

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第11期

Vol.34 No.11

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

北京不同污染事件期间气溶胶光学特性	施禅臻, 于兴娜, 周斌, 项磊, 聂皓浩 (4139)
秋季渤海、北黄海大气气溶胶中水溶性离子组成特性与来源分析	张岩, 张洪海, 杨桂朋 (4146)
中国北部湾地区夏季大气碳气溶胶的空间分布特征	杨毅红, 陶俊, 高健, 李雄, 施展, 韩保新, 谢文彰, 曹军骥 (4152)
改进的大气 CO ₂ 、CH ₄ 、N ₂ O、CO 在线观测 FTIR 系统	夏玲君, 刘立新, 周凌晔, 方双喜, 王红阳, 张振波 (4159)
长沙市郊大气 CH ₄ 浓度变化特征	刘鲁宁, 王迎红, 徐小娟, 王卫东, 王跃思 (4165)
麦草及其烟尘中正构烷烃的组成	刘刚, 李久海, 徐慧, 吴丹 (4171)
过二硫酸盐降解碱液吸收的甲硫醇恶臭	杨世迎, 王雷雷, 冯琳玉, 赵腊娟, 石超 (4178)
污泥堆肥及其土地利用全过程的温室气体与氨气排放特征	钟佳, 魏源送, 赵振凤, 应梅娟, 周国胜, 熊建军, 刘培财, 葛振, 丁刚强 (4186)
长江口沿岸及近海水体中胶体的分布和理化性质研究	顾丽军, 杨毅, 刘敏, 聂明华, 李涛, 侯立军 (4195)
海河流域主要河口区域沉积物中重金属空间分异及生态风险评价	吕书丛, 张洪, 单保庆, 李立青 (4204)
汾河流域太原段河水及沉积物中 PFOS 和 PFOA 的浓度分布特征	东口朋宽, 史江红, 张晖, 刘晓薇 (4211)
基于 L-THIA 模型的市桥河流域非点源氮磷负荷分析	李凯, 曾凡棠, 房怀阳, 林澍 (4218)
合流制排水系统雨天溢流污染 CMB 法源解析	戴梅红, 李田, 张伟 (4226)
微藻脂肪酸在中国近海缺氧海水-沉积物界面中的降解模拟研究	随伟伟, 丁海兵, 杨桂朋, 陆小兰, 李文娟, 孙立群 (4231)
太湖两种水生植物群落对沉积物中氮素的影响	马久远, 王国祥, 李振国, 许宽, 周锋, 张佳 (4240)
表面流人工湿地中硫丹的去除规律研究	秦晶, 高甫威, 谢慧君 (4251)
带菌盐藻对不同形态砷的富集和转化研究	王亚, 张春华, 王淑, 申连玉, 葛滢 (4257)
铜改性沸石活性覆盖控制重污染河道底泥溶解性磷酸盐和铵释放研究	李佳, 林建伟, 詹艳慧 (4266)
底栖动物扰动对河床渗透性的影响研究	任朝亮, 宋进喜, 杨小刚, 薛健 (4275)
铜绿微囊藻胞内物消毒副产物生成: 氯化化和溴化比较	田川, 郭婷婷, 刘锐平, William Jefferson, 刘会娟, 曲久辉 (4282)
天然有机物对混凝效果影响机制及絮体特性分析	徐磊, 俞文正, 梁亮, 王彤 (4290)
DOM 纳滤膜污染及对膜截留卡马西平性能的影响	丰桂珍, 董秉直 (4295)
零价铁去除废水中的汞	周欣, 张进忠, 邱昕凯, 王定勇 (4304)
Fe ₃ O ₄ 稳定化纳米 Pd/Fe 对水中 2,4-D 的催化还原脱氯研究	周红艺, 梁思, 曾思思, 雷双健 (4311)
不同粒径粉末活性炭对水中天然有机物吸附性能的比较研究	李政剑, 石宝友, 王东升 (4319)
氯化十六烷基吡啶改性活性炭对水中硝酸盐的吸附作用	郑雯婧, 林建伟, 詹艳慧, 方巧, 杨孟娟, 王虹 (4325)
改性石墨烯对水中亚甲基蓝的吸附性能研究	吴艳, 罗汉金, 王侯, 张子龙, 王灿, 王雨微 (4333)
经典等温吸附模型在重金属离子/硅藻土体系中的应用及存在问题	朱健, 吴庆定, 王平, 李科林, 雷明婧, 张伟丽 (4341)
硝酸盐对矿化垃圾中兼/厌氧甲烷氧化的影响	刘妍妍, 龙焰, 尹华, 叶锦韶, 何宝燕, 张娜 (4349)
硫酸盐/氨的厌氧生物转化试验研究	张丽, 黄勇, 袁怡, 李祥, 刘福鑫 (4356)
硫酸盐还原-氨氧化反应的特性研究	袁怡, 黄勇, 李祥, 张春蕾, 张丽, 潘杨, 刘福鑫 (4362)
UASB 系统低 pH 运行时对产氢性能的分析	赵健慧, 张百惠, 李宁, 王兵, 李永峰 (4370)
响应面法优化赤泥负载 Co 催化剂制备及活性评价	李华楠, 徐冰冰, 齐飞, 孙德智 (4376)
高浓度氨氮胁迫对纤细裸藻的毒性效应	刘炎, 石小荣, 崔益斌, 李梅 (4386)
NAPLs 污染物垂向指流迁移分形表征中图像处理的影响研究	李慧颖, 杜晓明, 杨宾, 伍斌, 徐竹, 史怡, 房吉敦, 李发生 (4392)
近 50 年浙江省耕作土壤有机质和酸碱度的变化特征	章明奎, 常跃畅 (4399)
浙中典型富硒土壤区土壤硒含量的影响因素探讨	黄春雷, 宋明义, 魏迎春 (4405)
黄河口新生湿地土壤 Fe 和 Mn 元素的空间分布特征	孙文广, 甘卓亭, 孙志高, 李丽丽, 孙景宽, 孙万龙, 牟晓杰, 王玲玲 (4411)
崇明岛土壤中 MCCPs 的污染水平、组成与来源研究	孙阳昭, 王学彤, 张媛, 孙延枫, 李梅, 马中 (4420)
福建戴云山土壤有机氯农药残留及空间分布特征	瞿程凯, 祁士华, 张莉, 黄焕芳, 张家泉, 张原, 杨丹, 刘红霞, 陈伟 (4427)
电子垃圾拆解地周边土壤中二噁英和二噁英类多氯联苯的浓度水平	邵科, 尹文华, 朱国华, 巩宏平, 周欣, 王玲, 刘劲松 (4434)
外源水溶性氟在茶园土壤中赋存形态的转化及其生物有效性	蔡荟梅, 彭传燧, 陈静, 侯如燕, 宛晓春 (4440)
丛枝菌根真菌在不同类型煤矸石山植被恢复中的作用	赵仁鑫, 郭伟, 付瑞英, 赵文静, 郭江源, 毕娜, 张君 (4447)
丛枝菌根真菌在矿区生态环境修复中应用及其作用效果	李少朋, 毕银丽, 孔维平, 王瑾, 余海洋 (4455)
超积累植物垂序商陆 (<i>Phytolacca americana</i> L.) 吸收锰机制的初步探讨	徐向华, 李仁英, 刘翠英, 施积炎, 林佳 (4460)
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1 对硫化汞的生物利用性研究	陈艳, 王卉, 司友斌 (4466)
基于我国西南地区儿童行为模式的 IEUBK 模型本地化研究	蒋宝, 崔晓勇 (4473)
不同结构有机磷在 (氢) 氧化铝表面的吸附与解吸特征	柳飞, 张延一, 严玉鹏, 刘凡, 谭文峰, 刘名茗, 冯雄汉 (4482)
煤中铁元素赋存状态的超声逐级化学提取研究	熊金钰, 李寒旭, 董众兵, 张颂, 钱宁波, 武成利 (4490)
植物对纳米颗粒的吸收、转运及毒性效应	杨新萍, 赵方杰 (4495)
《环境科学》征订启事 (4239) 《环境科学》征稿简则 (4369) 信息 (4225, 4265, 4303, 4375)	

