

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第9期

Vol.33 No.9

**2012**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

我国4个WMO/GAW本底站大气CH<sub>4</sub>浓度及变化特征 ..... 方双喜,周凌晔,许林,姚波,刘立新,夏玲君,王红阳(2917)

我国东北地区大气降水稳定同位素特征及其水汽来源 ..... 李小飞,张明军,马潜,李亚举,王圣杰,汪宝龙(2924)

2010年广州亚运期间空气质量与污染气象条件分析 ..... 李婷苑,邓雪娇,范绍佳,吴兑,李菲,邓涛,谭浩波,蒋德海(2932)

厦门市冬春季灰霾期间大气PM<sub>10</sub>中多环芳烃的污染特征及来源分析 ..... 钱冉冉,闫景明,吴水平,王新红(2939)

气溶胶OCEC切割点确定方法改进及应用 ..... 王莉华,董华斌,闫才青,曾立民,郑玫,张延君,刘久萌,Weber R J(2946)

松花江上游夹皮沟金矿土壤与大气汞污染特征 ..... 张刚,王宁,王媛,刘特,艾建超(2953)

河北农居环境颗粒态汞污染特征及健康评估研究 ..... 赵亚娟,龚巍巍,栾胜基(2960)

印刷电路板(PCB)厂挥发性有机物(VOCs)排放指示物筛选 ..... 马英歌(2967)

烹调油烟中挥发性有机物的排放初探 ..... 何万清,田刚,聂磊,曲松,李靖,王敏燕(2973)

生物滴滤塔降解甲苯废气长期运行生物膜相特性研究 ..... 胡俊,郑江玲,吴越新,张丽丽,陈建孟(2979)

分期布液生物滴滤床净化H<sub>2</sub>S废气性能研究 ..... 刘春敬,李坚,刘佳,彭淑婧,李超,陈英,何洪(2987)

粉煤灰综合利用过程中汞的二次释放规律研究 ..... 孟阳,王书肖(2993)

太湖、巢湖水体总悬浮物浓度半分析反演模型构建及其适用性评价 ..... 刘忠华,李云梅,檀静,郭宇龙,周莉,刘阁(3000)

巢湖水质与流域农业投入的关联性研究 ..... 张燕,高翔,张洪(3009)

巢湖十五里河水花生生长区沉积物及间隙水中营养盐的基本特性 ..... 李如忠,李峰,周爱佳(3014)

巢湖沉积物中磷蓄积时空变化及人为污染定量评价 ..... 刘恩峰,杜臣昌,羊向东,沈吉(3024)

巢湖周边表土中有机质、全氮和全磷空间分布及其相关性 ..... 陈书琴,储昭升,胡社荣,刘俊,王长春,王曼(3031)

丹江口水库典型入库支流氮磷动态特征研究 ..... 雷沛,张洪,单保庆(3038)

水温分层对三峡水库香溪河库湾春季水华的影响 ..... 刘流,刘德富,肖尚斌,孔松,陈媛媛,方小凤(3046)

平水期和丰水期殷村港污染物浓度时空变异比较研究 ..... 杨晓英,罗兴章,郑正,方淑波(3051)

江苏西部湖泊沉积物营养盐赋存形态和释放潜力差异性分析 ..... 刘涛,胡志新,杨柳燕,肖琳,席北斗,许其功(3057)

太湖西岸湖滨带沉积物氮磷有机质分布及评价 ..... 甘树,卢少勇,秦普丰,金相灿,焦伟,王佩(3064)

南四湖流域种植业面源污染氮磷源解析研究 ..... 刘静,路风,杨延钊,徐娜,王田妮(3070)

珠江水体中有机物分布、组成及与消毒副产物生成的关系 ..... 何洪威,周达诚,王保强,梁艳红(3076)

东江流域典型乡镇饮用水源地重金属污染健康风险评价 ..... 王若师,许秋瑾,张娴,魏群山,颜昌宙(3083)

