杆菌属 (*Bacillus*)。GenBank 登录号分别为 HM004554 和 HM004555。通过12 d 液体降解实验, 菌株 P-1、P-2 对 40 mg·L⁻¹ 扑草净降解率分别达到 46.5% 和 65.4%。该研究为扑草净的生物降解与污染土壤的生物修复提供了依据。

关键词: 扑草净; 微生物降解; 鉴定; 苍白杆菌属; 芽胞杆菌属

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)07-2894-05

Isolation, Screening and Identification of Prometryne-Degrading Bacteria and Their Degrading Characteristics

ZHOU Ji-hai^{1,2,3}, SUN Xiang-wu¹, HU Feng³, LI Hui-xin³

(1. School of Environmental & Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The purpose of this study was to develop some bacterial strains that could degrade prometryne effectively. Bacteria were screened and purified from sediments of a pesticide plant with the method of domestication with gradient concentrations. Two strains were isolated and named P-1 and P-2, respectively. According to their morphology, physiological, biochemical properties and the analysis of their 16S rRNA gene sequences, the strain P-1 is Gram negative and identified as *Ochrobactrum*; the strain P-2 is Gram positive and identified as *Bacillus*. GenBank Accession numbers are HM004554 and HM004555, respectively. Degradation rates of the strains P-1 and P-2 for prometryne concentration with 40 mg·L⁻¹ were 46.5% and 65.4% after 12 days in the liquid culture experiment, respectively. This study provides an essential material and theoretical foundation for the remediation of prometryne contaminated soils.

Key words: prometryne; biodegradation; identification; *Ochrobactrum*; *Bacillus*

扑草净 (prometryne) 是一种三嗪类 (均三氮苯类, 1,3,5-triazine) 低毒、高选择的内吸性除草剂, 化学名称是 2-甲硫基-4, 6-双异丙胺基-均三氮苯 [2-methylmercapto- 4, 6-bis (isopropylamino) -S-triazine], 水中溶解度为 48 mg·L⁻¹[1]。这类化合物有类似于苯环的结构, 具有较高的沸点, 化学性质稳定, 能够长期存在于环境和作物中, 半衰期 1~3 个月, 在施用多年的田间可稳定存在 12~18 个月[2, 3]。主要用于防除小麦、棉花、水稻、蔬菜等作物的田间宽叶绿色杂草, 在我国玉米田中使用最多, 植物自身对扑草净去除或降解十分缓慢, 植物对阿特拉津的酶促脱毒方式不能降解扑草净, 且扑草净会抑制植物分泌释放的脱卤酶、硝酸还原酶、漆酶、过氧化物酶和胍水解酶等的活性[4, 5]。目前, 利用微生物进行生物降解已成为消除除草剂对环境污染的一个重要手段。微生物常以两种方式降解除草

剂, 一种方式是以除草剂作为生长的唯一碳源和能源, 有时还可作为唯一氮源而使其降解[6~10]; 另一种方式是通过共代谢作用, 即微生物从其它化合物获得碳源和能源后, 使除草剂转化甚至完全降解[8~10]。近十几年来, 三嗪类除草剂由于地表径流, 造成地表水污染等环境污染, 并对人类、动植物和水生生物造成不利影响。因此, 世界各主要农业大国都对粮谷中三嗪类除草剂残留制定了严格的限量标准[11]。

选取典型的均三嗪类除草剂扑草净作为研究对

收稿日期: 2012-10-11; 修订日期: 2012-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41271270); 中国科学院土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金项目 (0812201236); 常州市基础 Research 计划项目 (20120026); 常州大学科研启动基金项目 (ZMF1102070)

作者简介: 周际海 (1973~), 男, 博士, 主要研究方向为土壤微生物及污染修复, E-mail: zhoujihai2006@163.com

* 通讯联系人, E-mail: huixinli@njau.edu.cn

象,在农药厂活性污泥筛选到 2 株高效降解菌,命名为 P-1 和 P-2. 本研究对菌株 P-1 和 P-2 进行了鉴定,并对其在液体培养基中降解扑草净的特性进行了初步分析.

1 材料与方法

1.1 培养基

无机盐培养基 (MSM, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 1.00, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.00, K_2HPO_4 1.50, KH_2PO_4 0.50, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.30, pH 7.2; 视需要添加不同浓度的扑草净,作为 MSM 富集培养基. 往 1/10 LB 培养基添加扑草净至 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后作为分离培养基使用.