带菌盐藻对不同形态砷的富集和转化研究

王亚¹, 张春华², 王淑¹, 申连玉¹, 葛滢^{1*}

(1. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省海洋生物学重点实验室, 南京 210095; 2. 南京农业大学生命科学实验中心, 元素与生命科学示范实验室, 南京 210095)

摘要: 自然环境中藻和菌多是共生的, 藻菌共生体对污染环境修复具有较好的应用前景. 本研究通过 16S rRNA 序列分析方法从带菌盐藻中分离鉴定出 1 株芽胞杆菌 (*Bacillus solisalsi*), 并测定了不同浓度的亚砷酸盐 [As(III)] 和砷酸盐 [As(V)] 胁迫 13 d 后, 带菌盐藻对砷的吸收、吸附、转化情况以及培养液中的砷含量及其形态. 结果表明, 无菌盐藻对砷的耐性较强, 在 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III) 胁迫下, 砷含量分别为 3.78 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 4.56 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 但是培养液中的砷含量仅下降 7.9%~8.3%, *Bacillus solisalsi* 单独除砷的能力也不强 (去除率为 6.1%~19.9%). 盐藻及其共生菌协同除砷的能力较强, 25~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III) 处理下能吸收 0.99~2.79 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的砷, 25~500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 处理下能吸收 1.22~3.46 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的砷. 25~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III) 和 As(V) 胁迫下砷去除率均在 54.3% 以上. 带菌盐藻可以通过 As(III) 氧化、As(V) 还原、As(III) 甲基化和排出胞外等途径降低砷的毒害.

关键词: 盐藻; 芽胞杆菌; 砷形态; 富集; 转化

中图分类号: X55 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2013)11-4257-09

Accumulation and Transformation of Different Arsenic Species in Nonaxenic *Dunaliella salina*

WANG Ya¹, ZHANG Chun-hua², WANG Shu¹, SHEN Lian-yu¹, GE Ying¹

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Demonstration Laboratory of Elements and Life Science, Laboratory Centre of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Algae and bacteria are usually symbiotic in the environment. The algae-bacteria consortia have a good prospect in the remediation of polluted environment. In this study, we isolated a bacterium from nonaxenic *Dunaliella salina* and identified it as *Bacillus solisalsi* using 16S rRNA sequence analysis. The uptake, adsorption and transformation of As by the nonaxenic *D. salina* and the concentration and speciation of As in the culture solution were determined after 13 days exposure to various concentrations of As(III) and As(V). The results showed that *D. salina* had a high As tolerance. When the algae was exposed to 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ arsenite, As accumulations were 3.78 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and 4.56 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively, but the As removal from the solution was 7.9%-8.3%. *B. solisalsi* did not show a strong ability to clean up As either (6.1%-19.9% removal rate). The consortia of *D. salina* and *B. solisalsi* showed a higher As removal ability. Moreover, 0.99-2.79 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and 1.22-3.46 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ As were absorbed when exposed to 25-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and 25-500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III) and As(V), respectively. More than 54.3% of As were taken away by the consortia from the solution under the exposure of 25-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III) and As(V). Various pathways of As detoxification were identified for the nonaxenic *D. salina*: As(III) oxidation, As(V) reduction, As(III) methylation, and efflux of As from cells.

Key words: *Dunaliella salina*; *Bacillus solisalsi*; arsenic speciation; accumulation; transformation

砷广泛分布于自然环境中, 海水中的平均砷浓度为 1~2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 且变化很小^[1], 形态以无机砷[亚砷酸盐 As(III) 和砷酸盐 As(V)] 为主^[1,2]. 然而, 有些海洋藻类富集砷的能力较强, 藻体内的总砷含量比海水中的砷浓度高几个数量级, 达到 10~100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[3-5]. 随着工业的发展, 人为因素导致的海洋砷污染日趋严重^[6], 引起了国内外学者的广泛关注, 海洋微藻对砷的富集、转化及相关解毒机制成为研究热点^[7-11].

海洋微藻能以光能作为能源, 利用氮、磷等营

养物质和二氧化碳合成自身复杂的有机成分, 且氮、磷和砷为同族元素, 微藻利用硝酸盐和磷酸盐的同时可能通过氮、磷途径吸收海水中的砷, 这可能是微藻体内能积累大量砷的机制^[12], 但不同种类微藻

收稿日期: 2013-02-26; 修订日期: 2013-04-09

基金项目: 国家重大科技支撑计划项目(2011BAD13B09); 国家高新技术研究发展计划(863)项目(2012AA021706); 江苏省海洋生物学重点实验室开放课题项目(JSMK2011-002); 南京农业大学本科生 SRT 项目(1113A27, 1313A22); 国家自然科学基金项目(41371468)

作者简介: 王亚(1988~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为海洋环境毒理学, E-mail: 2013203001@njau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: yingge711@njau.edu.cn

富集的总砷含量差异较大 ($1.9 \sim 2\,740.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[1,10,13~15]. 作为最耐盐的真核生物,盐藻 (*Dunaliella salina*) 可以在含 $0.05 \sim 5.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 培养液中生存,而且盐藻为广温性,可在 $4 \sim 40^\circ\text{C}$ 范围内存活,所以盐藻的分布范围相当广泛^[16]. 盐藻具有较强的砷富集能力,如 Foster 等^[14] 在对数期用 $2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 As(V) 胁迫盐藻,培养 7 d 后盐藻能积累 $13.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的砷. Yamaoka 等^[13] 发现, $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 As(V) 胁迫 7 d 后,盐藻总砷含量达到 $2\,740.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 但是以往的研究对盐藻中砷形态转化涉及较少.

在水环境中,藻菌共生比较常见,但利用藻菌共生去除砷的研究还不多,仅有廖敏等^[17] 利用驯化的菌藻共生体去除废水中的砷,发现菌藻共生体积累砷达 $7.47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,除砷率超过 80%. 这一研究关注了藻菌共生体总砷含量,但对不同形态砷的吸收、吸附以及生物转化等均没有报道. 本研究从带菌盐藻中分离鉴定了 1 株芽胞杆菌 (*Bacillus solisalsi*),首次报道了该菌对不同形态的砷有一定的去除能力,并研究了不同处理浓度下带菌盐藻吸收、吸附和代谢砷的情况,证实了藻菌共生能增强盐藻去除砷的能力,以期含砷污水的生物治理提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料及培养条件

盐藻购自山东青岛中国科学院海洋生物种质库. *Bacillus solisalsi* 为盐藻自生菌. 带菌盐藻的培养使用 f/2 培养基^[14], pH 调至 7.2,高压蒸汽灭菌 (121°C 灭菌 30 min),盐藻初始细胞密度为 $5 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、*Bacillus solisalsi* 初始细胞密度为 $2.4 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$. 培养基盐度 65、光照条件 12 h 光照、12 h 黑暗 (光强 $3\,000 \text{ lx}$)、温度白天 30°C 、晚上 25°C 、培养时间 13 d.

1.2 盐藻共生菌的分离与鉴定

用无菌接种环从带菌盐藻培养液中挑取藻菌混合液在牛肉膏蛋白胨固体平板上划线, 30°C 培养 3 d 后,只观察到一种细菌菌落,通过显微镜观察菌株的形态特征,确定得到的是芽胞杆菌的纯培养物. 通过 16S rRNA 序列测定及生理生化试验鉴定. 主要步骤如下:提取细菌 DNA 基因组→16S rRNA PCR 克隆→PCR 产物琼脂糖电泳回收→TA 克隆→验证 (阳性)→测序 (华大生物基因公司)→NCBI 比对同源性→细菌的生理生化试验;鉴定共生菌的生理生

化试验参照文献^[18,19].

1.3 带菌盐藻 D_{630} 曲线的绘制

每天在固定的时间用酶标仪 (SMP500, 美国 MD 公司) 测定带菌盐藻的 D_{630} 值^[20],以培养时间为横坐标,对应 D 值为纵坐标绘制一个生长周期内带菌盐藻的 D_{630} 曲线.

