

目次

疫情期间人为源减排对城市大气氧化性的影响	朱剑蓝, 秦墨梅, 朱嫣红, 胡建林 (617)
不同天气形势对南京地区双高污染的输送及潜在源区分析	秦阳, 胡建林, 孔海江 (626)
不同方法判定南京臭氧生成敏感区的差异	陈柑羽, 李勋, 李琳, 秦墨梅, 谢鸣捷, 王鸣, 李婧祺, 胡建林 (635)
2006~2021年夏半年上海臭氧浓度特征及其大气环流背景分析	郑庆锋, 梁萍, 段玉森, 林燕芬, 张宋嘉, 徐卫忠 (645)
基于大气成分观测网的山西省近地面O ₃ 体积分数分布特征	李莹, 王淑敏, 裴坤宁, 闫世明, 孙鸿娉, 张逢生, 高兴艾 (655)
伊宁市夏季大气臭氧生成机制及减排策略	王文婷, 谷超, 李丽明, 李新琪, 郑镇森, 耿春梅, 王晓丽, 杨文 (668)
运城市四季VOCs特征、来源及臭氧形成敏感物种	阴世杰, 刘新翌, 刘亚非, 李晨露, 张晨, 张欢, 王正, 程强 (678)
郑州市秋冬季污染过程中大气VOCs污染特征、来源解析及活性分析	赖梦洁, 张栋, 于世杰, 宋鑫帅, 李晓, 张瑞芹 (689)
郑州市PM _{2.5} 中有机酸的污染特征、来源解析及二次生成	李子涵, 董喆, 尚瑞琪, 孔梓涵, 李晓, 张瑞芹 (700)
中国三大城市群PM _{2.5} 浓度非线性变化分析	吴舒祺, 顾杨旸, 张天岳, 赵文吉 (709)
基于LEAP模型的临港新片区中长期碳排放预测及减排潜力分析	吴琮, 马昊, 任洪波, 郭明星, 陈鹏, 李琦芬 (721)
碳交易背景下中国华北地区碳代谢格局变化	郑宏媚, 沈方, 许光耀, 关欣 (732)
考虑区域特点和车型差异的氢燃料电池汽车全生命周期减碳预测分析	马菁, 蔡旭, 张春梅, 兰利波, 陈轶嵩, 付佩 (744)
我国主要河流水系硝态氮污染特征及定量源解析	韦英怀, 胡敏鹏, 陈丁江 (755)
不同时空尺度下土地利用结构与空间格局对苏州河水质的影响	谭娟, 熊丽君, 王卿, 任志文, 朱丹丹, 王敏 (768)
深圳市2015~2021年雨源型河流水质时空变化及其对降雨的响应	韦必颖, 成建梅, 苏晓煜, 程天舜 (780)
河南黄河改道区浅层地下水化学特征与主控污染源解析	王帅, 任宇, 郭红, 曹文庚, 李祥志, 肖舜禹 (792)
北京西山岩溶地下水化学特征及成因分析	郭高轩, 代垠东, 许亮, 朱琳, 欧志亮, 戚琦, 辛宝东 (802)
店埠河流域地表水-地下水水化学特征及其成因分析	郑涛, 秦先燕, 吴剑雄 (813)
张家口地区枯水期地下水水化学特征及其成因机制分析	金爱芳, 殷秀兰, 李长青, 李文娟, 庞菊梅, 金晓媚 (826)
黄河中下游典型抗性细菌及抗性基因污染分布	闵威, 高明昌, 孙绍芳, 宋茜茜, 邱立平 (837)
制药废水中抗生素抗性的污染特征、检测手段和控制方法	彭安萍, 高虎, 张新波 (844)
水体组分对聚苯乙烯纳米颗粒聚沉行为的影响	汤端阳, 郑文丽, 陈关潼一, 陈思莉, 陈尧, 赵晓丽, 汪浩 (854)
富磷废弃钙基生物炭对水体中铅的去除	刘天, 吕思璐, 杜兴国, 程敏, 谢燕华 (862)
壳聚糖改性生物炭的制备及其对水溶液中Cd ²⁺ 的吸附机制	姜凌, 安靖玥, 岳小琼, 李亚雄, 夏秋乐, 祝婷文佳, 柴丽红 (873)
硼掺杂介孔炭吸附四环素的效能与机制	邹震, 许路, 乔伟, 唐茂森, 金鹏康 (885)
磁性含磷油茶壳生物炭对水中磺胺甲噁唑的吸附特性	韩帅鹏, 唐李文, 刘勤, 林家亮, 李晓慢, 程建华, 胡勇有 (898)
广东省高分辨率温室气体排放清单及特征	卢清, 唐明双, 廖彤, 黄志炯, 钟庄敏, 宋佩珊, 沈劲, 张智胜, 梁小明, 孙家仁, 陈来国 (909)
辽河口“退塘还湿”修复区生态系统CO ₂ 交换及其环境调控	刘思琪, 陈虹, 邢庆会, 程浩, 韩建波, 徐雪梅 (920)
生物炭施用两年后对热带地区稻菜轮作土壤N ₂ O和CH ₄ 排放的影响	胡煜杰, 唐瑞杰, 胡天怡, 陈琦琦, 汤水荣, 阮延正, 孟磊 (929)
生物炭改良盐碱地研究与应用进展	魏盈, 焦乐, 张鹏, 刘福德, 肖辉, 董昱辰, 代红文 (940)
免耕对农田土壤团聚体的影响研究: Meta分析	徐艺萍, 饶越悦, 孟艳, 温媛, 孟维伟, 王旭清, 李宗新, 刘开昌, 代红翠 (952)
黔中喀斯特地区典型县域碳储量时空演变及多情景模拟预测: 以普定县为例	李月, 罗红芬 (961)
不同改良剂对酸性紫色土团聚体和有机碳的影响	李越, 徐曼, 谢永红, 王颖, 黄容, 谢军, 王子芳, 高明 (974)
Ca改性生物炭对土壤磷赋存形态影响及稳定化机制	张超, 翟付杰, 单保庆 (983)
秦岭中段不同恢复阶段弃耕农田植物多样性变化及其驱动因素	闫成龙, 薛悦, 王艺菲, 康海斌, 王得祥 (992)
我国典型制药厂污染场地中抗生素的污染特征及生态风险	杨炯彬, 黄争, 赵建亮, 何良英, 刘有胜, 胡立新, 石义静, 应光国 (1004)
广州市土壤多环芳烃污染特征及风险评估	邹子航, 陈莲, 张培珍, 王雨茜, 王振江, 林森, 唐翠明, 罗国庆, 钟建武, 李智毅, 王圆 (1015)
基于源导向的土壤重金属风险评价及管控因子分析	潘泳兴, 陈盟, 王樯樯 (1026)
基于Monte-Carlo模拟的湖南省典型工厂周边农田土壤重金属区域潜在生态风险特征及来源解析	罗豪杰, 潘俊, 陈小霞, 张敏, 沈良辰, 李歆, 丁平, 蔡丹, 蔡立梅, 胡国成 (1038)
基于参数优化和蒙特卡罗模拟的砷污染地块健康风险评估	袁贝, 刘虎鹏, 杜平, 陈娟, 张云慧, 张昊 (1049)
基于APCS-MLR和PMF模型的赤泥堆场周边耕地土壤重金属污染源解析	沈智杰, 李杰芹, 李彩霞, 廖泽源, 梅楠, 罗程钟, 王定勇, 张成 (1058)
PE-Cd复合污染土壤中Cd释放迁移特征及机制	王迪, 徐绍辉, 耶明艳, 林青 (1069)
氯代乙烯的厌氧微生物还原脱氯特性	李伟, 刘贵平, 刘峻, 吕良华, 乔文静, 余欣, 张晓旻, 蒋建东 (1080)
昭通市农田土壤和蔬菜重金属污染评价及相关性分析	张好, 董春雨, 杨海婵, 孙思静, 韩宇, 黄祖志, 张乃明, 包立 (1090)
钝化剂对轻中度镉污染农田的安全利用效果	王晓晶, 张东明, 曹阳, 吕家琰, 代允超 (1098)
氧化石墨烯负载铁锰复合材料对镉污染土壤的钝化修复	袁婧, 吴骥子, 连斌, 袁峰, 孙洪, 田欣, 赵科理 (1107)
关键生育期施加外源锌灌溉水对水稻镉吸收转运的影响	周霞, 胡雨丹, 周航, 陈琼, 谭文韬, 曾鹏, 辜娇峰, 廖柏寒 (1118)
外源锌对镉胁迫下玉米幼苗生长及根系构型分级的影响	张辉红, 魏畅, 柳海涛, 张静静, 刘芳, 赵颖, 张雪海, 李鸽子, 姜瑛 (1128)
稀土元素铈对镉胁迫下小麦幼苗生长的缓解效应	张静静, 徐正阳, 焦秋娟, 范丽娜, 刘芳, 赵颖, 宋佳, 化党领, 李鸽子, 柳海涛 (1141)
根施伯克氏菌对小麦镉吸收转运的两段式阻控作用	郭佳佳, 王常荣, 刘仲齐, 黄青青, 张长波, 黄永春, 薛卫杰, 孙约兵 (1150)
高密度聚乙烯微塑料与氯噻磺隆对大豆生长和根际细菌群落的复合胁迫效应	胡晓玥, 滑紫微, 姚伦广, 杜丽, 牛秋红, 李玉英, 闫路, 陈兆进, 张浩 (1161)
微塑料的人体富集及毒性机制研究进展	包亚博, 王成尘, 彭吾光, 依代倩, 向萍 (1173)
机器学习在微塑料识别与环境风险评估中的应用研究进展	白润昊, 范瑞琪, 刘琪, 刘勤, 严昌荣, 崔吉晓, 何文清 (1185)
微塑料与农田土壤中典型污染物的复合污染研究进展	侯宇晴, 李冰, 王金花, 宋文慧, 王兰君, 王军, 朱鲁生 (1196)
水中微/纳塑料电化学检测及去除的研究进展	郑伟康, 刘振中, 项晓方 (1210)
基于分布式认知理论的农户面源污染治理支付意愿影响因素	郭晨浩, 李林霏, 夏显力 (1222)

氯代乙烯的厌氧微生物还原脱氯特性

李伟¹, 刘贵平¹, 刘峻¹, 吕良华², 乔文静^{1*}, 余欣¹, 张晓旻¹, 蒋建东¹

(1. 南京农业大学生命科学学院, 农业农村部农业环境微生物重点实验室, 南京 210095; 2. 江苏省环境科学研究院, 江苏省环境工程重点实验室, 南京 210036)