深圳茅洲河表层沉积物卤代多环芳烃污染研究 ..... 孙建林,倪宏刚,丁超,曾辉(3089)

福建罗源湾潮间带沉积物重金属含量空间分布及其环境质量影响 ..... 高文华,杜永芬,王丹丹,高抒(3097)

渤海湾大型底栖生物群落结构变化及原因探讨 ..... 蔡文倩,刘录三,乔飞,林尚璇,周娟(3104)

地下水污染防治区划体系构建研究 ..... 王俊杰,何江涛,陆燕,刘丽雅,张小亮(3110)

北京市平原区地下水污染防治区划不确定性分析 ..... 陆燕,何江涛,王俊杰,刘丽雅,张小亮(3117)

川东平行岭谷区典型岩溶含水系统中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的存储和运移 ..... 杨平恒,袁道先,任幼蓉,谢世友,贺秋芳,胡晓风(3124)

改性活性炭对水中PFOS的吸附去除研究 ..... 董锡臻,石宝友,解岳,王东升(3132)

水溶液中臭氧和溴离子的反应研究 ..... 俞潇婷,张家辉,潘循哲,张仁熙,侯惠奇(3139)

HPSEC-UV-TOC联用技术测定有机物相对分子质量分布 ..... 张晗,董秉直(3144)

不同有机基质诱发的水体黑臭及主要致臭物(VOSC<sub>s</sub>)产生机制研究 ..... 卢信,冯紫艳,商景阁,范成新,邓建才(3152)

不同pH下纳米铁镍颗粒对生物降解苯酚的影响 ..... 况辉,周琰,王清萍,陈祖亮(3160)

多级微氧生物流化床预处理高浓度丙烯酸废水 ..... 李莎,郑盛之,宋玉栋,周岳溪,朱长军,刘淑玲,潘玲,蒲文晶(3167)

三级生物膜深度处理腈纶废水生化出水的脱氮研究 ..... 徐少阳,蒋进元,周岳溪,崔俊涛,段妮妮(3172)

改性花生壳对水中镉的动态吸附研究 ..... 龙腾,易筱筠,党志(3177)

硫氰酸根在粒状镁铝复合氧化物上的吸附性能 ..... 王秀娟,王海增,孙宝维,韩文军(3182)

海水生物滤器氨氮沿程转化规律模型 ..... 罗荣强,侯沙沙,沈加正,陈珠,刘鹰(3189)

营养物质缺乏引起的好氧颗粒污泥膨胀及其恢复 ..... 张著,高大文,袁向娟,勾倩倩(3197)

生物表面活性剂强化污泥水解的研究 ..... 易欣,罗琨,杨麒,李小明,邓伟光,张植平(3202)

厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定 ..... 刘冬英,邱艳玲,袁宪正,师晓爽,郭荣波(3208)

阿特拉津降解菌株的分离、鉴定及降解特性研究 ..... 李绍峰,朱静,李铁晶(3214)

农业废物堆肥中高产漆酶新菌株的分离鉴定及酶学性质研究 ..... 任秀娟,范长征,鲁伦慧,王聪,曾光明(3220)

糖蜜酒精废水脱色微生物的筛选及鉴定 ..... 李必金,刘幽燕,贺锴,滕芳明,何熙璞,李青云(3228)

餐厨垃圾乳酸发酵过程中的微生物多样性分析 ..... 刘建国,汪群慧,王爽,孙晓红,仇天雷,李焕(3236)

共价功能化对单壁碳纳米管产生DNA损伤和活性氧的影响研究 ..... 吴仁人,陶雪琴,党志,李开明,蔡美芳(3241)

*Geobacter sulfurreducens*对汞的甲基化及其影响因素研究 ..... 邹嫣,司友斌,颜雪,陈艳(3247)

单一与复合胁迫下油菜对镉、铅的吸收效应 ..... 武文飞,南忠仁,王胜利,赵转军,周婷(3253)