1.4 带菌盐藻样品制备

从同一瓶带菌盐藻母液中分别取等体积 (100 mL) 的藻液于 150 mL 广口锥形瓶中,分别向 100 mL 藻液中加入 $10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 As(III) 母液 18.75、37.5、75、187.5、375 μL ,即 As(III) 胁迫浓度分别为 25、50、100、250、500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,As(V) 试验组处理方法相同,并设置空白对照组 (不加砷),每个浓度处理设置 3 个平行试验,培养至衰亡期 (第 13 d) 后高速冷冻离心机 (Beckman Optima Avanti J25, 美国) $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心收获带菌藻体并收集上清液, HPLC-HG-AFS 联用仪 (北京吉天仪器有限公司)^[21] 分析上清液 (培养液) 中的砷形态;向离心后的带菌藻中加入 10 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲液 (pH = 7.0),浸泡 2 min 去除藻菌共生体细胞表面吸附的砷^[1,15], $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后收获共生体,收集上清液 HPLC-HG-AFS 测定藻菌共生体吸附的砷形态. 收获的样品冷冻干燥后备用.

1.5 带菌盐藻总砷含量的测定

将冷冻干燥的样品磨碎后称量约 0.02 g 带菌盐藻样品, Milestone Ethos T 微波消解系统 (意大利) 微波消解^[22] 后电感耦合等离子体光发射光谱仪 (ICP-AES, PerkinElmer Optima 2100DV) 测定总砷含量. 以同批次不加砷的带菌盐藻样品为空白进行加标回收试验,加入砷标样 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,检测值为 $0.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,加标回收率较高 (105%),说明消解方法可靠,不存在明显的系统误差.

1.6 带菌盐藻砷形态检测

称量约 0.02 g 带菌盐藻样品,水-微波辅助提取法^[23] 提取带菌盐藻中的砷形态,通过溶解相应的形态标液 [As(III)、As(V)、MMA、DMA 浓度分别为 (1.011 ± 0.016)、(0.233 ± 0.005)、(0.335 ± 0.011)、(0.706 ± 0.024) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (中国计量科学研究院)] 配制成 $10 \sim 100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合砷标准溶液,作标准曲线,然后 HPLC-HG-AFS 检测带菌盐藻中的 4 种砷形态.

1.7 *Bacillus solisalsi* 砷胁迫的试验

通过平板划线法从带菌盐藻中分离出 *Bacillus solisalsi*, LB 培养基隔夜培养后转入 f/2 培养基,初

始细胞密度为 $2.4 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$, 培养条件与带菌盐藻一致, 50 、 100 、 $250 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 和 As(V) 胁迫 13 d , $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心后收集上清液, 按比例稀释后 HPLC-HG-AFS 检测上清中的砷含量, 以处理砷浓度减去上清液中的砷含量计算出 *Bacillus solisalsi* 在不同砷浓度胁迫下对砷的富集量。

1.8 砷形态稳定性及加标回收试验

以不加盐藻和 *B. solisalsi*、加入 50 、 100 、 $250 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 处理的 $f/2$ 培养基为空白对照 [As(V) 相同处理方法], 放置于同等试验条件下 13 d 后 HPLC-HG-AFS 检测培养液中的砷形态, 以验证培养过程中非生物因素对 As(III) 和 As(V) 形态的影响。

称量约 0.02 g 带菌盐藻空白样品 (不加砷), 向带菌盐藻空白样品中加入 $40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 种砷形态的混合标液, 水-微波辅助提取后 HPLC-HG-AFS 检测, 以检验提取过程中砷形态变化情况。

2 结果与讨论

2.1 盐藻共生菌的分离与鉴定

从带菌盐藻中分离得到 1 株细菌, 显微镜观察

为杆状菌, 对其进行细胞形态分析和理化试验的结果见表 1。对共生菌进行 16S rRNA 序列测定, 序列结果见图 1, NCBI 比对同源性 *Bacillus solisalsi* 为 98% 、*B. macauensis* 为 97% 、苏云金芽胞杆菌 (*B. thuringiensis*) 为 96% 。将细胞形态、生理生化数据 (表 1) 与 Liu 等^[19] 对比, 表 1 的数据与 *Bacillus solisalsi* 的生理生化数据一致, 因此该芽胞杆菌鉴定为 *Bacillus solisalsi*。为表述方便, 下文中简称 *B. solisalsi*。

表 1 *B. solisalsi* 的细胞形态与理化特性¹⁾

Table 1 Morphology and physiological characteristics of <i>B. solisalsi</i>			
试验项目	结果	试验项目	结果
革兰氏染色	阳性	利用: D-葡萄糖	-
细胞形状	杆状	利用: D-甘露醇	+
细胞直径 $> 1 \text{ } \mu\text{m}$	+	利用: D-木糖	+
生长 NaCl: 5%	+	利用: 麦芽糖	-
生长 NaCl: 7%	+	利用: 蔗糖	-
生长 NaCl: 10%	+	利用: 丙酸盐	-
水解: 明胶	-	生长温度: 10°C	+
水解: 淀粉	+	生长温度: 30°C	+
生长 pH: 5.7 营养肉汤	+	V-P 培养物终 pH: < 6	+
有溶菌酶时生长	+	V-P 培养物终 pH: > 7	-

1) “+” 阳性反应, “-” 阴性反应

ggftacctgtgtacgactcaccceaatctgtccacccttcggcgctgctcctcaaaaggttaccaccgacttcgggtgttacaactctcgtgtgtgacggcggtgtgtacaggccc
gggaacgtattaccggcgcatgctgatccgcgattactagcaattccggttcattgtagcgagttgcagcctacaatccgaactgagagtgcctttttgggattggctcggcctcgcgcttcg
caaccctttgtaccaccattgtagcagctgtgttagccagggtcataaggggcatgattgttagctcatccccccttccctcgggtttgtaccggcagtcaccttagagtcaccaactgaatgt
ggcaactaaggtaagggttgctcgttgcgggacttaacccaatctcacgacagcgtgacgacaacctgcaccacgtgtcactctgtccccgaagggaaggttgaatctctcaag
tggtagagagatgtaagacctggttaagggttctcgtgtgttcgaattaaacacatgctccactgcttgcgggccccgcaattcctttgagttcagccttgcggcgtactccccaggg
gagtgcttaattgttaacgtcagcactgagggtggaaccccccaacacatgacacatcgtttacggcgtgactaccagggtatctaatcctgtttgtccccacgcttctgcgcctcagcgtc
agttacaggccaaaaagcgcccttcgacctgtgttctccacatctcagcaattcagcgtacacgtggaattccacttttctctcgtcactcaagttccagtttccaatgacctccacgg
ttgagccgtggccttcacatcagactaaaggaccgctgcgcgctttacgccaataattccgataacgcttgcacctacgtattaccgcgctgctggtgacgtagtagcgtgcttct
tggtaggtacgctcaaggtagccgagttactccggtactgttcttctgacaacagagctttacgacccgaggccttcacgtcagcgcggttgcctgctcagactttcgcattgccg
aagattccctactgctgctcccttaggagctggcgctgtctcagtcacgtgtggccgataccctctcaggtcggctacgcatcgtcgccttggtagccgtttacccaccaactagctaat
cgccggcgggcccatctgtaagcgtcagccgaaaccgactttcaaaaaaagcaggcgctctcgttatccggtattagctcgggttccggagttatcccgcttaccaggcaggttacc
cacgtgttactacccgtccgctgtaaatcagaggagcaagctctctgctcattcgtcgaactgtcatgtattaggcacgcccagcgttcatcctgagccaggtatcaactcta

图 1 *B. solisalsi* 的 16S rRNA 序列

Fig. 1 Sequence of 16S rRNA fragment of *B. solisalsi*

2.2 带菌盐藻的 D_{630} 曲线

由于与盐藻共生细菌的干扰, 图 2 不能反映盐藻的生长情况, 但可以说明不同浓度 As(III) 胁迫下带菌盐藻的 D_{630} 变化规律, 结合显微镜观察发现: *B. solisalsi* 的数量随着 As(III) 浓度的增加而减少, 盐藻数量随着 As(III) 浓度的增加而增加。 25 、 50 、 $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 胁迫下, 整个生长周期内均是藻菌共存的, 其 D_{630} 曲线没有明显规律。 250 、 500