摘要: 四氯乙烯(PCE)和三氯乙烯(TCE)是地下水中典型的卤代有机化合物, 严重威胁生态环境与人体健康. 为获得氯代乙烯高效厌氧降解菌剂并探究其在污染地下水中的应用潜能, 利用某工业污染场地的地下水, 通过投喂PCE或TCE进行长期富集培养, 获得了可将PCE和TCE完全脱氯成无毒乙烯的厌氧菌剂W-1. 菌剂W-1的PCE和TCE脱氯速率分别是 $(120.1 \pm 4.9) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $(172.4 \pm 21.8) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$. 16S rRNA基因扩增子测序和qPCR结果表明, 98.3 μmol PCE还原脱氯至顺-1,2-二氯乙烯(*cis*-1,2-DCE)时, *Dehalobacter*丰度从1.9%增长至57.1%, 基因拷贝数每释放1 μmol Cl⁻增加 1.7×10^7 copies; *cis*-1,2-DCE完全还原脱氯至乙烯时, *Dehalococcoides*丰度从1.1%增长至53.8%; PCE完全还原脱氯至乙烯过程中 *Dehalococcoides*基因拷贝数每释放1 μmol Cl⁻增加 1.7×10^8 copies. 以上结果说明 *Dehalobacter*与*Dehalococcoides*协同作用实现PCE完全降解解毒. 当菌剂W-1以TCE为电子受体时, 222.8 μmol TCE完全还原脱氯至乙烯时, *Dehalococcoides*丰度从 $(29.1 \pm 2.4)\%$ 增长至 $(77.7 \pm 0.2)\%$, 基因拷贝数每释放1 μmol Cl⁻增加 $(1.9 \pm 0.4) \times 10^8$ copies. 结合PCR和Sanger测序, 获得了菌剂W-1中主要脱卤菌*Dehalococcoides* LWT1较完整的16S rRNA基因序列, 其与*D. mccartyi* strain 195 16S rRNA基因序列相似度达100%. 将菌剂W-1添加至受TCE($418.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)污染的地下水中, 28 d内实现了 $(69.2 \pm 9.8)\%$ 的TCE被完全脱毒至乙烯, TCE脱氯速率为 $(10.3 \pm 1.5) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$. 研究成果可为PCE或TCE污染地下水开展厌氧微生物修复提供菌剂资源和理论指导.

关键词: 四氯乙烯(PCE); 三氯乙烯(TCE); 厌氧微生物还原脱氯; 有机卤呼吸细菌; 脱卤拟球菌(*Dehalococcoides*)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2024)02-1080-10 DOI: 10.13227/j.hjks.202302134

Characterization of Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Anaerobic Consortium

LI Wei¹, LIU Gui-ping¹, LIU Jun¹, LÜ Liang-hua², QIAO Wen-jing^{1*}, YU Xin¹, ZHANG Xiao-yang¹, JIANG Jian-dong¹

(1. Key Laboratory of Agricultural and Environmental Microbiology, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Environmental Engineering, Jiangsu Provincial Academy of Environmental Science, Nanjing 210036, China)

Abstract: Tetrachloroethylene (PCE) and trichloroethylene (TCE) are typical volatile halogenated organic compounds in groundwater that pose serious threats to the ecological environment and human health. To obtain an anaerobic microbial consortium capable of efficiently dechlorinating PCE and TCE to a non-toxic end product and to explore its potential in treating contaminated groundwater, an anaerobic microbial consortium W-1 that completely dechlorinated PCE and TCE to ethylene was obtained by repeatedly feeding PCE or TCE into the contaminated groundwater collected from an industrial site. The dechlorination rates of PCE and TCE were $(120.1 \pm 4.9) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ and $(172.4 \pm 21.8) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ in W-1, respectively. 16S rRNA gene amplicon sequencing and quantitative PCR (qPCR) showed that the relative abundance of *Dehalobacter* increased from 1.9% to 57.1%, with the gene copy number increasing by 1.7×10^7 copies per 1 μmol Cl⁻ released when 98.3 μmol of PCE was dechlorinated to *cis*-1,2-dichloroethylene (*cis*-1,2-DCE). The relative abundance of *Dehalococcoides* increased from 1.1% to 53.8% when *cis*-1,2-DCE was reductively dechlorinated to ethylene. The growth yield of *Dehalococcoides* gene copy number increased by 1.7×10^8 copies per 1 μmol Cl⁻ released for the complete reductive dechlorination of PCE to ethylene. The results indicated that *Dehalobacter* and *Dehalococcoides* cooperated to completely detoxify PCE. When TCE was used as the only electron acceptor, the relative abundance of *Dehalococcoides* increased from $(29.1 \pm 2.4)\%$ to $(77.7 \pm 0.2)\%$, and gene copy number increased by $(1.9 \pm 0.4) \times 10^8$ copies per 1 μmol Cl⁻ released, after dechlorinating 222.8 μmol of TCE to ethylene. The 16S rRNA gene sequence of *Dehalococcoides* LWT1, the main functional dehalogenating bacterium in enrichment culture W-1, was obtained using PCR and Sanger sequencing, and it showed 100% similarity with the 16S rRNA gene sequence of *D. mccartyi* strain 195. The anaerobic microbial consortium W-1 was also bioaugmented into the groundwater contaminated by TCE at a concentration of $418.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The results showed that $(69.2 \pm 9.8)\%$ of TCE could be completely detoxified to ethylene within 28 days with a dechlorination rate of $(10.3 \pm 1.5) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$. This study can provide the microbial resource and theoretical guidance for the anaerobic microbial remediation in PCE or TCE-contaminated groundwater.

Key words: tetrachloroethene(PCE); trichloroethylene(TCE); anaerobic microbial reductive dechlorination; organohalide-respiring bacteria; *Dehalococcoides*

四氯乙烯(tetrachloroethene, PCE)和三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)是氯原子取代乙烯分子中氢原子形成的化合物, 被广泛用作干洗剂、金属脱脂溶剂、萃取剂和化工中间体等^[1-4]. 由于生产、利用、储存或者处理方式不当等一些原因, 氯代有机化合物产品的挥发、泄漏、污水排放和燃烧进入大气、土壤和地下水, 从而造成严重的环境污染^[5-7]. 在美国环

保署(EPA)的超级基金国家优先项目清单中, PCE和

收稿日期: 2023-02-17; 修订日期: 2023-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(42007214); 江苏省卓越博士后计划项目(2023ZB141); 中国博士后科学基金项目(2021M691614); 江苏省“双创博士”项目(JSSCBS20210278)

作者简介: 李伟(1997~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为地下水中卤代有机污染物的厌氧微生物修复, E-mail: 2021816123@stu.njau.edu.cn

* 通信作者, E-mail: qiaowenjing@njau.edu.cn

TCE作为常见污染物,其中至少有60%的地点发现了TCE^[2],有9%~34%的供水被认为存在TCE污染问题^[8]. PCE和TCE是地下水中第一和第三最常检出的挥发性有机化合物^[9]. 同时,PCE和TCE严重危害着人类健康,是33种优先有害物质之一^[8]. 有研究发现,PCE和TCE及其还原脱氯产物二氯乙烯(DCEs)、氯乙烯(vinyl chloride, VC)都会对人体健康造成严重危害. 触摸、食入和吸入等途径都可以使PCE和TCE进入体内^[10,11]. PCE蒸气的吸入可能造成中枢神经系统急性功能障碍、头晕、嗜睡和其他形式的抑郁症,而长期过量接触会导致神经行为功能缺陷^[12,13]. 接触TCE会对成人的内分泌系统、免疫系统和中枢神经系统造成严重影响,也会造成听说障碍、肝脏疾病、皮疹、肾脏疾病和血液疾病等^[2,13~16]. 接触高浓度的DCEs可能会导致肝脏异常,VC具有破坏DNA的特性,可能导致接触者患癌^[15,17].

由于氯代烯烃在地下水中普遍存在并会严重危害人类健康,治理和解决其污染问题近年来已引起了国内外的普遍关注. 在大多数含水层中,污染物都能被存在的微生物利用转化. 微生物修复与其他修复方式相比最大的优势在于容易原位修复、无次生污染和处置费用低. 国内外研究已经证明^[18~23],在厌氧条件下,PCE和TCE等氯代乙烯可以作为电子受体并利用微生物进行还原脱氯. 而且已经分离出许多能还原氯代烯烃的功能微生物,如*Dehalococcoides*^[24~26]、*Dehalobacter*^[27,28]、*Dehalogenimonas*^[29]和*Sulfurospirillum*^[30]等多种菌属. 其电子受体是有机卤化合物,电子供体是小分子有机酸,如H₂和甲酸等,经电子传递链还原脱卤并同时能够得到能量供自己生长,称为有机卤呼吸细菌(organohalide-respiring bacteria, OHRB)^[31,32]. 然而,它们对PCE和TCE的脱氯能力不同,只有部分脱卤细菌能够完全将其还原脱氯至无毒乙烯(ethylene, ETH),很多土著微生物只能还原脱氯至顺-1,2-二氯乙烯(*cis*-1,2-dichloroethene, *cis*-1,2-DCE)和VC,其它中间产物1,1-二氯乙烯(vinylidene chloride, 1,1-DCE)和反-1,2-二氯乙烯(*trans*-1,2-dichloroethylene, *trans*-1,2-DCE)极为少见,*cis*-1,2-DCE、VC和ETH为主要的脱氯产物^[33,34]. 1997年,Maymón-Gatell等^[25]首次在厌氧微生物菌群中分离出*D. mccartyi* strain 195,它是唯一能够使PCE还原脱氯为TCE并能够完全还原脱氯为ETH的菌株^[24]. 然而,PCE脱氯为*cis*-1,2-DCE比其再进一步脱氯更快,在热力学上更有利,最慢的脱氯步骤是VC最终转化为ETH^[35,36]. 因此,经常在受污染的地点观察到毒性更大的低氯代烯烃(*cis*-1,2-DCE和VC)的积累^[37,38]. 剩下的其他脱卤菌只能脱氯至中间产物*cis*-1,

2-DCE. 例如Suyama等^[39]分离得到*Desulfotobacterium* sp. strain Y51, Scholz-Muramatsu等^[40]分离得到的*Sulfurospirillum multivorans*和Holliger等^[27]分离得到的*Dehalobacter restrictus* strain PER-K23都只能把PCE和TCE脱氯成*cis*-1,2-DCE. 目前,富含*Dehalococcoides*的菌群(如KB-1)的生物强化已广泛用于北美或欧洲受氯代溶剂污染场地的原位修复^[41]. 然而,我国高效厌氧脱卤菌剂的缺乏,严重制约了TCE等卤代有机污染场地原位微生物修复技术的应用. 因此,获得一份高效的PCE/TCE厌氧微生物降解脱毒菌株是进行污染场地微生物修复的前提和基础,是今后修复污染场地的研究方向.