金铜矿下游农户家养番鸭体内重金属分布特征及其评价 ..... 杭小帅,梁斌,王文林,王霞,李维新(3261)

环境激素氧氟菊酯对萼花臂尾轮虫繁殖的影响 ..... 董学兴,杨家新,吕林兰,赵卫红,於叶兵(3266)

地聚物固化生活垃圾焚烧飞灰固化体抗氧化硫杆菌腐蚀性能的研究 ..... 金漫彤,孙鑫,董海丽,金赞芳(3272)

焚烧飞灰高温过程中重金属的挥发及其氯化物特征 ..... 刘敬勇,孙水裕(3279)

城市废弃物处理温室气体排放研究:以厦门市为例 ..... 于洋,崔胜辉,林剑艺,李飞(3288)

NPEOs及其代谢产物在城市污水处理厂中的归趋分析 ..... 连静,刘俊新(3295)

《环境科学》征订启事(3037) 《环境科学》征稿简则(3151) 信息(2999,3030,3096,3227)

# 阿特拉津降解菌株的分离、鉴定及降解特性研究

李绍峰<sup>1</sup>, 朱静<sup>2</sup>, 李铁晶<sup>2</sup>

(1. 深圳职业技术学院建筑与环境工程系, 深圳 518055; 2. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150080)

**摘要:** 通过贫营养原水曝气培养法, 以 SBR 方式驯化和稳定运行 2 个月, 分离得到 1 株能够降解除草剂阿特拉津的降解菌株, 命名为 L-6. 在以阿特拉津为唯一氮源 ( $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的无机盐液体培养基中培养 96 h 后, 降解率达到 89.2%. 扫描电镜观察发现该降解菌株细胞呈长杆状. 提取菌株的 DNA, 进行 16S rRNA 基因序列分析, 并构建系统进化树. 结果表明该菌株与 GenBank 数据库中多株 *Pseudomonas* 菌株 16S rRNA 基因的同源性在 99% 以上. 结合生理生化检测, 判断该降解菌为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.). 碳源利用实验发现, 降解菌株 L-6 可以利用葡萄糖、果糖和柠檬酸钠生长, 不能利用蔗糖、乳糖和淀粉. 环境因素对降解效率的影响实验表明, 温度在  $30^\circ\text{C}$ , 初始 pH 7~9 条件下, 降解效率最佳.

**关键词:** 贫营养; 阿特拉津; 降解菌株; 分离; 鉴定; 降解特性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)09-3214-06

## Isolation, Identification and Characterization of an Atrazine Degrading Bacterium

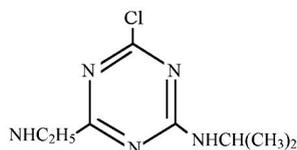
LI Shao-feng<sup>1</sup>, ZHU Jing<sup>2</sup>, LI Tie-jing<sup>2</sup>

(1. Department of Building and Environmental Engineering, Shenzhen Polytechnic Institute, Shenzhen 518055, China; 2. Institution of Food, Northeast Agricultural University, Harbin 150080, China)

**Abstract:** An atrazine-degrading bacterial strain named L-6 was isolated from the sludge mixture of the sewage treatment plant by cultivating in raw water with limited nutrition and aeration and was domesticated steadily using SBR (Sequencing Batch Reactor) for two months. The degradation rate of atrazine in inorganic liquid culture medium with atrazine as the sole source of nitrogen could reach 89.2% after 96 hours. The cells showed shape of long rod under scanning electron microscope. After extraction of genomic DNA and PCR amplification, the 16S rRNA gene sequences were used for homology analysis and construction of phylogenetic trees. The results suggested that the 16S rRNA gene sequence of L-6 had up to 99% homology with those of many strains of *Pseudomonas* strains in GenBank database. With physiological and biochemical reactions, the strain L-6 was identified as *Pseudomonas* sp. Carbon use test indicated that L-6 can utilize glucose, fructose and citric acid sodium as carbon sources, but could not use sucrose, lactose or starch. The optimum degradation conditions were optimized as following: temperature  $30^\circ\text{C}$ , initial pH 7-9.