$\text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 胁迫下随着培养天数的增加, *B. solisalsi* 数量逐渐减小, 直至 $500 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 胁迫下第 4 d 、 $250 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ As(III)}$ 胁迫下第 7 d , *B. solisalsi* 完全死亡, 即 7 d 后这两个浓度下的 D_{630} 曲线能反映盐藻的实际生长状况。 由于缺少细菌竞争营养盐, 盐藻数量开始增多, D_{630} 值又慢慢回升, 说明盐藻对 As(III) 的耐性很强。 不同浓度 As(V) 胁迫下整个生长周期内均是藻菌共存的,

而其 D_{630} 曲线没有明显规律,在此未列出。

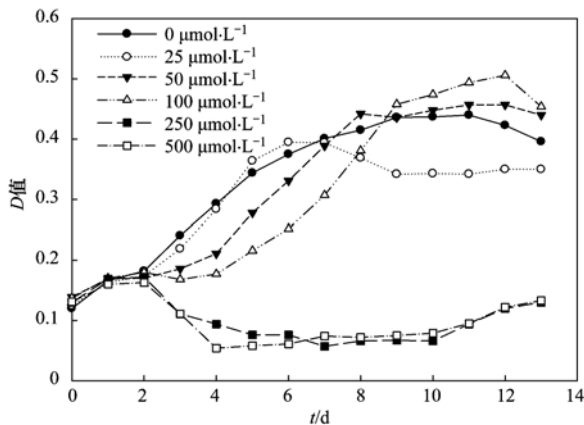


图2 不同As(Ⅲ)浓度胁迫13d带菌盐藻的 D_{630} 曲线

Fig. 2 The D_{630} curve of nonaxenic *D. salina* exposed to the indicated concentrations of arsenite for 13 days

2.3 带菌盐藻吸收的总砷量

从表2可看出,As(Ⅲ)胁迫下,随着砷胁迫浓度增加,带菌盐藻吸收的砷越多。As(V)胁迫下,带菌盐藻吸收的砷随着砷胁迫浓度增加而增加,在250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最大值,随后开始降低。25、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 胁迫时,相同浓度下As(V)胁迫的带菌盐藻比As(Ⅲ)胁迫的带菌盐藻吸收更多的砷,而250、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理下正好相反。由于250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下收获藻体前 *B. solisalsi* 均已死亡,所以这两个浓度胁迫下测得的数据即无菌盐藻吸收的总砷含量(3.78 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和4.56 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),结果说明盐藻吸收As(Ⅲ)的能力很强,这与Yamaoka等^[13]的研究结果一致。

表2 不同形态的砷胁迫13d带菌盐藻吸收的总砷含量¹⁾

Table 2 Total arsenic in nonaxenic *D. salina* exposed to various concentrations of arsenite and arsenate for 13 days

As(Ⅲ)胁迫 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	总砷含量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	As(V)胁迫浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	总砷含量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
25	990.5 ± 14.9	25	1 223.1 ± 13.8
50	1 496.9 ± 22.4	50	2 084.3 ± 38.2
100	2 787.5 ± 139.4	100	3 390.0 ± 141.2
250	3 775.0 ± 226.5	250	3 460.7 ± 211.8
500	4 556.3 ± 91.5	500	2 475.0 ± 180.9

1) 结果以“平均值 ± 标准方差”(mean ± SD)表示

2.4 带菌盐藻砷形态的提取

2.4.1 砷形态稳定性

砷形态稳定性试验结果发现非生物氧化还原的砷含量均低于检出限,说明整个培养期内As(Ⅲ)和As(V)形态稳定。

2.4.2 加标回收试验

加标检测结果(表3)显示加标回收率较高(94.5% ~ 99.8%),说明提取方法可靠,不存在明显的系统误差。

表3 带菌盐藻砷形态的加标回收试验¹⁾

Table 3 Recoveries of arsenic species spiked in the nonaxenic *D. salina*

砷形态	样品中的砷含量 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标量 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	砷提取量 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率 /%
As(Ⅲ)	ND ²⁾	40	39.9 ± 0.6	99.8
DMA	ND	40	38.2 ± 0.5	95.5
MMA	ND	40	37.8 ± 0.5	94.5
As(V)	ND	40	38.1 ± 0.4	95.3

1) 结果以“平均值 ± 标准方差”(mean ± SD)表示; 2) ND 表示未检出或低于方法检出限,下同

2.4.3 带菌盐藻中的砷形态

带菌盐藻吸收的砷形态、含量及砷提取效率见表4。从中可看出,利用水-微波辅助提取法提取带菌盐藻中的砷形态,提取效率较高(89.0% ~ 104.8%),无菌盐藻的砷提取效率为96.5% ~ 106.3%。25 ~ 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,随着胁迫浓度增加,带菌盐藻吸收的砷增多。带菌盐藻吸收的砷形态大部分以毒性相对较低的As(V)形态存在(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理除外),同时还存在少量的一甲基砷酸(MMA)形态,不存在二甲基砷酸(DMA)形态,从结果可看出带菌盐藻对砷的耐性较强且对砷的解毒作用(氧化、甲基化)明显。250 ~ 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,无菌盐藻细胞内的砷以As(V)形态为主(58.4% ~ 68.8%),说明盐藻细胞摄入As(Ⅲ)后,将大部分As(Ⅲ)氧化为As(V),这一结果与张兵等^[11]的研究结论一致,他们研究了集胞藻(*Synechocystis* sp. PCC6803)对砷的吸收转化,结果发现当集胞藻分别暴露于2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的As(Ⅲ)和As(V) 14 d后,集胞藻细胞内的砷形态均以As(V)为主,并且发现集胞藻对As(V)的亲合性大于As(Ⅲ)。

As(V)胁迫下,随着胁迫浓度的增加,带菌盐藻吸收的砷增多,在250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度达到最大值,随后开始降低。盐藻中的砷形态大部分以毒性相对较低的As(V)形态存在,不存在MMA和DMA,但是也存在少量(< 4.0%)毒性较高的As(Ⅲ)形态,可能是带菌盐藻将部分As(V)还原为As(Ⅲ),这一结果与Folgar等^[6]、Foster等^[14]的研究结论一致。As(V)还原为As(Ⅲ)是微藻细胞钝化砷的前提^[24~27],因为只有As(Ⅲ)可以与小分子谷胱甘肽、植物螯合素等有机物结合^[28],要利用砷

酸还原酶解毒,必须同时具备充足的As(Ⅲ)配体,否则,由于As(Ⅲ)比As(V)的毒性更大,盐藻会受到更严重的伤害,而未利用的As(Ⅲ)则被盐藻细胞排出胞外,所以培养液中检测到了As(Ⅲ)。

表 4 水-微波辅助提取法提取带菌盐藻中砷形态含量及提取效率

Table 4 Arsenic speciation and efficiencies of the microwave-assisted water extraction in nonaxenic <i>D. salina</i>							
砷胁迫形态及浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	砷形态/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				砷含量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	提取效率 /%	
	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(V)			
As(Ⅲ)	25	281.1 $\pm$ 4.2	ND	11.0 $\pm$ 0.1	539.2 $\pm$ 7.5	907.1	91.6
	50	492.4 $\pm$ 7.4	ND	27.6 $\pm$ 0.3	646.6 $\pm$ 9.1	1 342.2	89.7
	100	1 267.6 $\pm$ 19.0	ND	30.0 $\pm$ 0.3	736.4 $\pm$ 10.3	2 523.7	90.5
	250	759.1 $\pm$ 9.1	ND	25.4 $\pm$ 0.2	1 067.6 $\pm$ 13.9	4 013.9	106.3
	500	651.7 $\pm$ 7.8	ND	25.1 $\pm$ 0.1	1 438.0 $\pm$ 18.7	4 398.4	96.5
As(V)	25	29.8 $\pm$ 0.4	ND	ND	874.5 $\pm$ 14.0	1 137.7	93.0
	50	43.7 $\pm$ 0.4	ND	ND	1 610.2 $\pm$ 25.8	1 854.0	89.0
	100	119.4 $\pm$ 1.4	ND	ND	2 629.8 $\pm$ 42.0	3 199.0	94.4
	250	133.6 $\pm$ 1.9	ND	ND	2 688.7 $\pm$ 39.8	3 367.5	97.3
	500	90.1 $\pm$ 1.1	ND	ND	2 156.1 $\pm$ 28.9	2 593.0	104.8