1.2 扑草净降解菌的富集、分离和纯化

取安徽农药厂废水处理系统的活性污泥 (Sludge) 5 g, 加入到含扑草净 ($20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 100 mL MSM 富集培养基的锥形瓶 (250 mL) 中, 于 30°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 进行富集培养, 每隔 7 d 取培养物转接到新鲜富集培养基中, 并逐步提高扑草净浓度到 40、60、80、 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 转接量为 5%. 通过观察粉末的消失与否判断扑草净的降解程度. 连续驯化传代 5 次后, 取 1 mL 富集液进行梯度稀释, 分别取 $100\text{ }\mu\text{L}$ $10^{-5}\sim 10^{-8}$ 稀释倍数的稀释液, 涂布于添加扑草净 ($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 MSM 平板上, 置于 30°C 恒温培养箱中培养 7 d. 挑取单菌落, 连续划线纯化培养 3 次, 得到纯化菌株 2 株, 分别命名为 P-1、P-2. 用 1/10 LB 培养基 (添加 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 扑草净), 30°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养 24 h 后用 30% 甘油保种 (-70°C 保藏), 作为备用菌株.

1.3 菌株降解效果的检测

1.3.1 种子液的制备

将纯化菌株 P-1、P-2 用 1/10 LB 液体培养基 (含 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 扑草净)、 30°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床扩大培养 24 h, 离心后去上清, 用灭菌水洗涤后重悬、离心, 连续洗涤 2 次, 制成种子液 ($\sim 10^{10}\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$) 备用.

1.3.2 扑草净的液体降解实验

吸取 1 mL 上述种子液及 1 g 农药厂活性污泥 (Sludge) 接种于加有 99 mL 已灭菌的含 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 扑草净的无机盐液体培养基的三角瓶 (150 mL) 中, 并设对照处理 (Control), 即不接种任何外源微生物, 30°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床连续培养 12 d. 于第 0、8、24、48、102、168、288 h 采样, 每次采样每个处理设 3 个重复.

1.3.3 残留扑草净浓度及菌体生长量 D_{600} 的测定

取培养液 1 mL, $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液过滤膜 ($0.45\text{ }\mu\text{m}$) 得上样液, 用 HPLC (日本岛津 SPD-20A) 检测^[12], 测定降解效果. 检测条件: $250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$ C18 不锈钢色谱柱; 流动相为甲醇/水 (90:10, 体积比); 流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温: 30°C ; 紫外检测器, 检测波长为 254 nm; 进样量 20 μL .

通过检测培养液在 600 nm 的光密度值 (D_{600}) 来表征降解菌的生长量变化.

1.4 降解菌鉴定

菌株的形态、生理生化特性鉴定参照细菌鉴定手册^[13]进行试验. 菌体基因组 DNA 的提取采用高盐法^[14]. 菌株的 16S rDNA 克隆和序列测定与比较; 以 P-1、P-2 的总 DNA 作模板, 利用 16S rDNA 的通用引物: 正向引物 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3' (*E. coli* 27F); 反向引物 5'-TAC CTT GTT ACG ACT T-3' (*E. coli* 1492R), 进行 50 μL 的 PCR 反应. 回收 PCR 产物, 酶连到 T 载体上, 克隆后进行测序^[15, 16]. 测序由上海英骏生物技术有限公司完成. 将测序结果与 GenBank 及其 RDP 上的相应 16S rDNA 序列进行同源性比对分析, 从 NCBI 数据库中将待测菌株同源性近的模式菌株 16S rDNA 序列下载, 采用 MEGA 等软件进行系统进化分析, 构建系统进化树.

2 结果与分析

2.1 降解菌的筛选及降解特性研究

通过富集、筛选和纯化, 分离得到能在扑草净 MSM 上生长的 2 株细菌, 这 2 株菌在 30°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床液体培养条件下对 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 扑草净有不同程度的降解作用, 菌株 P-2 对扑草净的降解率较高 (图 1). 和对照处理 (Control) 及添加活性污泥处理 (Sludge) 相比 (图 1), 菌株 P-1 和 P-2 经 12 d 的液体培养, 能明显降低 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 扑草净的残留量, 12 d 后降解率分别达到 46.5% 和 65.4%. 2 株细菌 P-1 和 P-2 在最初 2 d 内降解扑草净的速度相对较快, 降解率分别为 16.0% 和 13.8%; 2~12 d 之间, 菌株 P-1 和 P-2 对扑草净的降解速率加快, 其中菌株 P-2 对扑草净的降解速率显著高于菌株 P-1 对扑草净的降解速率, 7 d 内菌株 P-2 对扑草净的降解率达到 64.0%; 而菌株 P-1 到约第 7 d 时对扑草净的降解率为 35.4%. 同时, 在扑草净的降解过程中, 培养液的 D_{600} 也随着扑草净的降解而增加 (图 1), 表明菌株 P-1 和 P-2 在降解扑草净的同时, 能够

利用扑草净作为碳源生长.