本研究在实验室条件下从受氯代烯烃污染的地下水中富集到一个氯代乙烯厌氧还原脱氯的富集菌群W-1,结合16S rRNA基因扩增子测序及荧光定量PCR(qPCR)技术阐明微生物群落结构组成以及脱氯功能菌,并探究菌剂在受TCE污染的地下水中的脱氯潜能,以期为地下水污染地原位修复提供菌株资源和理论指导.

1 材料与方法

1.1 供试试剂

PCE、TCE、甲酸钠和乙酸钠纯度均>99%,VC(2 000 μg·mL⁻¹,可溶于甲醇)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司.*cis*-1,2-DCE纯度>98%,购自安耐吉化学. ETH购自南京特种气体厂有限公司. 甲醇和乙醇纯度均>99.8%,购自国药集团化学试剂有限公司. 乳酸钠为分析纯AR,购自成都市科龙化工试剂厂. 土壤DNA提取试剂盒购自德国凯杰QIAGEN. 含重组质粒的*Escherichia coli* trans5α由中国科学院沈阳应用生态研究所严俊博士提供^[42]. 质粒小量制备试剂盒GK2004-50购自上海捷瑞生物工程有限公司. 本实验中厌氧培养基配方参照文献^[43].

1.2 供试菌群来源

建立微生物实验所用的地下水采自江苏省苏州市某污染场地,在厌氧手套箱内,地下水经0.22 μm滤膜抽滤,将滤膜转移至厌氧培养基中,以底物PCE和TCE为电子受体,以甲醇、乙醇、甲酸钠、乙酸钠和乳酸钠的混合物为碳源和电子供体进行富集培养,获得供试厌氧微生物富集培养液,定期转接保持菌液活性,并将此厌氧微生物菌群命名为W-1.

1.3 氯代乙烯还原脱氯菌群富集培养

1.3.1 富集培养体系构建

以1%(体积分数)转接量从富集培养液中取1.6 mL转接至含有158.4 mL厌氧基础培养基的250 mL密闭厌氧瓶中. 分别添加PCE和TCE作为电子受体

进行富集培养,监测其还原脱氯效果. 实验组 1 添加电子受体 PCE 的量约为 $98.3 \mu\text{mol}$ (水相浓度理论值 $616.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),混合电子供体中各物质的终浓度均为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,此实验瓶编号为 PCE-T1. 实验组 2 添加电子受体 TCE 的量约为 $111.4 \mu\text{mol}$ (水相浓度理论值 $696.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),混合电子供体中各物质的终浓度均为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,设置 3 个重复即 TCE-T1-1、TCE-T1-2 和 TCE-T1-3. 所有菌液均放于 30°C 恒温厌氧(内含体积比为 8:1:1 的 $\text{N}_2/\text{CO}_2/\text{H}_2$ 混合气)培养箱内(Coy, USA),于黑暗条件下静置培养.

1.3.2 微生物总 DNA 提取与 16S rRNA 基因扩增子测序

在富集培养液初始及底物还原脱氯完全阶段,即 PCE-T1 实验瓶第 0、36、58、72 和 79 d, TCE-T1-1 实验瓶第 0、36 和 40 d, TCE-T1-2 实验瓶第 0、34 和 40 d, TCE-T1-3 实验瓶第 0、34 和 86 d, 无菌状态下抽取 4 mL 富集培养液至 2 mL 无菌离心管,在 $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min,移去上清液留沉淀. 之后按照 QIAGEN DNeasy® PowerSoil® Pro Kit Handbook 流程进行 DNA 提取,最后用 50 μL 灭菌超纯水洗脱 DNA 至 1.5 mL 离心管内,于 -20°C 保存备用. 部分 DNA 样品(20 μL)利用高通量测序平台 Illumina MiSeq PE300(Illumina, San Diego)进行 16S rRNA 基因扩增子测序(上海美吉生物医药科技有限公司). 使用通用引物 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 907R(5'-CCGTCAATTCCTTTGACTTT-3')扩增细菌和古生菌的 16S rRNA 基因序列 V4 和 V5 区. 随后在美吉生物公司并利用其在线平台(www.majorbio.com)分析测序数据. 将 MiSeq 测序得到的 PE reads(paired-end reads)进行样本拆分,然后根据测序质量对双端 Reads 进行质控和过滤,拼接得到优化数据,之后使用 QIIME2 中序列降噪方法(DADA2)处理优化数据^[44, 45],从而得到 ASV(Amplicon Sequence Variant)代表序列和丰度信息,使用物种注释数据库 silva 138/16s 对 ASV 进行物种分类^[46].

1.3.3 荧光定量 PCR

采用实时定量聚合酶链反应(qPCR)方法,利用 16S rRNA 基因特异性引物(引物信息见表 1)追踪实验瓶(PCE-T1 实验瓶第 0、36、58、72 和 79 d, TCE-T1-1 实验瓶第 0、36 和 40 d, TCE-T1-2 实验瓶第 0、34 和 40 d, TCE-T1-3 实验瓶第 0、34 和 86 d)中 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 的基因拷贝数. 进行定量的标品为质粒 DNA,以 10 倍梯度稀释(基因拷贝数在 $10^1 \sim 10^8 \text{ copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$),该质粒包含克隆的 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 16S rRNA 基因片段. qPCR 反应体系中有 $2 \times \text{ChamQ Universal SYBR qPCR}$

Master Mix(Vazyme #Q711)10 μL 、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 上游和下游引物各 0.5 μL 及 DNA 模板 2 μL (空白对照和稀释 DNA),剩余用 ddH₂O 补充至 20 μL . qPCR 反应在 QuantStudio 6 Flex(Applied Biosystems, Waltham, MA)进行, qPCR 程序为两步法即 50°C 下维持 2 min, 95°C 10 min 开始预变性,然后 40 次循环,每个循环下 95°C 变性 15 s, 60°C 退火和延伸 34 s, 熔解曲线程序为仪器默认设置. 每个质粒标品和 DNA 模板样品至少有 2 个技术重复.

1.3.4 Sanger 法测序获得脱卤菌完整的 16S rRNA 基因序列

利用两组引物 A 和 B(引物信息见表 1)扩增出 *Dehalococcoides* 16S rRNA 基因片段,通过 Sanger 测序,拼接获得接近其 16S rRNA 基因全长的核酸序列. A 组引物 27F-16S 与 *Dhc1350R*-16S, B 组引物 *Dhc730F*-16S 与 1492R-16S. 其中 27F-16S 与 1492R-16S 是常用细菌 16S rRNA 的一对通用引物, *Dhc730F*-16S 与 *Dhc1350R*-16S 是 He 等^[47]报道过的 *Dehalococcoides* 特异性引物. PCR 体系包括 25 μL $2 \times \text{Phanta Max Master Mix}$ (Vazyme #P525)、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 上游和下游引物各 2 μL , 总 DNA 模板 2 μL (未稀释), ddH₂O 19 μL , 共 50 μL . PCR 反应使用基因扩增仪(BIOER)进行, A 组引物扩增程序如下: 95°C 预变性 3 min; 95°C 变性 15 s, 随后 55°C 退火 30 s 和 72°C 延伸 40 s, 此反应 35 个循环; 最后在 72°C 下再延伸 5 min. B 组引物扩增程序中 72°C 延伸时间设置为 30 s, 其余与 A 组程序一致. 在 1% 的琼脂糖凝胶上运行检查 PCR 产物扩增的特异性与片段大小, 所得产物交由擎科生物科技有限公司(北京)测序, 最后将测序得到的两段核酸序列拼接, 之后在 EzBioCloud 数据库(<https://www.ezbiocloud.net/>)进行 16S rRNA 核酸序列比对, 初步确定与本研究菌群中脱卤菌 *Dehalococcoides* 相似性最高的菌株, 并利用已报道的部分 *Dehalococcoides*、*Dehalogenimonas* 和 *Dehalobacter* 的 16S rRNA 基因序列, 在 MEGA 软件上使用邻接法(neighbor-joining method)构建系统发育树.

1.4 菌群 W-1 在地下水环境污染的应用

采集 300 mL 受 TCE 污染的地下水, 因 TCE 的强挥发性和为保证样品初始条件一致性, 因此在实验前, 3 个平行样均外源添加 TCE 为唯一电子受体, 使其水相浓度为 $418.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 以模拟受 TCE 污染的地下水环境. 从富集培养液中取 150 mL 分 3 份, 在 $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心 20 min, 移去上清液留菌体沉淀. 每 250 mL 密闭厌氧瓶分装 100 mL 地下水, 50 mL 菌体沉淀, 外加混合电子供体中各物质的终浓度均为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 设置 3 个重复即 Y-1、Y-2 和 Y-3. 放

表 1 引物信息
Table 1 Primer sequences used for qPCR and PCR

目标基因	引物名称	引物序列(5'-3')	目的	文献
<i>Dhc</i> 16S rRNA	<i>Dhc</i> 1200F(SetJ)-16S	CTGGAGCTAATCCCCAAAGCT	qPCR	[48]
	<i>Dhc</i> 1271R(SetJ)-16S	CAACTTCATGCAGGCGGG		
Universal bacteria	27F-16S	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	PCR	[49]
	1492R-16S	GGTACCTTGTTCACGACTT		
<i>Dhc</i> 16S rRNA	<i>Dhc</i> 730F-16S	GCGGTTTTCTAGGTTGTC	PCR	[47]
	<i>Dhc</i> 1350R-16S	CACCTTGCTGATATGCGG		
<i>Dhb</i> 16S rRNA	<i>Dhb</i> 881F-16S	CGACGCAACGCCGAAGAA	qPCR	[48]
	<i>Dhb</i> 1002R-16S	CGAAGGGCACTCCCATATCTC		

于 30℃ 恒温厌氧培养箱内,于黑暗条件下静置培养,定期取样测量其中的污染物降解转化情况。

1.5 分析测试方法

应用气相色谱 GC-2010 Plus(SHIMADZU,日本)火焰电离(GC-FID)检测器对 PCE 和 TCE 及其目标产物 *cis*-1,2-DCE、VC 和 ETH 进行定性定量检测。校准标样在超纯水中制备,外标法定量,取 1 mL 培养液样品加入到含有 5 mL 盐酸酸化超纯水(pH < 2)的 20 mL 顶空瓶中,密封测样。检测方法如下:样品在顶空进样器 HS-10(SHIMADZU,日本)中于 80℃ 恒温 22 min;加压平衡后,顶空气体样品通过气化室注入气相色谱柱(Agilent HP-PLOT/Q+PT, 30 m × 0.53 mm, 40 μm);柱温箱升温程序:初始温度 150℃,保持 6 min,以 20℃·min⁻¹ 升至 200℃,保持 8 min;载气为氮气,柱流速 5 mL·min⁻¹。