2.5 带菌盐藻吸附的砷形态

HPLC-HG-AFS 测定带菌盐藻吸附的砷形态及含量(表 5),结果发现 25~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,带菌盐藻表面吸附的砷形态中As(V)占 46.5%~67.3%,没有 DMA 和 MMA. 250~500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,*B. solisalsi* 均死亡,盐藻表面吸附的

砷形态全部是As(V),无As(Ⅲ)、DMA 和 MMA,说明盐藻细胞表面只吸附As(V),或者可将As(Ⅲ)氧化成As(V),而*B. solisalsi* 细胞表面吸附As(Ⅲ)和As(V)形态的砷. As(V)胁迫下,带菌盐藻表面吸附的砷形态主要是As(V),少量的As(Ⅲ)(4.9%~10.2%)可能来自于带菌盐藻的还原作用。

表 5 带菌盐藻吸附的砷形态

Table 5 Arsenic speciation adsorpted by Nonaxenic <i>D. salina</i>						
砷胁迫形态及浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	砷形态/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				总计 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(V)		
As(Ⅲ)	25	1 284.4 $\pm$ 25.7	ND	ND	2 640.6 $\pm$ 39.6	3 925.0
	50	6 021.6 $\pm$ 121.1	ND	ND	5 328.6 $\pm$ 58.6	11 350.2
	100	11 604.7 $\pm$ 15.1	ND	ND	10 104.6 $\pm$ 100.3	21 709.3
	250	ND	ND	ND	2 544.8 $\pm$ 30.2	2 544.8
	500	ND	ND	ND	8 938.8 $\pm$ 116.3	8 938.8
As(V)	25	ND	ND	ND	2 529.3 $\pm$ 35.4	2 529.3
	50	365.9 $\pm$ 4.8	ND	ND	7 097.5 $\pm$ 99.1	7 463.4
	100	541.8 $\pm$ 7.0	ND	ND	9 597.5 $\pm$ 134.4	10 139.3
	250	2 060.0 $\pm$ 22.7	ND	ND	17 713.7 $\pm$ 265.7	19 773.7
	500	1 178.3 $\pm$ 18.8	ND	ND	44 416.4 $\pm$ 533.0	45 594.7

2.6 带菌盐藻培养液中的砷形态及含量

随着As(Ⅲ)胁迫浓度的增加,*B. solisalsi* 的数量逐渐减少直至死亡,培养液中未消耗的As(Ⅲ)含量逐渐增加. 25~50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,培养液中的砷主要以As(V)(71.5%~81.3%)和 DMA (18.1%~25.4%)形态存在(表 6),As(Ⅲ)含量较少,不存在 MMA 形态. 250~500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,培养液中砷形态以As(Ⅲ)为主(50.4%~58.0%),其余为As(V),不存在 MMA、DMA. 说明在As(Ⅲ)胁迫下,藻菌共生体以氧化和甲基化的方式将As(Ⅲ)解毒后排出细胞,而盐藻自身解毒以氧化为主. 25~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)胁迫下,培养液

中砷形态主要以As(V)和 DMA 存在. 250、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)胁迫下,培养液中砷形态以As(V)为主,不存在 MMA 和 DMA 形态,产生的少量(1.2%~14.3%)As(Ⅲ)形态可能来源于带菌盐藻的还原作用。

2.7 *B. solisalsi* 的砷胁迫试验

从检测结果(表 7)可看出,As(Ⅲ)和As(V)胁迫下,*B. solisalsi* 对砷的去除率都在 20% 以下,比与盐藻协同去除砷的能力小很多. 随着As(Ⅲ)和As(V)胁迫浓度的增加,*B. solisalsi* 数量逐渐减少,细胞内的砷含量虽然提高了,但是富集的砷含量占砷胁迫量的比例逐渐降低。

表 6 带菌盐藻培养液中的砷形态

Table 6 Arsenic speciation in the culture solution of Nonaxenic *D. salina*

砷胁迫形态及浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		砷形态/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				总计 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
		As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(Ⅴ)	
As(Ⅲ)	25	21.9 ± 0.3	182.3 ± 2.5	ND	512.6 ± 7.2	716.8
	50	6.3 ± 0.1	190.4 ± 2.3	ND	855.1 ± 11.1	1 051.8
	100	1 472.2 ± 20.6	72.3 ± 1.2	ND	1 189.1 ± 15.5	2 733.6
	250	8 281.2 ± 115.9	ND	ND	8 161.5 ± 122.8	16 442.7
	500	1 7861.6 ± 250.1	ND	ND	12 932.3 ± 258.6	30 793.9
As(Ⅴ)	25	ND	112.5 ± 1.7	ND	465.2 ± 6.0	577.8
	50	ND	102.6 ± 1.1	ND	1 053.6 ± 24.2	1 156.2
	100	ND	124.7 ± 2.0	ND	3 217.7 ± 51.5	3 377.8
	250	1 554.2 ± 20.2	ND	ND	9 331.6 ± 233.3	10 885.8
	500	260.7 ± 3.6	ND	ND	22 348.1 ± 268.2	22 608.8

表 7 *B. solisalsi* 吸收的不同形态砷的数量

Table 7 Arsenic species accumulated by *B. solisalsi*

神肺迫形态及浓度 /mg·L ⁻¹		上清液中的砷形态含量/mg·L ⁻¹				总计 /mg·L ⁻¹	<i>B. solisalsi</i> 中的砷含量 /mg·L ⁻¹ 及比例/%
		As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(Ⅴ)		
As(Ⅲ)	3.75	2.41 ± 0.06	ND	ND	0.74 ± 0.01	3.15	0.60(16.0)
	7.50	4.97 ± 0.06	ND	ND	1.49 ± 0.02	6.46	1.04(13.9)
	18.75	15.31 ± 0.3	ND	ND	2.30 ± 0.03	17.61	1.14(6.1)
As(Ⅴ)	3.75	0.65 ± 0.02	ND	ND	2.66 ± 0.08	3.31	0.44(11.7)
	7.50	0.91 ± 0.01	ND	ND	5.10 ± 0.13	6.01	1.49(19.9)
	18.75	1.45 ± 0.02	ND	ND	13.64 ± 0.69	15.09	3.66(19.5)

2.8 带菌盐藻总计转化的砷及比例

从As(Ⅲ)胁迫下带菌盐藻吸收、吸附以及培养液中的砷含量占砷处理量的比例看(表8),带菌盐藻去除砷(包括吸收的砷含量和吸附的砷含量)的比例非常高(62.8% ~ 72.0%),而无菌盐藻去除的砷较少(7.9% ~ 8.3%),大部分砷仍然存在于培养液中,但是42.0% ~ 49.6%的砷形态都已经转化为毒性相对较低的As(V)(表6),说明无菌盐藻的解毒作用明显,只是盐藻单独吸收吸附的砷含量较少,实际去除As(Ⅲ)的能力不如盐藻和*B. solisalsi*协同除砷的能力强. 试验结果说明无菌盐藻的砷耐受能力较强,其主要的砷解毒机制是将毒性较高的As(Ⅲ)氧化为毒性较低的As(V)后排出胞外,而去除As(Ⅲ)能力较差,这与Folgar等^[6]的研究结果类似,他们用5 ~ 120 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd胁迫无菌盐藻96 h后,发现无菌盐藻对Cd的耐性很强,但是去除培养液中的Cd比例最大只有11.3%. 藻菌共生体较盐藻和*B. solisalsi*单独除砷能力更强的可能原因是藻类和细菌两类生物之间的生理功能协同作用^[29,30],藻类通过光合作用利用水中的 CO_2 和 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 、 NO_3^- 等物质,合成自身细胞物质并释放出 O_2 ; *B. solisalsi*则利用水中的 O_2 及营养物质产生 CO_2 和上述营养盐,以维持藻类的生长繁殖,且Howard等^[12]

和Calzada等^[26]认为 AsO_4^{3-} 可以代替 PO_4^{3-} 和 NO_3^- 作为营养盐,如此良性循环,除砷量自然较两者单独除砷量高.