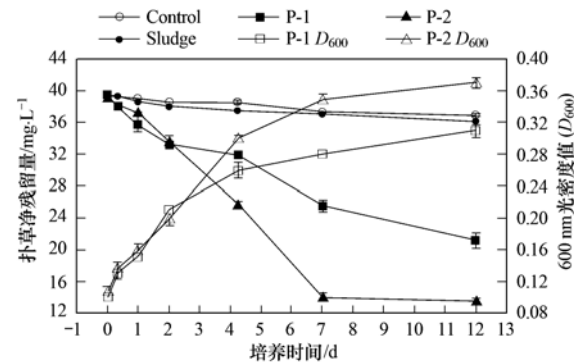


图1 12 d 内菌 P-1 和 P-2 对扑草净的降解及生长情况
Fig. 1 Prometryne degradation by strains P-1 and P-2 and their growth within 12 days

2.2 降解菌 P-1 和 P-2 的鉴定

菌 P-1 是具平行边和圆端的杆菌;在营养琼脂上的菌落白色(无色)半透明,黏液状[图 2 (a)];革兰氏反应阴性,接触酶、尿素、硝酸盐(产气)、淀粉、葡萄糖、乳糖、卫矛醇及山梨醇反应为阳性,硫化氢、明胶反应为阴性. P-2 菌体杆状,成短链或长链,产芽孢;在普通琼脂平板培养基上,30℃ 培养 24 h,可形成圆形或近圆形、无色素、稍有光泽的白色菌落(似蜡样颜色),边缘不规则,直径 3~5 mm[图 2 (b)];革兰氏反应阳性,接触酶、尿素、明胶、葡萄糖反应为阳性,硫化氢、硝酸盐(产气)、淀粉、乳糖、卫矛醇、山梨醇反应为阴性.

以菌株 P-1 和 P-2 的基因组 DNA 为模板,用细菌 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增,得到长度约为 1.5 kb 的扩增产物. 测序后在 GenBank 上登录,登录号分别为 HM004554 和 HM004555. 将菌株 P-1 和 P-2 的 16S rDNA 序列用 BLAST 程序和 GenBank

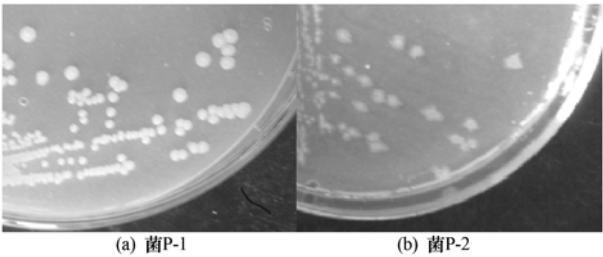


图2 菌 P-1、P-2 菌落生长形态
Fig. 2 Growth morphology of P-1 and P-2

中已登录的 16S rDNA 序列进行序列同源性比较,结果表明菌株 P-1 的 16S rDNA 序列与苍白杆菌属细菌同源性最高(同源性最高的模式菌株前 13 位均为苍白杆菌属),其中与模式菌株 *Ochrobactrum intermedium* LMG 3301 (T) 的 16S rDNA 序列相似性为 99.7%,与 *Ochrobactrum ciceri* Ca-34 (T) 的 16S rDNA 序列相似性为 99.1%,与其它属细菌模式菌株的同源性均在 95% 以下;并且在系统发育树上,菌株 P-1 与 *Ochrobactrum* 属各种的模式菌株很好地聚类在一起(图 3),结合形态及生理生化特征鉴定结果(图 2),将 P-1 鉴定为苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)^[17, 18];菌株 P-2 的 16S rDNA 序列与芽胞杆菌属细菌同源性最高(同源性最高的模式菌株前 70 位均为芽胞杆菌属),其中与模式菌株 *Bacillus anthracis* ATCC 14578 (T) 的 16S rDNA 序列相似性为 99.9%,与 *Bacillus gaemokensis* BL3-6 KCTC 13318 (T) 的 16S rDNA 序列相似性为 99.5%,与非芽胞杆菌属细菌模式菌株的同源性均在 93% 以下;并且在系统发育树上,菌株 P-2 与 *Ochrobactrum* 属各种的模式菌株很好地聚类在一起(图 4),结合形态及生理生化特征鉴定结果(图 2),将 P-2 鉴定为芽胞杆菌属(*Bacillus*)^[19].