2 结果与讨论

2.1 氯代乙烯厌氧微生物的富集及还原脱氯特性研究

2.1.1 氯代乙烯的厌氧微生物还原脱氯

在实验组 1 中 PCE-T1 添加 98.3 μmol(水相浓度理论值为 616.4 μmol·L⁻¹)PCE,PCE 被菌液依次还原脱氯为 TCE、*cis*-1,2-DCE 和 VC,并最终脱氯为无毒 ETH,如图 1(a)。在第 0 d 加入 PCE 后,其完全还原脱氯为无毒 ETH 的速率为 8.7 μmol·(L·d)⁻¹,在第 72 d 和 79 d 加入等量 PCE 后还原脱氯速率显著加快,达到(120.1 ± 4.9) μmol·(L·d)⁻¹。

实验组 2 中添加 111.4 μmol(水相浓度理论值为 696.3 μmol·L⁻¹)TCE,各实验瓶中 TCE 逐渐减少同时中间产物 *cis*-1,2-DCE 和 VC 积累增加,并很快被进一步还原脱氯成无毒 ETH,如图 1(b)~1(d)。TCE-T1-1 和 TCE-T1-2 在第 0 d 加入 TCE 后 35 d 左右完全还原脱氯成无毒 ETH,还原脱氯速率为(19.5 ± 1.3) μmol·(L·d)⁻¹,在第 36 d 和 40 d 加入等量 TCE 后还原脱氯速率逐渐加快,在 5 d 左右即可完全还原脱氯成无毒 ETH,还原脱氯速率为(172.4 ± 21.8)

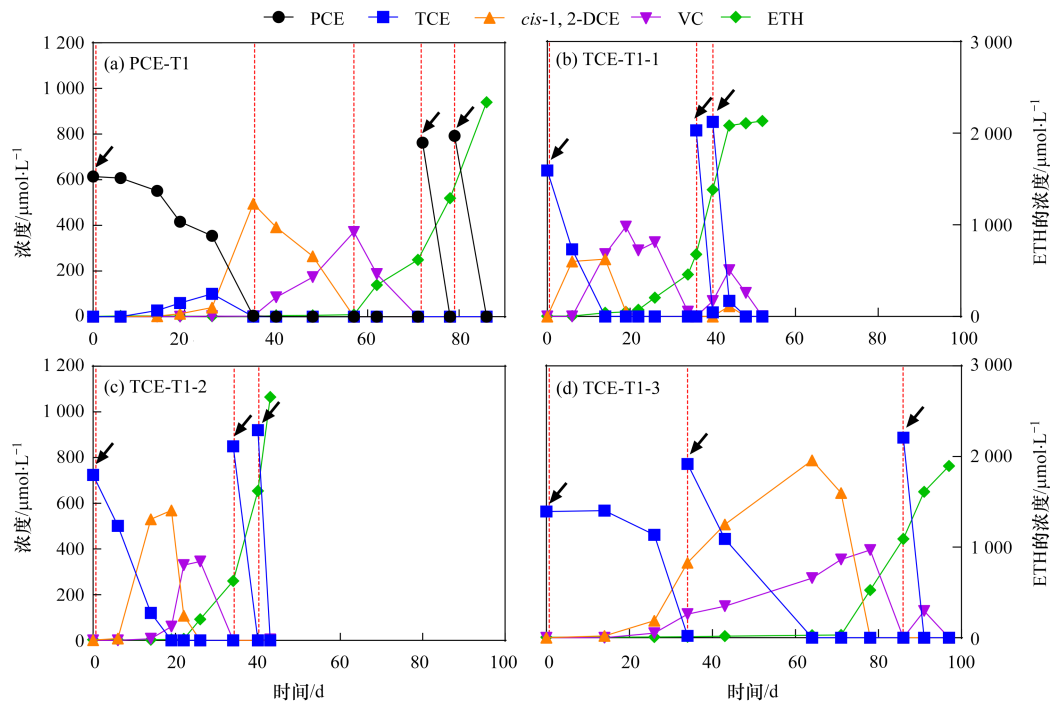
μmol·(L·d)⁻¹。TCE-T1-3 在第 0 d 添加 TCE 后 34 d 还原脱氯成 *cis*-1,2-DCE,第 34 d 再次加入等量 TCE 后 86 d 完全还原脱氯成无毒 ETH,还原脱氯速率为 16.2 μmol·(L·d)⁻¹,同样,第 86 d 再次加入 TCE 后还原脱氯速率加快,在 11 d 即可完全还原脱氯成无毒 ETH,还原脱氯速率为 80.3 μmol·(L·d)⁻¹。

Hood 等^[50]进行的实验室研究中,包含 *Dehalococcoides* 的土著微生物 KB-1TM 可以使 197.9 μmol·L⁻¹ 的 TCE 经过 31 d 完全还原脱氯为 ETH,而 563.2 μmol·L⁻¹ 的 TCE 经过 52 d 只能有 97% 能被脱氯为 ETH,会造成大量的 VC 的积累。Schaefer 等^[51]利用 SDC-9TM 菌群使 80 μmol·L⁻¹ 的 TCE 完全还原脱氯为 ETH。本研究中的厌氧微生物菌群 W-1 同样能够将 PCE 依次转化为 TCE、*cis*-1,2-DCE 和 VC,并最终转化为无毒 ETH,实现氯代乙烯的彻底还原脱氯。616.4 μmol·L⁻¹ 的 PCE 最快经过 6 d 可以完全还原脱氯为 ETH,696.3 μmol·L⁻¹ 的 TCE 最快只需 4 d 可以完全还原脱氯为 ETH。W-1 与 KB-1TM 和 SDC-9TM 两种国际上知名商业化菌剂相比(见表 2),其还原脱氯的效率远远高于 KB-1TM,而相对于 SDC-9TM 虽然效率比较低但能还原更高浓度的 TCE。

2.1.2 氯代乙烯厌氧脱氯富集菌液的微生物种群结构

通过 16S rRNA 基因扩增子测序,分析 PCE-T1 实验瓶中污染物依次脱去氯原子后富集菌液的微生物群落组成变化,以及 TCE-T1-1、TCE-T1-2 和 TCE-T1-3 这 3 个富集菌液中与初始时刻相比在连续添加 TCE 后,其脱去 1 个氯原子为 *cis*-1,2-DCE 及脱去 3 个氯原子为 ETH 污染物转化过程相应的微生物群落组成变化。

在 PCE-T1 富集菌液中的微生物群落结构中有 16 个属至少在 1 个样品中相对丰度大于 1%,如图 2(a)。此富集菌液中 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 的相对丰度较高,在 PCE 脱去 2 个氯原子形成 *cis*-1,2-DCE 这一过程即 Day0 ~ Day36, *Dehalococcoides* 丰度从 28.9% 降低至 1.1%,*Dehalobacter* 丰度从 1.9% 增



(a) 富集培养液中 PCE 的脱氯动态; (b) ~ (d) 富集培养液中 TCE 的脱氯动态; 箭头表示补加 98.3 μmol (水相浓度理论值为 616.4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) PCE 或 111.4 μmol (水相浓度理论值为 696.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) TCE, 竖虚线表示提取 DNA 的时间

图 1 富集培养液中氯代乙烯的脱氯动态

Fig. 1 Dechlorination dynamics of chlorinated ethylene in the enrichment

表 2 与知名菌剂在实验室条件下的脱氯效果比较¹⁾

Table 2 Comparison of dechlorination effects of well-known microbial inoculum under laboratory conditions

名称	初始浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		产 ETH 量/%	最快脱氯速率/ $\mu\text{mol}\cdot(\text{L}\cdot\text{d})^{-1}$	生长量/copies·mL ⁻¹
	PCE	TCE			
KB-1	—	197.9	100.0	6.4	—
	—	563.2	97.0	10.5	—
SDC-9	—	80.0	100.0	291.2	2.8×10^7
W-1	—	696.3	100.0	172.4 ± 21.8	$3.6 \pm 1.7 \times 10^8$
	616.4	—	100.0	120.1 ± 4.9	6.7×10^8

1) 生长量为主要功能菌 *Dehalococcoides*, 因 *Dehalobacter* 相对 *Dehalococcoides* 较少故忽略不计; “—” 表示文章中没有相关数据

长至 57.1%, 而随着 *cis*-1,2-DCE 脱去氯原子至 ETH 即 Day36 ~ Day72, *Dehalococcoides* 从 1.1% 增长至 53.8%, *Dehalobacter* 从 57.1% 降低至 20.1%。当第二次添加的 PCE 完全还原脱氯至 ETH 时即 Day79, *Dehalococcoides* (67.5%) 和 *Dehalobacter* (21.4%) 两者占比高达 88.9%。综上结果表明, 负责 PCE 还原脱氯的主要菌株为 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter*, 其中 *Dehalobacter* 参与 PCE 至 *cis*-1,2-DCE 这一过程。