As(V)胁迫下带菌盐藻吸收、吸附以及培养液中的砷占砷处理量的比例与As(Ⅲ)类似(表8),25、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 胁迫下带菌盐藻去除的砷比例(54.3% ~ 69.0%)较高,250、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 胁迫下带菌盐藻去除砷的比例(27.2% ~ 30.3%)较低,试验结果发现培养液中砷去除率的大小与*B. solisalsi*的数量呈正相关.

带菌盐藻吸收 + 吸附 + 培养液中砷的总和理论上应该与砷胁迫量相等,从图3和图4可看出,随着As(Ⅲ)和As(V)胁迫浓度的增加,吸收 + 吸附 + 培养液中的砷总量占砷胁迫量的比例逐渐下降,说明有一些砷损失了(不明去向的砷),这可能是带菌盐藻的另外一种砷解毒机制,且只有在环境恶劣的条件下(高浓度砷胁迫)才会触发,即将毒性较高的As(Ⅲ)甲基化后生成挥发性砷TM As(Ⅲ),这与Yin等^[10]的研究结果类似,他们用0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和0.4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的As(V)胁迫3种蓝藻(微胞藻、念珠藻、集胞藻)6周后发现3种蓝藻均产生了少量挥发性砷TM As(Ⅲ);Suhendrayatna等^[31]研究了30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下小球藻(*Chlorella vulgaris*)

表 8 带菌盐藻吸收、吸附和培养液中的砷¹⁾

Table 8 Concentrations of absorbed As, adsorbed As by Nonaxenic <i>D. salina</i> and As in the culture solution						
形态	胁迫浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	砷胁迫量 / μg	As 吸收量 / μg	As 吸附量 / μg	培养液中的 As / μg	总计/ μg
As(Ⅲ)	25	182.6	62.4	58.9	69.8	191.1
	50	365.3	93.6	170.3	102.4	366.3
	100	730.5	123.2	325.6	266.3	715.1
	250	1 826.3	107.1	38.2	1 601.5	1 746.8
	500	3 652.5	124.0	134.1	2 999.3	3 257.4
As(Ⅴ)	25	182.6	85.3	37.9	56.3	179.5
	50	365.3	139.0	112.0	112.6	363.6
	100	730.5	239.2	152.1	329.0	720.2
	250	1 826.3	165.3	296.6	1 060.3	1 522.2
	500	3 652.5	137.1	683.9	2 202.1	3 023.1

1) 培养 13 d 测定 *D* 值消耗培养液体积 2.6 mL, 初始培养液体积为 100 mL, 故最终体积按 97.4 mL 计算

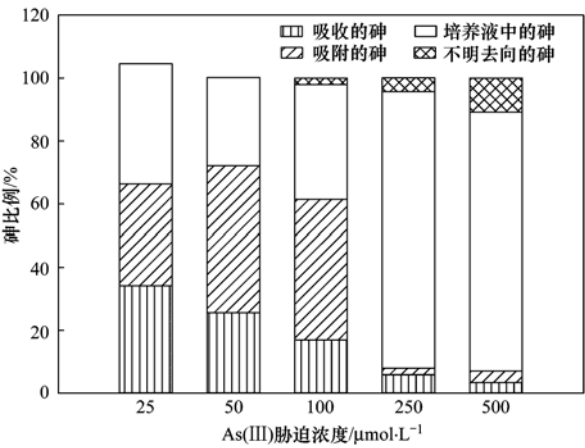


图 3 不同As(Ⅲ)浓度胁迫 13 天带菌盐藻转化的砷比例

Fig. 3 Percentage of arsenic transformations by nonaxenic *D. salina* exposed to various concentrations of arsenite for 13 days

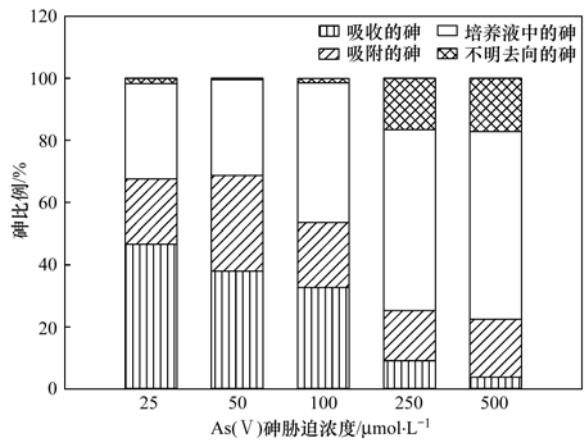


图 4 不同As(Ⅴ)浓度胁迫 13 天带菌盐藻转化的砷比例

Fig. 4 Percentage of arsenic transformations by nonaxenic *D. salina* exposed to various concentrations of arsenate for 13 days

中砷形态变化,也发现有少量的 TM As(Ⅲ)产生.带菌盐藻是否也产生了挥发性砷,需要进一步的研究才能获得确切的结论.

2.9 带菌盐藻除砷优越性及二次污染防治

研究表明,利用植物或微生物吸附吸收砷,可以达到去除砷污染的目的,但通过微生物-植物共生或者藻菌共生关系则能显著提高砷污染修复的效率^[32].例如,赵根成等^[33]研究了外源添加微生物对蜈蚣草吸收砷能力的影响,发现微生物处理后,蜈蚣草砷的累积量提高 206%.类似地,本研究中虽然无菌盐藻和 *B. solisalsi* 单独除砷的能力较弱(6.1% ~ 19.9%),但是藻菌共生体协同除砷能力较强,As(Ⅲ)和As(Ⅴ)胁迫浓度低于 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,砷去除率均在 54.3% 以上.

本试验的研究结果对于水体 As 污染治理有一定潜在应用价值,但收集后的藻体存在二次砷污染风险,可以通过安全填埋等^[34,35]方法解决这一问题.

3 结论

(1)藻(盐藻)菌(芽胞杆菌 *Bacillus solisalsi*)共生体富集砷的能力较强,25 ~ 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下能富集 0.99 ~ 2.79 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的砷;25 ~ 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅴ)胁迫下则能富集 1.22 ~ 3.46 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的砷.

(2)25、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅲ)胁迫下,随着砷胁迫浓度的增加,带菌盐藻吸附的砷比例逐渐增大,As(Ⅴ)胁迫下带菌盐藻吸收的砷比例大;250、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(Ⅴ)胁迫下,带菌盐藻吸附的砷比例大.

(3)无菌盐藻和 *B. solisalsi* 单独去除砷的能力均小于两者协同除砷的能力.盐藻对砷的耐性较强,然而单独除砷的能力较弱(7.9% ~ 8.3%),但可以将 42.0% ~ 49.6% 的 As(Ⅲ)氧化为毒性相对

较低的As(V),解毒作用明显。*B. solisalsi*单独除砷的能力也不强(6.1%~19.9%)。两者协同除砷的能力较强,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(III)和As(V)浓度砷胁迫下除砷率均在54.3%以上。

(4)利用带菌盐藻去除环境中砷污染有一定的限制条件,只有在As(III)和As(V)胁迫浓度低于100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,带菌盐藻去除砷能力较强,砷去除率均在50%以上。超过100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 胁迫浓度,随着*B. solisalsi*的大量死亡,除砷能力下降。

(5)带菌盐藻的砷解毒机制有:As(III)氧化为As(V)、As(V)还原为As(III)后甲基化为MMA和DMA,或者进一步产生挥发性砷[TM As(III)]排出胞外。

参考文献:

- [1] Karadjova I B, Slaveykova V I, Tsalev D L. The biouptake and toxicity of arsenic species on the green microalga *Chlorella salina* in seawater[J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, **87**(4): 264-271.
- [2] Ng J C. Environmental contamination of arsenic and its toxicological impact on humans[J]. *Environmental Chemistry*, 2005, **2**(3): 146-160.
- [3] García-Salgado S, Quijano M A, Bonilla M M. Arsenic speciation in edible alga samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, **714**: 38-46.
- [4] Almela C, Clemente M J, Vélez D, *et al.* Total arsenic, inorganic arsenic, lead and cadmium contents in edible seaweed sold in Spain[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, **44**(11): 1901-1908.
- [5] Salgado S G, Quijano Nieto M A, Bonilla Simón M M. Optimisation of sample treatment for arsenic speciation in alga samples by focussed sonication and ultrafiltration[J]. *Talanta*, 2006, **68**(5): 1522-1527.
- [6] Folgar S, Torres E, Pérez-Rama M, *et al.* *Dunaliella salina* as marine microalga highly tolerant to but a poor remover of cadmium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **165**(1-3): 486-493.
- [7] Goessler W, Lintschinger J, Mader P, *et al.* *Chlorella* sp. and arsenic compounds: An attempt to prepare an algal reference material for arsenic compounds[J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 1997, **11**(1): 57-66.
- [8] Takimura O, Fuse H, Murakami K, *et al.* Uptake and reduction of arsenate by *Dunaliella* sp. [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 1996, **10**(9): 753-756.
- [9] Hasegawa H, Sohrin Y, Seki K, *et al.* Biosynthesis and release of methylarsenic compounds during the growth of freshwater algae[J]. *Chemosphere*, 2001, **43**(3): 265-272.
- [10] Yin X X, Chen J, Qin J, *et al.* Biotransformation and volatilization of arsenic by three photosynthetic cyanobacteria[J]. *Plant Physiology*, 2011, **156**(3): 1631-1638.
- [11] 张兵,王利红,徐玉新,等. 集胞藻(*Synechocystis* sp. PCC6803)对砷吸收转化特性的初步研究[J]. *生态毒理学报*, 2011, **6**(6): 629-633.
- [12] Howard A G, Comber S D W, Kifle D, *et al.* Arsenic speciation and seasonal changes in nutrient availability and micro-plankton abundance in southampton water, U. K. [J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 1995, **40**(4): 435-450.
- [13] Yamaoka Y, Takimura O, Fuse H, *et al.* Effect of glutathione on arsenic accumulation by *Dunaliella salina* [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 1999, **13**(2): 89-94.
- [14] Foster S, Thomson D, Maher W. Uptake and metabolism of arsenate by anoxic cultures of the microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Marine Chemistry*, 2008, **108**(3-4): 172-183.
- [15] Yin X X, Wang L H, Bai R. Accumulation and transformation of arsenic in the blue-green alga *Synechocystis* sp. PCC6803 [J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2012, **223**(3): 1183-1190.
- [16] 王帅,梁英,冯力霞,等. 重金属胁迫对杜氏盐藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *海洋科学*, 2010, **34**(10): 38-48.
- [17] 廖敏,谢正苗,王锐. 菌藻共生体去除废水中砷初探[J]. *环境污染与防治*, 1997, **19**(2): 11-13.
- [18] 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. 62-65.
- [19] Liu H, Zhou Y, Liu R, *et al.* *Bacillus solisalsi* sp. Nov., a halotolerant, alkaliphilic bacterium isolated from soil around a salt lake[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, **59**(6): 1460-1464.
- [20] Zhu Y H, Jiang J G. Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene[J]. *European Food Research and Technology*, 2008, **227**(3): 953-959.
- [21] 尚德荣,宁劲松,赵艳芳,等. 高效液相色谱-氢化物发生原子荧光(HPLC-HG-AFS)联用技术检测海藻食品中无机砷[J]. *水产学报*, 2010, **34**(1): 132-137.
- [22] Salgado S G, Quijano Nieto M A, Bonilla Simón M M. Assessment of total arsenic and arsenic species stability in alga samples and their aqueous extracts[J]. *Talanta*, 2008, **75**(4): 897-903.
- [23] Salgado S G, Quijano Nieto M A, Bonilla Simón M M. Determination of soluble toxic arsenic species in alga samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography-hydride generation-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, **1129**(1): 54-60.
- [24] Duan G L, Zhu Y G, Tong Y P, *et al.* Characterization of arsenate reductase in the extract of roots and fronds of Chinese Brake Fern, an arsenic hyperaccumulator[J]. *Plant Physiology*, 2005, **138**(1): 461-469.
- [25] Ellis D R, Gumaelius L, Indriono E, *et al.* A novel arsenate reductase from the arsenic hyperaccumulating fern *Pteris vittata* [J]. *Plant Physiology*, 2006, **141**(4): 1544-1554.
- [26] Taboada-de la Calzada A, Villa-Lojo M C, Beceiro-González E, *et al.* Determination of arsenic species in environmental samples:

- use of the alga *Chlorella vulgaris* for arsenic(Ⅲ) retention[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 1998, **17**(3): 167-175.
- [27] Knaue K, Hemond H. Accumulation and reduction of arsenate by the freshwater green alga *chlorella* sp. (*chlorophyta*) [J]. Journal of Phycology, 2000, **36**(3): 506-509.
- [28] Bleeker P M, Hakvoort H W J, Blik M, *et al.* Enhanced arsenate reduction by a CDC25-like tyrosine phosphatase explains increased phytochelatin accumulation in arsenate-tolerance *Holcus Lanatus*[J]. The Plant Journal, 2006, **45**(6): 917-929.
- [29] 寇希元, 张晓青, 张雨山, 等. 固定化藻菌去除海水冲厕污水中氮磷的实验研究[J]. 环境工程学报, 2011, **5**(12): 2703-2706.
- [30] 邓旭, 魏斌, 胡章立. 利用固定化藻菌耦合系统同步去除污水中的 COD 和氮磷[J]. 环境科学, 2011, **32**(8): 2311-2316.
- [31] Suhendrayatna, Ohki A, Kuroiwa T, *et al.* Arsenic compounds in the freshwater green microalga *Chlorella vulgaris* after exposure to arsenite [J]. Applied Organometallic Chemistry, 1999, **13**(2): 127-133.
- [32] 吴佳, 谢明吉, 杨倩, 等. 砷污染微生物修复的进展研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(3): 817-824.
- [33] 赵根成, 廖晓勇, 阎秀兰, 等. 微生物强化蜈蚣草累积土壤砷能力的研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(2): 431-436.
- [34] 邢颖, 吕永龙, 史雅娟, 等. 焚烧、水泥窑和安全填埋法处置 PCBs 污染物技术优选[J]. 环境科学, 2007, **28**(3): 673-678.
- [35] 杨洁, 汪群慧, 罗启仕, 等. 硅酸盐细菌脱硅处理对垃圾焚烧飞灰生物淋滤效果的影响[J]. 环境科学, 2010, **31**(1): 266-272.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2013 年 9 月 27 日, 中国科技论文统计结果发布会在北京举行, 会议公布了“百种中国杰出学术期刊”获奖名单. 《环境科学》连续 12 次荣获“百种中国杰出学术期刊”称号. “百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定. 该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析, 对期刊分学科进行评比, 其评价结果客观公正, 为我国科技界公认, 并具有广泛影响.