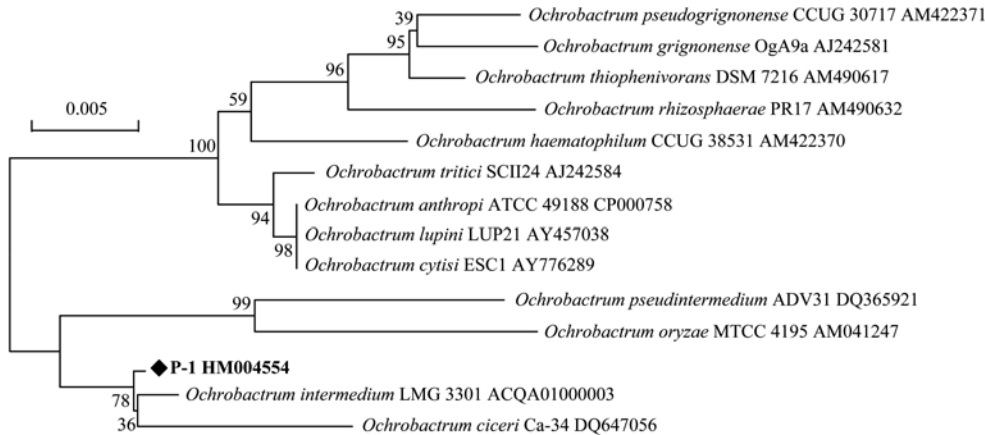


图3 P-1 菌株基于 16S rDNA 基因序列同源性的系统发育树
Fig. 3 16S rDNA phylogenic analysis of strain P-1 with related 16S rDNA sequences in GenBank

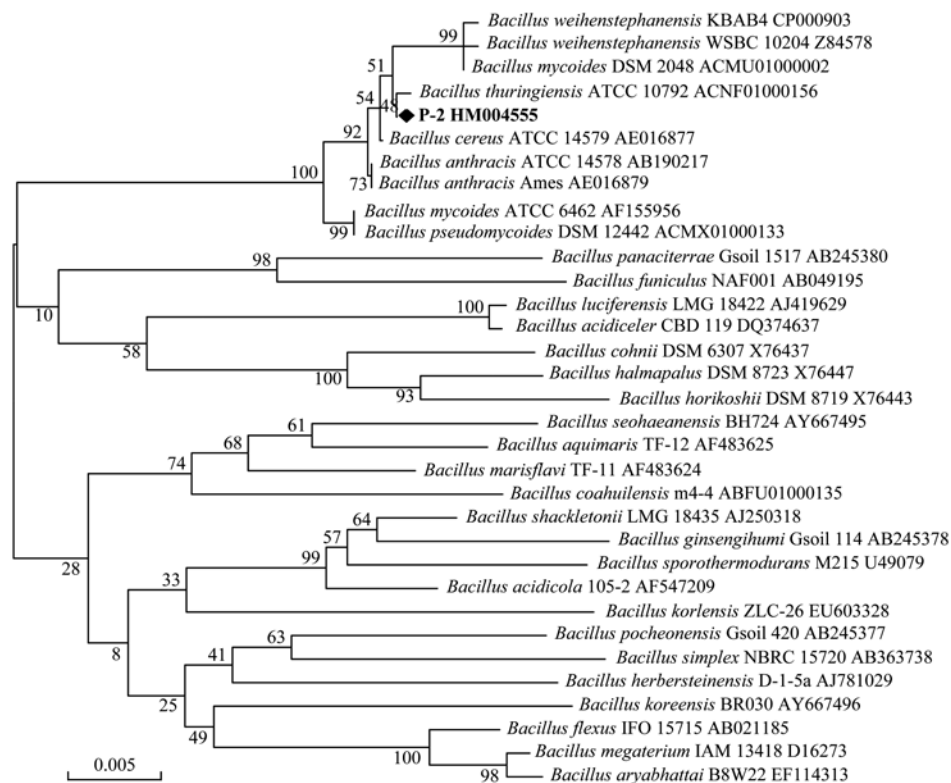


图4 P-2菌株基于16S rDNA序列同源性的系统发育树

Fig. 4 16S rDNA phylogenetic analysis of strain P-2 with related 16S rDNA sequences in GenBank