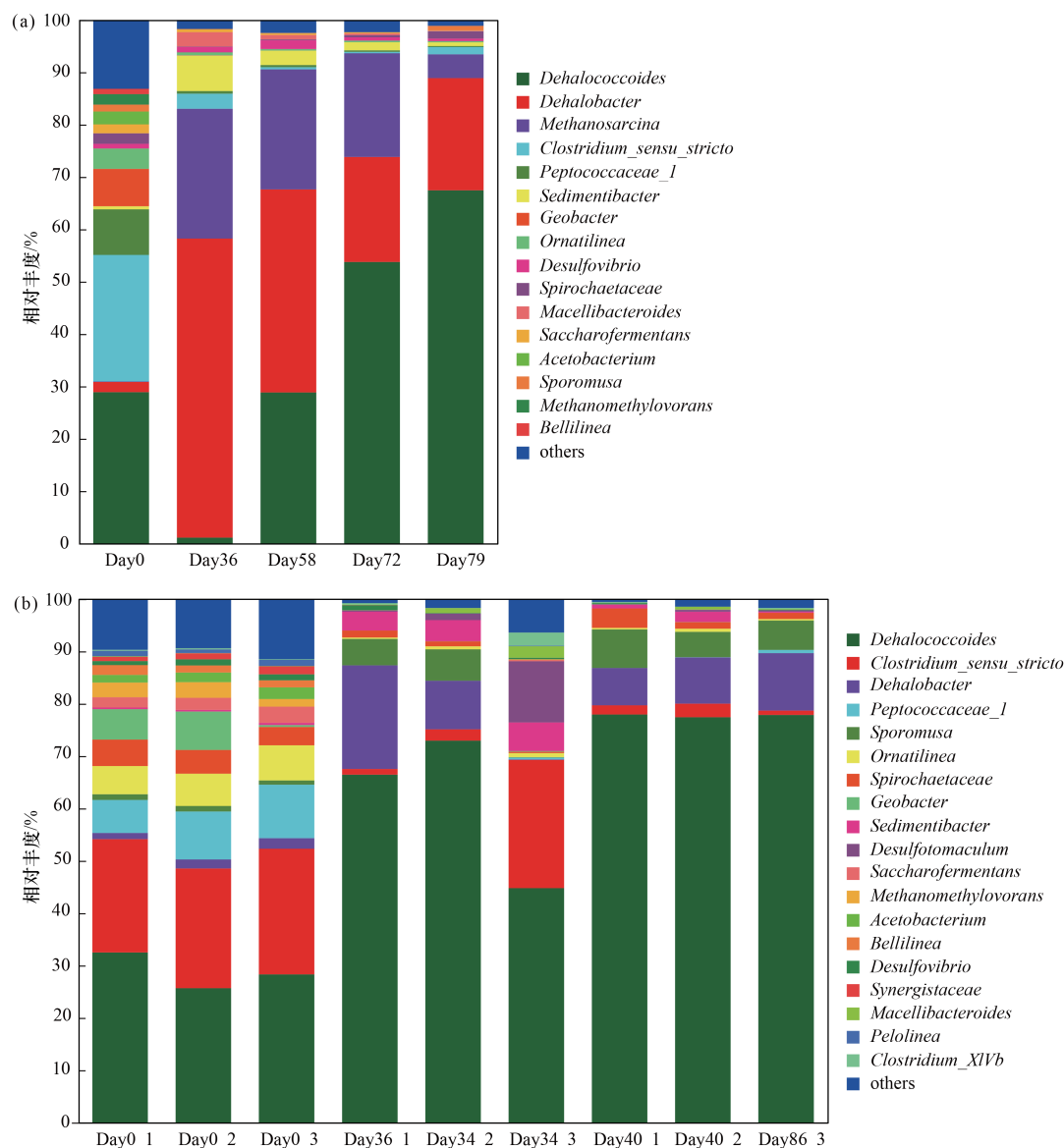
在以 TCE 作为电子受体的实验组 2 中的微生物群落结构[图 2(b)]与以 PCE 作为电子受体的微生物群落结构相似, *Dehalococcoides* 的相对丰度最高。在 TCE-T1-1 和 TCE-T1-2 菌液进行两轮 TCE 完全还原脱氯为 ETH 这一过程即 Day0_1 ~ Day40_1 和 Day0_2 ~ Day40_2, *Dehalococcoides* 从 $(29.1 \pm 2.4)\%$ 增长至 $(77.7 \pm 0.2)\%$, *Dehalobacter* 从 $(1.5 \pm 0.2)\%$ 增长至

$(8.0 \pm 0.6)\%$ 。在 TCE-T1-3 菌液脱去 1 个氯原子成 *cis*-1,2-DCE 即 Day0_3 ~ Day34_3, *Dehalococcoides* 与初始时刻相比从 28.3% 增长至 44.8%, *Dehalobacter* 从 2.0% 降低至 0.1%, 第 34 d 补加 111.4 μmol 的 TCE 全部脱氯为 ETH 这一过程即 Day34_3 ~ Day86_3, *Dehalococcoides* 从 44.8% 增长至 77.9%, *Dehalobacter* 从 0.1% 增长至 11.0%。总之, 以 TCE 为电子受体的富集菌液经过两轮还原脱氯后即 Day40_1、Day40_2 和 Day86_3, *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 两者占比达 $(86.7 \pm 0.9)\%$ 。

无论是以 PCE 为电子受体还是以 TCE 为电子受体, 富集菌液经过两轮还原脱氯后都获得具有较高丰度脱卤菌的菌液, 其中 *Dehalobacter* 主要参与从 PCE 至 *cis*-1,2-DCE 这一过程的还原脱氯, 而 *Dehalococcoides* 负责 PCE 至 ETH 整个过程的还原脱

氯, 是此过程的主要脱卤菌. 有研究表明^[52, 53]氯代乙烯的还原脱氯与 *Dehalococcoides* 的丰度呈正相关, 虽然在很多地方都发现了 *Dehalococcoides* 菌种, 但是它们并不是普遍存在的, 它们的生长量和生长率比较低而且需要驯化的时间比较长, 而获得的 W-1 菌群中 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 两者占比最高达

88.9%. 因此高丰度脱卤菌富集菌群 W-1 可以高效地完成氯代乙烯的还原脱氯, 能够解决具有更大毒性的低氯代烯烃在环境中积累赋存的问题, 为氯代乙烯彻底还原脱氯为无毒 ETH 提供了微生物资源, 对受氯代乙烯污染地下水的环境修复具有现实意义.



(a) PCE为电子受体的富集菌液中微生物群落结构变化; Day0、Day36、Day58和Day72表示PCE-T1初始时刻及依次脱去氯原子后的群落结构; Day79表示第二次喂养PCE完全脱氯为ETH时的群落结构组成; (b) TCE为电子受体的富集菌液中微生物群落结构变化; Day0_1、Day0_2和Day0_3表示TCE-T1-1、TCE-T1-2和TCE-T1-3这三个重复初始时刻的群落结构组成; Day34_1和Day34_2表示TCE-T1-1和TCE-T1-2第一次完全脱氯为ETH时的群落结构组成; Day34_3表示TCE-T1-3第一次完全脱氯为cis-1, 2-DCE时的群落结构组成; Day40_1、Day40_2和Day86_3表示3个重复经过两轮喂养TCE完全脱氯为ETH时的群落结构组成

图2 PCE/TCE厌氧微生物群落结构

Fig. 2 Microbial community structure of PCE and TCE anaerobic microorganisms

2.1.3 功能脱卤菌 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 生长率计算

基于16S rRNA基因扩增子测序结果, 为了研究 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 伴随PCE和TCE脱氯过程的生长情况, 本研究利用qPCR技术对实验瓶

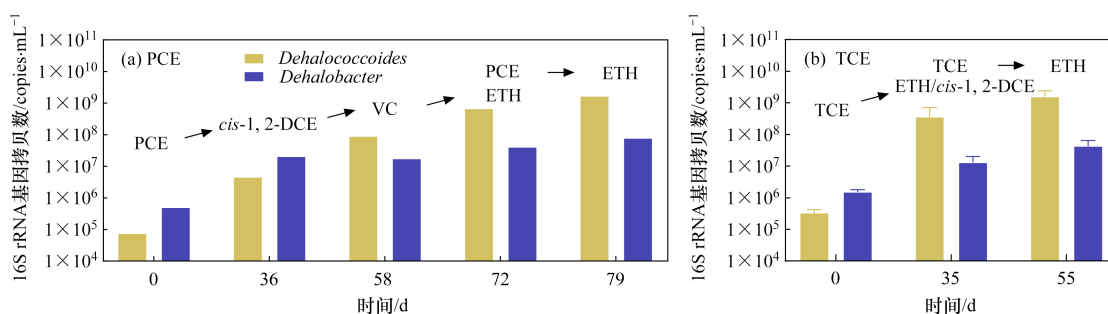
(PCE-T1实验瓶第0、36、58、72和79 d; TCE-T1-1实验瓶第0、36和40 d; TCE-T1-2实验瓶第0、34和40 d; TCE-T1-3实验瓶第0、34和86 d)的功能脱卤菌在样品中的基因拷贝数进行绝对定量.

不同培养天数 *Dehalococcoides* 的基因拷贝数结

果显示(图3),第0~79 d即经过两轮投喂,共196.6 μmol PCE完全脱氯至ETH这一过程,PCE-T1实验瓶中 *Dehalococcoides* 的16S rRNA基因拷贝数从 $7.3 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 显著增长到 $1.7 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$,每释放1 μmol Cl^- 增加 $1.7 \times 10^8 \text{ copies}$. 同样以TCE为电子受体的3个实验瓶第0~55 d即经过两轮投喂,共222.8 μmol TCE完全脱氯至ETH这一过程, *Dehalococcoides* 的16S rRNA基因拷贝数从 $(3.2 \pm 0.5) \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 显著增长到 $(1.6 \pm 0.4) \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$,每释放1 μmol Cl^- 增加 $(1.9 \pm 0.4) \times 10^8 \text{ copies}$. 上述结果进一步证明, *Dehalococcoides* 是PCE至ETH整个过程的还原脱卤菌.

对于不同培养天数 *Dehalobacter* 的基因拷贝数

结果(图3),PCE-T1实验瓶中,第0~36 d即98.3 μmol PCE完全脱去2个氯原子成 *cis*-1,2-DCE时, *Dehalobacter* 的16S rRNA基因拷贝数 $5.0 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增长至 $2.1 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$,每释放1 μmol Cl^- 增加 $1.7 \times 10^7 \text{ copies}$. 而第36~72 d即 *cis*-1,2-DCE再脱去氯原子至ETH时, *Dehalobacter* 增加缓慢,这一结果表明 *Dehalobacter* 只参与从TCE至 *cis*-1,2-DCE这一过程的还原脱氯. 以TCE为电子受体的3个实验瓶经过两轮投喂共222.8 μmol TCE即第0~55 d, *Dehalobacter* 的16S rRNA基因拷贝数从 $(1.5 \pm 0.1) \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增长到 $(4.2 \pm 1.1) \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$,每释放1 μmol Cl^- 增加 $(4.9 \pm 0.1) \times 10^7 \text{ copies}$.



(a) PCE-T1 富集菌液中 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 微生物基因拷贝数变化; (b) TCE-T1-1、TCE-T1-2 和 TCE-T1-3 富集菌液中 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 微生物基因拷贝数变化; 横坐标 35 d 和 55 d 为 3 个实验瓶取样时间中间值, ETH/*cis*-1,2-DCE 表示 TCE-T1-1 和 TCE-T1-2 实验瓶中 111.4 μmol TCE 第一次完全脱氯为 ETH, TCE-T1-3 实验瓶中 111.4 μmol TCE 第一次完全脱氯为 *cis*-1,2-DCE; 箭头表示相应的污染物转化过程

图3 不同培养天数 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 的基因拷贝数

Fig. 3 Gene copy numbers of *Dehalococcoides* and *Dehalobacter* on different culture days

2.1.4 *Dehalococcoides* 菌株鉴定

利用核酸电泳扩增与 Sanger 测序本研究获得了两段大小分别为 1 223 bp 与 734 bp 长度的核酸序列,最终拼接得到 1 398 bp 的片段,接近 16S rRNA 基因序列全长,即获取了 *Dehalococcoides* 较完整的 16S rRNA 基因序列. EzBioCloud 数据库中 Blast 结果和系统发育树(图4)显示,本富集液中菌株 *Dehalococcoides* sp. LWT1 16S rRNA 与 Maymó-Gatell 等^[25]在厌氧条件下分离出的脱卤拟球菌 *D. mccartyi* strain 195 16S rRNA 基因相似度达 100%.