CONTENTS

Aerosol Optical Properties During Different Air-Pollution Episodes over Beijing	SHI Chan-zhen, YU Xing-na, ZHOU Bin, <i>et al.</i> (4139)
Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Aerosol Ions over the Bohai Sea and the North Yellow Sea in Autumn	ZHANG Yan, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (4146)
Spatial Distribution Characteristics of Carbonaceous Aerosol During Summer in Beibu Gulf Zone, China	YANG Yi-hong, TAO Jun, GAO Jian, <i>et al.</i> (4152)
Study on the <i>in-situ</i> Measurement of Greenhouse Gas by an Improved FTIR	XIA Ling-jun, LIU Li-xin, ZHOU Ling-xi, <i>et al.</i> (4159)
Distribution of CH ₄ in the Suburb of Changsha City, China	LIU Lu-ning, WANG Ying-hong, XU Xiao-juan, <i>et al.</i> (4165)
Chemical Composition of <i>n</i> -Alkanes in Wheat Straw and Smoke	LIU Gang, LI Jiu-hai, XU Hui, <i>et al.</i> (4171)
Degradation of the Absorbed Methyl Mercaptan by Persulfate in Alkaline Solution	YANG Shi-ying, WANG Lei-lei, FENG Lin-yu, <i>et al.</i> (4178)
Emissions of Greenhouse Gas and Ammonia from the Full Process of Sewage Sludge Composting and Land Application of Compost ...	ZHONG Jia, WEI Yuan-song, ZHAO Zhen-feng, <i>et al.</i> (4186)
Distribution and Physicochemical Properties of Aquatic Colloids in the Yangtze Estuarine and Coastal Ecosystem	GU Li-jun, YANG Yi, LIU Min, <i>et al.</i> (4195)
Spatial Distribution and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Estuaries Surface Sediments from the Haihe River Basin	 LÜ Shu-cong, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing, <i>et al.</i> (4204)
Distribution of Perfluorooctanesulfonate and Perfluorooctanoate in Water and the Sediment in Fenhe River, Shanxi Province	Higashiguchi Tomohiro, SHI Jiang-hong, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (4211)
Analysis on Nitrogen and Phosphorus Loading of Non-point Sources in Shiqiao River Watershed Based on L-THIA Model	LI Kai, ZENG Fan-tang, FANG Huai-yang, <i>et al.</i> (4218)
Pollutant Source Apportionment of Combined Sewer Overflows Using Chemical Mass Balance Method	DAI Mei-hong, LI Tian, ZHANG Wei (4226)
Simulated Study of Algal Fatty Acid Degradation in Hypoxia Seawater-Sediment Interface Along China Coastal Area	SUI Wei-wei, DING Hai-bing, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (4231)
Influence of Two Different Species of Aquatic Plant Communities on the Concentration of Various Nitrogen Forms in Sediment of Lake Taihu	 MA Jiu-yuan, WANG Guo-xiang, LI Zhen-guo, <i>et al.</i> (4240)
Study on Removal Rule of Endosulfan in Surface Flow Constructed Wetland	QIN Jing, GAO Fu-wei, XIE Hui-jun (4251)
Accumulation and Transformation of Different Arsenic Species in Nonaxenic <i>Dunaliella salina</i>	WANG Ya, ZHANG Chun-hua, WANG Shu, <i>et al.</i> (4257)
Evaluation of <i>in situ</i> Capping with Lanthanum-Modified Zeolite to Control Phosphate and Ammonium Release from Sediments in Heavily Polluted River	 LI Jia, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui (4266)
Effects of Invertebrate Bioturbation on Vertical Hydraulic Conductivity of Streambed for a River	REN Chao-liang, SONG Jin-xi, YANG Xiao-gang, <i>et al.</i> (4275)
Formation of Disinfection By-products by <i>Microcystis aeruginosa</i> Intracellular Organic Matter; Comparison Between Chlorination and Bromination	 TIAN Chuan, GUO Ting-ting, LIU Rui-ping, <i>et al.</i> (4282)
Effect of Natural Organic Matter on Coagulation Efficiency and Characterization of the Floes Formed	XU Lei, YU Wen-zheng, LIANG Liang, <i>et al.</i> (4290)
DOM Membrane Fouling and Effects on Rejection Behaviors of NF Membranes	FENG Gui-zhen, DONG Bing-zhi (4295)
Removal of Hg in Wastewater by Zero-Valent Iron	ZHOU Xin, ZHANG Jin-zhong, QIU Xin-kai, <i>et al.</i> (4304)
Catalytic Dechlorination of 2,4-D in Aqueous Solution by Fe ₃ O ₄ -Stabilized Nanoscale Pd/Fe	ZHOU Hong-yi, LIANG Si, ZENG Si-si, <i>et al.</i> (4311)
Comparative Study on Adsorption Behaviors of Natural Organic Matter by Powered Activated Carbons with Different Particle Sizes	LI Zheng-jian, SHI Bao-you, WANG Dong-sheng (4319)
Removal of Nitrate from Aqueous Solution Using Cetylpyridinium Chloride (CPC)-Modified Activated Carbon as the Adsorbent	ZHENG Wen-jing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (4325)
Adsorption Properties of Modified Graphene for Methylene Blue Removal from Wastewater	WU Yan, LUO Han-jin, WANG Hou, <i>et al.</i> (4333)
Application of Classical Isothermal Adsorption Models in Heavy Metal Ions/Diatomite System and Related Problems	ZHU Jian, WU Qing-ding, WANG Ping, <i>et al.</i> (4341)
Effects of Nitrate on Anoxic/Anaerobic Oxidation of Methane in the Aged Refuse	LIU Yan-yan, LONG Yan, YIN Hua, <i>et al.</i> (4349)
Study on the Biotransformation of Sulfate and Ammonia in Anaerobic Conditions	ZHANG Li, HUANG Yong, YUAN Yi, <i>et al.</i> (4356)
Characteristics of Sulfate Reduction-Ammonia Oxidation Reaction	YUAN Yi, HUANG Yong, LI Xiang, <i>et al.</i> (4362)
Analysis of Hydrogen-production Performance in a UASB System at Low pH	ZHAO Jian-hui, ZHANG Bai-hui, LI Ning, <i>et al.</i> (4370)
Preparation of Red Mud Loaded Co Catalysts; Optimization Using Response Surface Methodology (RSM) and Activity Evaluation	LI Hua-nan, XU Bing-bing, QI Fei, <i>et al.</i> (4376)
Toxic Effects of High Concentrations of Ammonia on <i>Euglena gracilis</i>	LIU Yan, SHI Xiao-rong, CUI Yi-bin, <i>et al.</i> (4386)
Influence of Image Process on Fractal Morphology Characterization of NAPLs Vertical Fingering Flow	LI Hui-ying, DU Xiao-ming, YANG Bin, <i>et al.</i> (4392)
Changing Characteristics of Organic Matter and pH of Cultivated Soils in Zhejiang Province over the Last 50 Years	ZHANG Ming-kui, CHANG Yue-chang (4399)
Study on Selenium Contents of Typical Selenium-rich Soil in the Middle Area of Zhejiang and Its Influencing Factors	HUANG Chun-lei, SONG Ming-yi, WEI Ying-chun (4405)
Spatial Distribution Characteristics of Fe and Mn Contents in the New-born Coastal Marshes in the Yellow River Estuary	SUN Wen-guang, GAN Zhuo-ting, SUN Zhi-gao, <i>et al.</i> (4411)
Level, Composition and Sources of Medium-Chain Chlorinated Paraffins in Soils from Chongming Island	SUN Yang-zhao, WANG Xue-tong, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4420)
Distribution Characteristics of Organochlorine Pesticides in Soil from Daiyun Mountain Range in Fujian, China	QU Cheng-kai, QI Shi-hua, ZHANG Li, <i>et al.</i> (4427)
Levels of PCDD/Fs and Dioxin-Like PCBs in Soils Near E-Waste Dismantling Sites	SHAO Ke, YIN Wen-hua, ZHU Guo-hua, <i>et al.</i> (4434)
Chemical Form Changes of Exogenous Water Solution Fluoride and Bioavailability in Tea Garden Soil	CAI Hui-mei, PENG Chuan-yi, CHEN Jing, <i>et al.</i> (4440)
Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Vegetation Restoration of Different Types of Coal Mine Spoil Banks	ZHAO Ren-xin, GUO Wei, FU Rui-ying, <i>et al.</i> (4447)
Effects of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Environmental Phytoremediation in Coal Mine Areas	LI Shao-peng, BI Yin-li, KONG Wei-ping, <i>et al.</i> (4455)
Preliminary Analysis of Manganese Uptake Mechanism in the Hyperaccumulator <i>Phytolacca americana</i> L.	XU Xiang-hua, LI Ren-ying, LIU Cui-ying, <i>et al.</i> (4460)
Research on the Bioaccessibility of HgS by <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	CHEN Yan, WANG Hui, SI You-bin (4466)
Study on IEUBK Model Localization Based on Behavior Parameters of Children from Southwestern China	JIANG Bao, CUI Xiao-yong (4473)
Sorption and Desorption Characteristics of Different Structures of Organic Phosphorus onto Aluminum (Oxyhydr) Oxides	LIU Fei, ZHANG Yan-yi, YAN Yu-peng, <i>et al.</i> (4482)
Study on the Occurrence of Ferrum in Coal by Ultrasound-assisted Sequential Chemical Extraction	XIONG Jin-yu, LI Han-xu, DONG Zhong-bing, <i>et al.</i> (4490)
A Review of Uptake, Translocation and Phytotoxicity of Engineered Nanoparticles in Plants	YANG Xin-ping, ZHAO Fang-Jie (4495)

《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11月15日 34卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 11 Nov. 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