3 讨论

扑草净在土壤中的长期残留所造成的环境问题越来越引起关注,但目前主要集中在环境中扑草净的残留分析方面^[12, 20, 21],而关于扑草净的降解却少有研究^[22~24].从环境介质如污染土壤、工业废水中筛选具有特定降解功能的微生物菌株已有广泛报道^[25~27],本研究也利用农药厂废水处理系统的活性污泥分离得到降解扑草净的苍白杆菌属和芽胞杆菌属细菌.已有苍白杆菌属和芽胞杆菌属降解其它有机污染物的报道^[28~31],但其对扑草净降解的报道尚属首次.

本研究中得到的菌株P-1及P-2在液体培养基中对扑草净的降解速率不同,主要原因可归结于菌株P-1和P-2有着不同的生理和代谢特性.研究表明微生物难以利用疏水性有机物,疏水性越强,越不易溶于水,也越难被微生物所利用^[32].菌株P-1、P-2对扑草净的降解可能是因为产生了生物表面活性剂使得扑草净的辛醇-水分配系数降低,在水中的溶解度增加,并且使得扑草净更容易通过细胞膜进入微生物体内,然后进一步被分解代谢.另一个原因可能是菌株P-1、P-2含有双加氧酶基因,可产生大

量的双加氧酶,将扑草净不断氧化开环从而获得生长所需的碳源和能源.此外,微生物在高浓度毒性底物培养基中生长时,环境条件逐渐促使菌株的某一休眠基因由于长时间的代谢活动刺激而恢复活性,从而产生更多的降解酶,从而提高了降解效果^[33].颜慧等^[23]也报道了假单胞菌属细菌FR对扑草净的降解率可达60%~70%左右,高于或接近本研究分离到的菌株对扑草净的降解率,出现差异的原因可归结于菌株类型不同及实验控制条件的差别,其降解扑草净机制还有待进一步深入研究.

4 结论

从安徽农药厂废水处理系统活性污泥中分离到2株可以利用扑草净为唯一碳源和能源生长的细菌P-1和P-2,经鉴定分别为苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)和芽胞杆菌属(*Bacillus*).在GenBank上申请登录号分别为HM004554和HM004555.菌株P-1、P-2在扑草净底物浓度为40 mg·L⁻¹的液体培养过程中,12 d的扑草净降解率分别达到46.5%和65.4%.

参考文献:

- [1] 林郁. 农药应用大全[M]. 北京: 农业出版社, 1989. 698.
- [2] US Food and Drug Administration. Environmental Fate Branch