2.1.5 有机卤呼吸细菌在氯代乙烯还原脱氯中的作用

微生物群落是微生物菌种之间采用多种方式相互作用从而形成复杂的网络生态系统. 有研究证明, OHRB 的共存和相互作用能够使得有机卤化物以更快的速率逐步转化为无毒状态. 例如, Ziv-El 等^[54]研究中 *Geobacter* 和 *Dehalococcoides* 混菌及 Rouzeau-Szynalski 等^[55]研究中 *Desulfitobacterium* 和 *Dehalococcoides* 混菌可彻底使 PCE 和 TCE 还原脱氯为无毒 ETH^[48]. 本研究结果表明, *Dehalococcoides* 和

Dehalobacter 是 PCE 至 ETH 这一过程主要的脱卤菌,可以使 PCE 和 TCE 完全还原脱氯为无毒 ETH,其中 *Dehalobacter* 只参与 PCE 至 *cis*-1,2-DCE 这一过程的还原脱氯,随着 *Dehalococcoides* 的生长量逐渐增加, *Dehalococcoides* 成为主要的优势菌种,因此 *Dehalobacter* 在后期会受到抑制从而使 *Dehalococcoides* 成为 PCE 至 ETH 整个过程主要的脱卤菌, Lai 等^[56]和 Chen 等^[57]的研究中也证明了这一点. *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 两者存在竞争机制,并且在某种程度上这种竞争机制能够促进有机卤呼吸代谢,从而使 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 共同生长,氯代乙烯快速脱氯. 通过分析并阐明物种间的相互作用关系,对于利用生物修复污染场地、实现有机卤化物完全解毒的终极目标具有重大意义.

2.2 菌群 W-1 在地下水污染环境的应用

添加 41.9 μmol (水相浓度理论值为 418.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) TCE 至实验瓶 Y-1、Y-2 和 Y-3 中,各实验瓶中 TCE 逐渐减少同时中间产物 *cis*-1,2-DCE、VC 和无毒 ETH 动态变化如图 5. 经过 28 d TCE 还原脱氯成无毒 ETH,产 ETH 量为 $(69.2 \pm 9.8)\%$,完全还原脱氯速

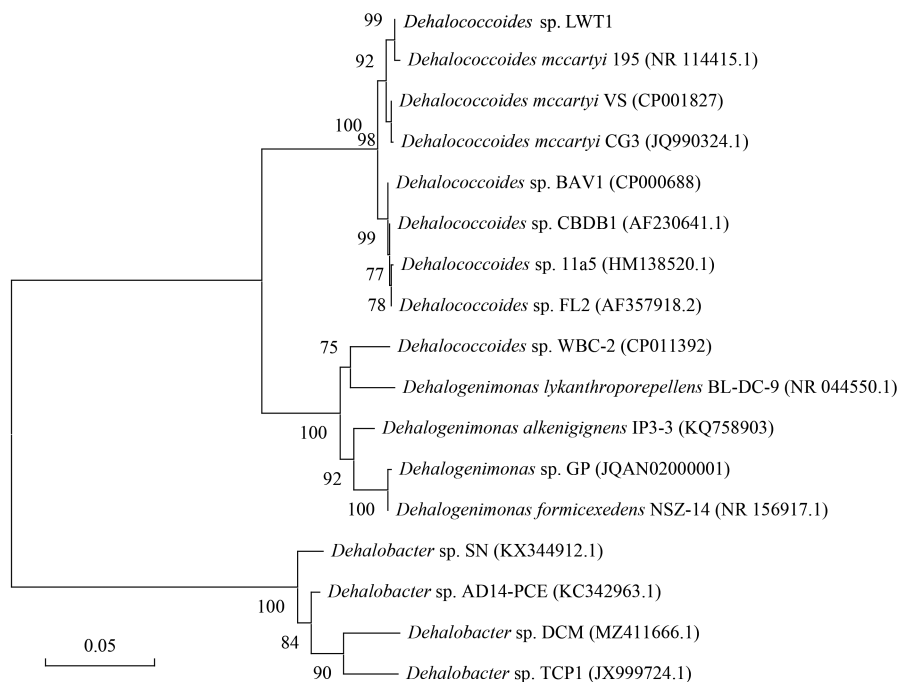


图4 基于TCE还原脱氯微生物16S rRNA序列的系统发育树

Fig. 4 The 16S rRNA phylogenetic tree of TCE reductive dechlorination bacteria

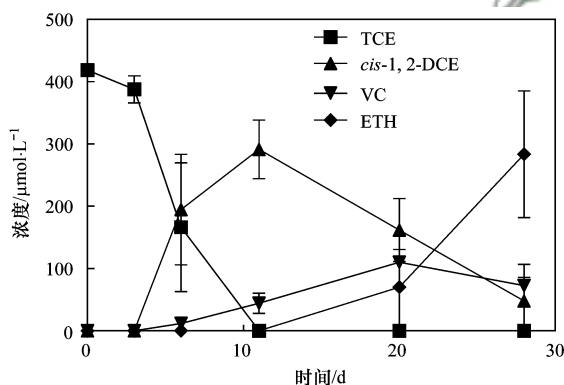


图5 菌群W-1在地下水污染环境中的脱氯动态

Fig. 5 Dechlorination dynamics of bacteriophage W-1 in groundwater contaminated environments

率为 $(10.3 \pm 1.5) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ 。

Hood 等^[50]进行的应用实验中,包含 *Dehalococcoides* 的土著微生物 KB-1TM使 $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCE 迅速脱氯至 VC,然而经过 5 个月停滞 VC 脱氯至 ETH. Schaefer 等^[51]利用 SDC-9TM菌群进行的土柱实验中 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DCE 经过 62 d 左右完全脱氯至 ETH. 而本研究中的厌氧微生物菌群 W-1 进行的应用实验中, $418.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCE 经过 28 d 产生大量 ETH,脱氯速率相较于菌剂 KB-1TM和 SDC-9TM是比较高的. 依据前期实验室富集培养可得,初期主要脱氯菌群较少,生长速率较慢,后期随脱氯菌群的增加, *Dehalococcoides* sp. LWT1 会逐渐成为优势菌种,脱氯速率会大大加快至最终实现 TCE 的彻底脱毒. 研究和发掘 TCE 还原脱氯菌剂并应用于实际受污染的地

下水环境,为地下水污染地原位修复提供重要菌株资源具有重大意义.

3 结论

(1)通过厌氧富集培养,获得了一份将 PCE / TCE 厌氧还原脱氯至无毒 ETH 的高效厌氧菌剂 W-1, PCE、TCE 的脱氯速率分别是 $(120.1 \pm 4.9) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $(172.4 \pm 21.8) \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$.

(2)基于 16S rRNA 基因扩增子测序、qPCR 技术及 Sanger 测序,刻画了菌剂 W-1 的厌氧微生物菌群结构,明确了 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 是主要脱卤功能菌.

(3)将菌剂 W-1 应用于受 TCE 污染的地下水,可实现 TCE 厌氧脱氯至无毒 ETH 的过程,可为受氯代乙烯污染地下水开展原位厌氧微生物修复提供重要的微生物资源.

致谢:感谢中国科学院沈阳应用生态研究所严俊博士为 qPCR 提供质粒.

参考文献:

- [1] Deng J, Wu F, Gao S X, et al. Self-activated $\text{Ni}(\text{OH})_2$ cathode for complete electrochemical reduction of trichloroethylene to ethane in low-conductivity groundwater [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2022, 309, doi: 10.1016/j.apcatb. 2022. 121258.
- [2] Beamer P I, Luik C E, Abrell L, et al. Concentration of trichloroethylene in breast milk and household water from Nogales, Arizona [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46 (16): 9055-9061.
- [3] Zhang X F, Li H Q, Liu L F, et al. Exergetic and exergoeconomic assessment of a novel CHP system integrating biomass partial

- gasification with ground source heat pump[J]. *Energy Conversion and Management*, 2018, **156**: 666-679.
- [4] Xie H B, Peng J L, Zhang X S, *et al.* Effects of mitochondrial reactive oxygen species-induced NLRP3 inflammasome activation on trichloroethylene-mediated kidney immune injury [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, **244**, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114067.
- [5] Mahato J K, Gupta S K. Advanced oxidation of trihalomethane (THMs) precursors and season-wise multi-pathway human carcinogenic risk assessment in Indian drinking water supplies[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2022, **159**: 996-1007.
- [6] Mitra S, Gupta S K. Pilot-scale treatment of a trichloroethylene rich synthetic wastewater in anaerobic hybrid reactor, with morphological study of the sludge granules[J]. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 2014, **16**(5): 947-956.
- [7] 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 等. 白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价[J]. *环境科学*, 2018, **39**(5): 2048-2055.
Gao Q S, Zhao Y H, Jiao L X, *et al.* Pollution characteristics and health risk assessment of volatile organic compounds in Baiyangdian Lake [J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(5): 2048-2055.
- [8] Huang B B, Lei C, Wei C H, *et al.* Chlorinated volatile organic compounds (Cl-VOCs) in environment—sources, potential human health impacts, and current remediation technologies [J]. *Environment International*, 2014, **71**: 118-138.
- [9] Moran M J, Zogorski J S, Squillace P J. Chlorinated solvents in groundwater of the United States [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41**(1): 74-81.
- [10] Fang L, Norris C, Johnson K, *et al.* Toxic volatile organic compounds in 20 homes in Shanghai: concentrations, inhalation health risks, and the impacts of household air cleaning [J]. *Building and Environment*, 2019, **157**: 309-318.
- [11] Mo Z W, Lu S H, Shao M. Volatile organic compound (VOC) emissions and health risk assessment in paint and coatings industry in the Yangtze River Delta, China [J]. *Environmental Pollution*, 2021, **269**, doi: 10.1016/j.envpol.2020.115740.
- [12] Boyes W K, Bercegeay M, Oshiro W M, *et al.* Acute perchloroethylene exposure alters rat visual-evoked potentials in relation to brain concentrations [J]. *Toxicological Sciences*, 2009, **108**(1): 159-172.
- [13] Ghobakhloo S, Khoshakhlagh A H, Morais S, *et al.* Exposure to volatile organic compounds in paint production plants: levels and potential human health risks [J]. *Toxics*, 2023, **11**(2), doi: 10.3390/toxics11020111.
- [14] Hu R Y, Liu G J, Zhang H, *et al.* Levels, characteristics and health risk assessment of VOCs in different functional zones of Hefei [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **160**: 301-307.
- [15] Tsai W T. A survey on toxic volatile organic compounds (VOCs): toxicological profiles, health exposure risks, and regulatory strategies for mitigating emissions from stationary sources in Taiwan [J]. *Atmosphere*, 2023, **14**(2), doi: 10.3390/atmos14020242.
- [16] Wang H, Banerjee N, Wang G D, *et al.* Autophagy dysregulation in trichloroethene-mediated inflammation and autoimmune response [J]. *Toxicology*, 2023, **487**, doi: 10.1016/j.tox.2023.153468.
- [17] Yuan T H, Chen J L, Shie R H, *et al.* Liver fibrosis associated with potential vinyl chloride and ethylene dichloride exposure from the petrochemical industry [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **739**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139920.
- [18] Niño De Guzmán G T, Hapeman C J, Millner P D, *et al.* Presence of organohalide-respiring bacteria in and around a permeable reactive barrier at a trichloroethylene-contaminated superfund site [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **243**: 766-776.
- [19] Gafni A, Siebner H, Bernstein A. Potential for co-metabolic oxidation of TCE and evidence for its occurrence in a large-scale aquifer survey [J]. *Water Research*, 2020, **171**, doi: 10.1016/j.watres.2019.115431.
- [20] 卢晓霞, 李广贺, 张旭, 等. 不同氧化还原条件下氯乙烯的微生物脱氯 [J]. *环境科学*, 2002, **23**(2): 29-33.
Lu X X, Li G H, Zhang X, *et al.* Dechlorination of chlorinated ethenes under different redox conditions [J]. *Environmental Science*, 2002, **23**(2): 29-33.
- [21] 李惠娣, 杨琦, 尚海涛. 甲醇为共代谢基质时四氯乙烯的厌氧生物降解 [J]. *环境科学*, 2004, **25**(3): 84-88.
Li H D, Yang Q, Shang H T. Anaerobic biodegradation of tetrachloroethylene with methanol as co-metabolism substrate [J]. *Environmental Science*, 2004, **25**(3): 84-88.
- [22] Ebrahimbabaie P, Pichtel J. Biotechnology and nanotechnology for remediation of chlorinated volatile organic compounds: current perspectives [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, **28**(7): 7710-7741.
- [23] 何江涛, 李焱, 刘石, 等. 浅层地下水氯代烃污染的天然生物降解 [J]. *环境科学*, 2005, **26**(2): 121-125.
He J T, Li Y, Liu S, *et al.* Chlorinate solvents natural biodegradation in shallow groundwater [J]. *Environmental Science*, 2005, **26**(2): 121-125.
- [24] Cheng Y H, Chang S C, Lai Y L, *et al.* Microbiome reengineering by four environmental factors for the rapid biodegradation of trichloroethylene [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, **326**, doi: 10.1016/j.jenvman.2022.116658.
- [25] Maymó-Gatell X, Chien Y T, Gossett J M, *et al.* Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene [J]. *Science*, 1997, **276**(5318): 1568-1571.
- [26] He J Z, Ritalahti K M, Yang K L, *et al.* Detoxification of vinyl chloride to ethene coupled to growth of an anaerobic bacterium [J]. *Nature*, 2003, **424**(6944): 62-65.
- [27] Holliger C, Hahn D, Harmsen H, *et al.* *Dehalobacter restrictus* gen. nov. and sp. nov., a strictly anaerobic bacterium that reductively dechlorinates tetra- and trichloroethene in an anaerobic respiration [J]. *Archives of Microbiology*, 1998, **169**(4): 313-321.
- [28] Rupakula A, Lu Y, Kruse T, *et al.* Functional genomics of corrinoid starvation in the organohalide-respiring bacterium *Dehalobacter restrictus* strain PER-K23 [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, **5**, doi: 10.3389/fmicb.2014.00751.
- [29] Chen G, Kara Murdoch F, Xie Y C, *et al.* Dehalogenation of chlorinated ethenes to ethene by a novel isolate, "*Candidatus Dehalogenimonas etheniformans*" [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, **88**(12), doi: 10.1128/aem.00443-22.
- [30] Goris T, Schubert T, Gadkari J, *et al.* Insights into organohalide respiration and the versatile catabolism of *Sulfurospirillum multivorans* gained from comparative genomics and physiological studies [J]. *Environmental Microbiology*, 2014, **16**(11): 3562-3580.
- [31] 李晓翠, 李秀颖, 宋玉芳, 等. 有机卤呼吸微生物菌群营养交互的作用机制 [J]. *微生物学报*, 2022, **62**(6): 2226-2248.
Li X C, Li X Y, Song Y F, *et al.* Mechanisms of metabolic interactions in microbial communities harboring organohalide-

- respiring bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, **62**(6): 2226-2248.
- [32] Chen W Y, Wu J H. Microbiome composition resulting from different substrates influences trichloroethene dechlorination performance[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, **303**, doi: 10.1016/j.jenvman.2021.114145.
- [33] Underwood J C, Akob D M, Lorah M M, *et al.* Microbial community response to a bioaugmentation test to degrade trichloroethylene in a fractured rock aquifer, Trenton, N. J[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2022, **98**(7), doi: 10.1093/femsec/fiac077.
- [34] 李姜维, 杨晓永, 胡安谊, 等. 苯甲酸盐厌氧驯化体系中三氯乙烯的还原脱氯特性[J]. *环境科学*, 2015, **36**(10): 3756-3763.
- Li W J, Yang X Y, Hu A Y, *et al.* Reductive dechlorination of trichloroethylene by benzoate-enriched anaerobic cultures[J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(10): 3756-3763.
- [35] Futagami T, Goto M, Furukawa K. Biochemical and genetic bases of dehalorespiration[J]. *The Chemical Record*, 2008, **8**(1): 1-12.
- [36] Li Y Q, Cai M J, Ji B B, *et al.* Pyridinic nitrogen enables dechlorination of trichloroethylene to acetylene by green rust: performance, mechanism and applications[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, **824**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153825.
- [37] Tiehm A, Schmidt K R. Sequential anaerobic/aerobic biodegradation of chloroethenes—aspects of field application[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, **22**(3): 415-421.
- [38] Yang X M, Zhang C, Liu F, *et al.* Groundwater geochemical constituents controlling the reductive dechlorination of TCE by nZVI: evidence from diverse anaerobic corrosion mechanisms of nZVI[J]. *Chemosphere*, 2021, **262**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127707.
- [39] Suyama A, Iwakiri R, Kai K, *et al.* Isolation and characterization of *Desulfitobacterium* sp. strain Y51 capable of efficient dehalogenation of tetrachloroethene and polychloroethanes[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2001, **65**(7): 1474-1481.
- [40] Scholz-Muramatsu H, Neumann A, Meßmer M, *et al.* Isolation and characterization of *Dehalospirillum multivorans* gen. nov., sp. nov., a tetrachloroethene-utilizing, strictly anaerobic bacterium[J]. *Archives of Microbiology*, 1995, **163**(1): 48-56.
- [41] Bælum J, Scheutz C, Chambon J C, *et al.* The impact of bioaugmentation on dechlorination kinetics and on microbial dechlorinating communities in subsurface clay till[J]. *Environmental Pollution*, 2014, **186**: 149-157.
- [42] Yang Y, Higgins S A, Yan J, *et al.* Grape pomace compost harbors organohalide-respiring *Dehalogenimonas* species with novel reductive dehalogenase genes[J]. *The ISME Journal*, 2017, **11**(12): 2767-2780.
- [43] Edwards E A, Grbić-Galić D. Anaerobic degradation of toluene and o-xylene by a methanogenic consortium[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, **60**(1): 313-322.
- [44] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, *et al.* DADA2: high-resolution sample inference from illumina amplicon data[J]. *Nature Methods*, 2016, **13**(7): 581-583.
- [45] Thuronyi B W, Koblan L W, Levy J M, *et al.* Publisher correction: continuous evolution of base editors with expanded target compatibility and improved activity[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, **37**(9): 1091.
- [46] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, **41**(D1): D590-D596.
- [47] He J Z, Ritalahti K M, Aiello M R, *et al.* Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(5): 996-1003.
- [48] Ritalahti K M, Amos B K, Sung Y, *et al.* Quantitative PCR targeting 16S rRNA and reductive dehalogenase genes simultaneously monitors multiple *Dehalococcoides* strains[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(4): 2765-2774.
- [49] Yu J, Zhou X F, Yang S J, *et al.* Design and application of specific 16S rDNA-targeted primers for assessing endophytic diversity in *Dendrobium officinale* using nested PCR-DGGE[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(22): 9825-9836.
- [50] Hood E D, Major D W, Quinn J W, *et al.* Demonstration of enhanced bioremediation in a TCE source area at Launch Complex 34, Cape Canaveral Air Force Station[J]. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 2008, **28**(2): 98-107.
- [51] Schaefer C E, Condee C W, Vainberg S, *et al.* Bioaugmentation for chlorinated ethenes using *Dehalococcoides* sp.: comparison between batch and column experiments[J]. *Chemosphere*, 2009, **75**(2): 141-148.
- [52] Pham H, Boon N, Marzorati M, *et al.* Enhanced removal of 1,2-dichloroethane by anodophilic microbial consortia[J]. *Water Research*, 2009, **43**(11): 2936-2946.
- [53] Grostern A, Edwards E A. Characterization of a *Dehalobacter* coculture that dechlorinates 1, 2-dichloroethane to ethene and identification of the putative reductive dehalogenase gene[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(9): 2684-2693.
- [54] Ziv-El M, Popat S C, Parameswaran P, *et al.* Using electron balances and molecular techniques to assess trichloroethene-induced shifts to a dechlorinating microbial community[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, **109**(9): 2230-2239.
- [55] Rouzeau-Szynalski K, Maillard J, Holliger C. Frequent concomitant presence of *Desulfitobacterium* spp. and "*Dehalococcoides*" spp. in chloroethene-dechlorinating microbial communities[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **90**(1): 361-368.
- [56] Lai Y, Becker J G. Compounded effects of chlorinated ethene inhibition on ecological interactions and population abundance in a *Dehalococcoides* - *Dehalobacter* coculture[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(3): 1518-1525.
- [57] Chen K Z, Liu Z F, Wang X M, *et al.* Enhancement of perchloroethene dechlorination by a mixed dechlorinating culture via magnetic nanoparticle-mediated isolation method[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **786**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147421.