- surveillance index profile; prometryn [R]. Washington DC: Hazard Evaluation Division, 1983.
- [3] US Environmental Protection Agency. Guidance for the reregistration of pesticide products containing prometryn as the active ingredient[R]. Washington DC, 1987.
- [4] 唐除痴, 李煜昶, 陈彬, 等. 农药化学[M]. 天津: 南开大学出版社, 1998. 481.
- [5] 信欣, 蔡鹤生. 农药污染土壤的植物修复研究[J]. 植物保护, 2004, **30**(1): 8-11.
- [6] Anderson S M, Hertz P B, Holst T, *et al.* Mineralisation studies of ^{14}C -lablled met sulfuron-methyl, tribenuron-methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron-methyl in one Danish soil and groundwater sediment profile[J]. Chemosphere, 2001, **45**(6-7): 775-782.
- [7] Zanardini E, Arnoldi A, Boschin G, *et al.* Microbial degradation of sulfonylurea herbicides: chlorsulfuron and metsulfuron-methyl [C]. Microbiology of Composting, 2002. 309-322.
- [8] 郎印海, 蒋新, 赵其国, 等. 土壤中磺酰脲除草剂降解机制研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2003, **11**(1): 98-101.
- [9] 卫亚红, 张晓燕, 曲东. 2, 4-D 除草剂降解菌的分离及其生物学特性的研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(6): 2183-2188.
- [10] 倪盈盈, 郑金伟, 张隽, 等. 氯代酰胺类除草剂降解菌的分离及降解性能[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17**(5): 711-716.
- [11] 林维宣. 各国食品中农药兽药残留限量规定[M]. 大连: 大连海事大学出版社, 2002.
- [12] Zhou J H, Chen J D, Cheng Y H, *et al.* Determination of prometryne in water and soil by HPLC-UV using cloud-point extraction[J]. Talanta, 2009, **79**(2): 189-193.
- [13] 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. 370-410.
- [14] Guillemaut P, Maréchal-Drouard L. Isolation of plant DNA: a fast, inexpensive, and reliable method [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1992, **10**(1): 60-65.
- [15] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. (2nd ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [16] 谢文娟, 王洁, 孙珮石, 等. 高效降解甲醛菌株的分离鉴定及其特性[J]. 微生物学通报, 2011, **38**(11): 1626-1631.
- [17] Holmes B, Popoff M, Kiredjian M, *et al.* *Ochrobactrum anthropi* gen. nov., sp. nov. from human clinical specimens and previously known as group Vd [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1988, **38**(4): 406-416.
- [18] Imran A, Hafeez F Y, Fruhling A, *et al.* *Ochrobactrum ciceri* sp. nov., isolated from nodules of *Cicer arietinum* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, **60**(7): 1548-1553.
- [19] Didari M, Amoozegar M A, Bagheri M, *et al.* *Bacillus persicus* sp. nov., a halophilic bacterium from a hypersaline Iranian lake [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, doi: 10.1099/ijs. 0.042689-0.
- [20] 徐溢, 付钰洁, 张晓凤, 等. 自制 PEG-20M 固相微萃取装置分离分析蔬菜中残留扑草净[J]. 分析测试学报, 2006, **25**(4): 71-73, 77.
- [21] 张敬波, 董振霖, 赵守成, 等. 气相色谱-质谱联用法检测玉米中 21 种三嗪除草剂残留量[J]. 质谱学报, 2006, **27**(3): 148-154.
- [22] 李军红, 颜慧, 刘宪华, 等. 降解均三嗪类除草剂的优势菌的特性研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2001, **34**(1): 58-61.
- [23] 颜慧, 李军红, 宋文华, 等. 扑草净降解菌降解特性、降解基因保守序列的扩增及同源性分析[J]. 城市环境与城市生态, 2002, **15**(4): 61-63.
- [24] 颜慧, 冯炘, 李军红, 等. 扑草净降解酶的固定化及其对受污染土壤的生物强化研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2003, **36**(2): 109-115.
- [25] 刘芳, 梁金松, 孙英, 等. 高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(6): 1799-1804.
- [26] 刘海滨, 王翠苹, 张志远, 等. 苯并[a]芘高效降解菌筛选及其降解特性研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(9): 2696-2702.
- [27] 陈春, 李文英, 吴静文, 等. 焦化废水中苯酚降解菌筛选及其降解性能[J]. 环境科学, 2012, **33**(5): 1652-1656.
- [28] Dürr R, Neumann A, Vielhauer O, *et al.* Genes responsible for hydantoin degradation of a halophilic *Ochrobactrum* sp. G21 and *Delftia* sp. I24-New insight into relation of d-hydantoinases and dihydropyrimidinases [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2008, **52-53**: 2-12.
- [29] Kılıç N K. Enhancement of phenol biodegradation by *Ochrobactrum* sp. isolated from industrial wastewaters [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2009, **63**(6): 778-781.
- [30] Matafonova G, Shirapova G, Zimmer C, *et al.* Degradation of 2, 4-dichlorophenol by *Bacillus* sp. isolated from an aeration pond in the Baikalsk pulp and paper mill (Russia) [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2006, **58**(3-4): 209-212.
- [31] Wu Y R, He T T, Zhong M Q, *et al.* Isolation of marine benzo[a]pyrene-degrading *Ochrobactrum* sp. BAP5 and proteins characterization[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, **21**(10): 1446-1451.
- [32] Bordoloi N K, Konwar B K. Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **170**(1): 495-505.
- [33] 谢文娟, 林爱军, 杨晓进, 等. 一株降解芘的苍白杆菌的分离、鉴定及性能表征[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2011, **38**(3): 76-80.

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 ₃ 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 Macrophtic 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 ₂ O ₂ System	LIU Qing, CHEN Cheng, CHEN Hong-zhe, <i>et al.</i> (2670)
Adsorption of Cd ²⁺ 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 Yun, <i>et al.</i> (2686)
Preparation of Porous Ceramics Based on Waste Ceramics and Its Ni ²⁺ 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 ² 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 Qianguo, 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 ¹⁴ 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 ² 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