CONTENTS

Impacts of Anthropogenic Emission Reduction on Urban Atmospheric Oxidizing Capacity During the COVID-19 Lockdown	ZHU Jian-lan, QIN Mo-mei, ZHU Yan-hong, <i>et al.</i> (617)
Transport and Potential Sources Regions of Double High Pollution in Nanjing by Different Synoptic Situations	QIN Yang, HU Jian-lin, KONG Hai-jiang (626)
Differences of Three Methods in Determining Ozone Sensitivity in Nanjing	CHEN Gan-yu, LI Xun, LI Lin, <i>et al.</i> (635)
Characteristics of Ozone Concentration in Shanghai and Its Associated Atmospheric Circulation Background During Summer Half-years from 2006 to 2021	ZHENG Qing-feng, LIANG Ping, DUAN Yu-sen, <i>et al.</i> (645)
Distribution Characteristics of Near Surface Ozone Volume Fraction in Shanxi Province Based on Atmospheric Composition Observation Network	LI Ying, WANG Shu-min, PEI Kun-ning, <i>et al.</i> (655)
Photochemical Mechanism and Control Strategy Optimization for Summertime Ozone Pollution in Yining City	WANG Wen-ting, GU Chao, LI Li-ming, <i>et al.</i> (668)
Characteristics, Sources, and Ozone-sensitive Species of VOCs in Four Seasons in Yuncheng	YIN Shi-jie, LIU Xin-gang, LIU Ya-fei, <i>et al.</i> (678)
Pollution Characteristics, Source Analysis, and Activity Analysis of Atmospheric VOCs During Winter and Summer Pollution in Zhengzhou	LAI Meng-jie, ZHANG Dong, YU Shi-jie, <i>et al.</i> (689)
Pollution Characteristics, Sources, and Secondary Generation of Organic Acids in PM _{2.5} in Zhengzhou	LI Zi-han, DONG Zhe, SHANG Lu-qi, <i>et al.</i> (700)
Nonlinear Variations in PM _{2.5} Concentration in the Three Major Urban Agglomerations in China	WU Shu-qi, GU Yang-yang, ZHANG Tian-yue, <i>et al.</i> (709)
Medium and Long-term Carbon Emission Projections and Emission Reduction Potential Analysis of the Lingang Special Area Based on the LEAP Model	WU Qiong, MA Hao, REN Hong-bo, <i>et al.</i> (721)
Dynamic Analysis on Carbon Metabolism of the Northern Region of China Under the Background of Carbon Emission Trading Policy	ZHENG Hong-mei, SHEN Fang, XU Guang-yao, <i>et al.</i> (732)
Carbon Reduction Analysis of Life Cycle Prediction Assessment of Hydrogen Fuel Cell Vehicles; Considering Regional Features and Vehicle Type Differences	MA Jing, CAI Xu, ZHANG Chun-mei, <i>et al.</i> (744)
Nitrate Pollution Characteristics and Its Quantitative Source Identification of Major River Systems in China	WEI Ying-huai, HU Min-peng, CHEN Ding-jiang (755)
Effects of Land Use Structure and Spatial Pattern at Different Temporal and Spatial Scales on Water Quality in Suzhou Creek	TAN Juan, XIONG Li-jun, WANG Qing, <i>et al.</i> (768)
Spatial-temporal Variation in Water Quality of Rain-source Rivers in Shenzhen from 2015 to 2021 and Its Response to Rainfall	WEI Bi-ying, CHENG Jian-mei, SU Xiao-yu, <i>et al.</i> (780)
Chemical Characteristics of Shallow Groundwater in the Yellow River Diversion Area of Henan Province and Identification of Main Control Pollution Sources	WANG Shuai, REN Yu, GUO Hong, <i>et al.</i> (792)
Chemical Characteristics and Genetic Analysis of Karst Groundwater in the Beijing Xishan Area	GUO Gao-xuan, DAI Yin-dong, XU Liang, <i>et al.</i> (802)
Hydrochemical Characteristics and Its Origin of Surface Water and Groundwater in Dianbu River Basin	ZHENG Tao, QIN Xian-yan, WU Jian-xiong (813)
Hydrochemical Characteristics and Genesis Mechanism of Groundwater in the Dry Period in the Zhangjiakou Area	JIN Ai-fang, YIN Xiu-lan, LI Chang-qing, <i>et al.</i> (826)
Distribution of Typical Resistant Bacteria and Resistance Genes in Source Water of the Middle and Lower Reaches of the Yellow River	MIN Wei, GAO Ming-chang, SUN Shao-fang, <i>et al.</i> (837)
Contamination Characteristics, Detection Methods, and Control Methods of Antibiotic Resistance in Pharmaceutical Wastewater	PENG An-ping, GAO Hu, ZHANG Xin-bo (844)
Effect of Water Components on Aggregation and Sedimentation of Polystyrene Nano-plastics	TANG Duan-yang, ZHENG Wen-li, CHEN Guan-tong-yi, <i>et al.</i> (854)
Lead Removal from Water by Calcium-containing Biochar with Saturated Phosphate	LIU Tian, LÜ Si-lu, DU Xing-guo, <i>et al.</i> (862)
Preparation of Chitosan-modified Biochar and Its Adsorption Mechanism for Cd ²⁺ in Aqueous Solution	JIANG Ling, AN Jing-yue, YUE Xiao-qiong, <i>et al.</i> (873)
Efficacy and Mechanism of Tetracycline Adsorption by Boron-doped Mesoporous Carbon	ZOU Zhen, XU Lu, QIAO Wei, <i>et al.</i> (885)
Adsorption Properties of Magnetic Phosphorous Camellia Oleifera Shells Biochar to Sulfamethoxazole in Water	HAN Shuai-peng, TANG Li-wen, LIU Qin, <i>et al.</i> (898)
High Resolution Emission Inventory of Greenhouse Gas and Its Characteristics in Guangdong, China	LU Qing, TANG Ming-shuang, LIAO Tong, <i>et al.</i> (909)
Ecosystem CO ₂ Exchange and Its Environmental Regulation of a Restored Wetland in the Liaohe River Estuary	LIU Si-qi, CHEN Hong, XING Qing-hui, <i>et al.</i> (920)
Effects of Biochar Application Two Years Later on N ₂ O and CH ₄ Emissions from Rice-Vegetable Rotation in a Tropical Region of China	HU Yu-jie, TANG Rui-jie, HU Tian-yi, <i>et al.</i> (929)
Research and Application Progress of Biochar in Amelioration of Saline-Alkali Soil	WEI Ying, JIAO Le, ZHANG Peng, <i>et al.</i> (940)
Effect of No-tillage on Soil Aggregates in Farmland: A Meta Analysis	XU Yi-ping, RAO Yue-yue, MENG Yan, <i>et al.</i> (952)
Spatio-temporal Evolution and Multi-scenario Simulation of Carbon Storage in Karst Regions of Central Guizhou Province; Taking Puding County as An Example	LI Yue, LUO Hong-fen (961)
Effects of Different Modifiers on Aggregates and Organic Carbon in Acidic Purple Soil	LI Yue, XU Man, XIE Yong-hong, <i>et al.</i> (974)
Effect of Ca Modified Biochar on the Chemical Speciation of Soil Phosphorus and Its Stabilization Mechanism	ZHANG Chao, ZHAI Fu-jie, SHAN Bao-qing (983)
Plant Diversity Changes and Its Driving Factors of Abandoned Land at Different Restoration Stages in the Middle of the Qinling Mountains	YAN Cheng-long, XUE Yue, WANG Yi-fei, <i>et al.</i> (992)
Contamination Characteristics and Ecological Risk of Antibiotics in Contaminated Sites of Typical Pharmaceutical Factories in China	YANG Jiong-bin, HUANG Zheng, ZHAO Jian-liang, <i>et al.</i> (1004)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils of Guangzhou	ZOU Zi-hang, CHEN Lian, ZHANG Pei-zhen, <i>et al.</i> (1015)
Quantifying the Contribution of Soil Heavy Metals to Ecological and Health Risk Sources	PAN Yong-xing, CHEN Meng, WANG Xiao-tong (1026)
Potential Ecological Risk Characteristics and Source Apportionment of Heavy Metals in Farmland Soils around Typical Factories in Hunan Province Based on Monte-Carlo Simulation	LUO Hao-jie, PAN Jun, CHEN Xiao-xia, <i>et al.</i> (1038)
Health Risk Assessment for an Arsenic-contaminated Site Based on Monte Carlo Simulation and Parameters Optimization	YUAN Bei, LIU Hu-peng, DU Ping, <i>et al.</i> (1049)
Pollution Source Apportionment of Heavy Metals in Cultivated Soil Around a Red Mud Yard Based on APCS-MLR and PMF Models	SHEN Zhi-jie, LI Jie-qin, LI Cai-xia, <i>et al.</i> (1058)
Characteristics and Mechanism of Cd Release and Transport in Soil Contaminated with PE-Cd	WANG Di, XU Shao-hui, SHAO Ming-yan, <i>et al.</i> (1069)
Characterization of Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Anaerobic Consortium	LI Wei, LIU Gui-ping, LIU Jun, <i>et al.</i> (1080)
Analysis of Heavy Metal Pollution Evaluation and Correlation of Farmland Soil and Vegetables in Zhaotong City	ZHANG Hao, DONG Chun-yu, YANG Hai-chan, <i>et al.</i> (1090)
Safe Utilization Effect of Passivator on Mild to Moderate Cadmium Contaminated Farmland	WANG Xiao-jing, ZHANG Dong-ming, CAO Yang, <i>et al.</i> (1098)
Simultaneous Immobilization of Cadmium and Arsenic in Paddy Soils with Novel Fe-Mn Combined Graphene Oxide	YUAN Jing, WU Ji-zi, LIAN Bin, <i>et al.</i> (1107)
Effects of the Application of Irrigation Water Containing Zn at the Key Growth Period on the Uptake and Transport of Cd in Rice	ZHOU Xia, HU Yu-dan, ZHOU Hang, <i>et al.</i> (1118)
Effects of Exogenous Zinc on Growth and Root Architecture Classification of Maize Seedlings Under Cadmium Stress	ZHANG Hui-hong, WEI Chang, LIU Hai-tao, <i>et al.</i> (1128)
Mitigative Effect of Rare Earth Element Cerium on the Growth of Zinc-stressed Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) Seedlings	ZHANG Jing-jing, XU Zheng-yang, JIAO Qiu-juan, <i>et al.</i> (1141)
Two-stage Inhibition Effects of <i>Burkholderia</i> sp. Y4 Application on Cadmium Uptake and Transport in Wheat	GUO Jia-jia, WANG Chang-rong, LIU Zhong-qi, <i>et al.</i> (1150)
Effects of Combined Stress of High Density Polyethylene Microplastics and Chlorimuron-ethyl on Soybean Growth and Rhizosphere Bacterial Community	HU Xiao-yue, HUA Zi-wei, YAO Lun-guang, <i>et al.</i> (1161)
Human Accumulation and Toxic Effects of Microplastics: A Critical Review	BAO Ya-bo, WANG Cheng-chen, PENG Wu-guang, <i>et al.</i> (1173)
Overview of the Application of Machine Learning for Identification and Environmental Risk Assessment of Microplastics	BAI Run-hao, FAN Rui-qi, LIU Qi, <i>et al.</i> (1185)
Research Process on the Combined Pollution of Microplastics and Typical Pollutants in Agricultural Soils	HOU Yu-qing, LI Bing, WANG Jin-hua, <i>et al.</i> (1196)
Research Progress in Electrochemical Detection and Removal of Micro/Nano Plastics in Water	ZHENG Wei-kang, LIU Zhen-zhong, XIANG Xiao-fang (1210)
Factors Influencing Willingness of Farmers to Pay for Agricultural Non-point Source Pollution Control Based on Distributed Cognitive Theory	GUO Chen-hao, LI Lin-fei, XIA Xian-li (1222)