**Key words:** limited nutrition; atrazine; degrading bacteria; isolate; identify; degradation characteristics

阿特拉津, 商品名莠去津, 英文名 Atrazine (ATZ), 化学名称: 2-氯-4-乙胺基-6-异丙胺基-1,3,5-三嗪. 分子式为  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ClN}_5$ , 结构式如下:



ATZ 是一种三嗪类除草剂, 成本低且除草效果好, 在世界范围内得到广泛应用<sup>[1]</sup>. 由于多年的大量使用, 残留期长<sup>[2]</sup>, 对土壤、水体等自然媒介造成了严重的污染, 在环境水体中检出率较高<sup>[3,4]</sup>. 研究表明, 长期低剂量的 ATZ 作用会对生物体的内分泌系统产生干扰作用<sup>[5~7]</sup>, 目前已被认定为内分泌干扰物质 (endocrine disrupting chemicals, EDCs)<sup>[8,9]</sup>, 是近年来国际社会广泛关注的重要环境污染物质. 饮用水是 ATZ 暴露于人体的主要途径, 目

前国内外对水中医药化学品、农药等内分泌干扰物的分析、出现、归趋及去除的研究多以污水及污水厂为对象, 而对水源水和饮用水中该类物质的生物去除则研究较少<sup>[10~12]</sup>. 多数的研究仍集中在土壤中 ATZ 降解菌的分离、生物降解机制研究及土壤生物修复技术等<sup>[13~15]</sup>. 在贫营养条件下, 通过曝气培养驯化分离出 ATZ 降解菌株更鲜有报道. 本课题组前期进行了粉末活性炭-膜生物反应器 (powder activated carbon/membrane bio-reactor, PAC/MBR) 工艺对水中微量 ATZ 的去除效果研究<sup>[16]</sup>, 发现在进水 ATZ 的浓度为  $0.2049 \sim 0.049 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, PAC/MBR 对 ATZ 的平均去除率达到 54.16%, 初步分离出假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.)、颖壳伯克氏

收稿日期: 2011-11-25; 修订日期: 2012-03-19

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2010K3080009)

作者简介: 李绍峰 (1972~) 男, 博士, 教授, 主要研究方向为水污染控制及污水资源化技术, E-mail: lshaofeng@szpt.edu.cn

菌 (*Burkholderia glumae*)、节杆菌属 (*Arthrobacte* sp.) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.) 4 种 ATZ 的优势代谢微生物。

本研究以贫营养原水 SBR 方式驯化和运行,分离得到 1 株在贫营养条件下生长良好且能降解 ATZ 的菌株. 进行菌株的分离、生理生化鉴定、16S rRNA 基因序列分析,菌株生长和 ATZ 降解曲线研究,并对碳源、温度和 pH 值等生长因子对降解的影响进行探讨,以期今后饮用水水源中微量 ATZ 的去除和 ATZ 微污染水体的生物修复奠定工作基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验仪器

Waters-2695e 高效液相色谱仪-2998 紫外检测器(美国 Waters 公司),MIR-254 低温恒温培养箱(日本 Sanyo),S-4700 扫描电子显微镜(HITACHI),TP 020-801PCR 仪(Biometra),Explorer D-55-20. M 凝胶成像系统(英国 UVI 公司),HVE-50 高压灭菌锅(HIRAYAMA),HZQ-FX 恒温振荡培养箱(东联电子技术开发有限公司)。

### 1.2 培养基

标准阿特拉津液体培养基( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$  6.5,  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2, 葡萄糖 3.0, ATZ 0.5(甲醇配成  $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  储备液),蒸馏水定容至 1 L, pH 7.2. 无碳无氮培养基( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ):  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6.5,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9,  $\text{MgSO}_4$  0.2, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.2.

LB 培养基( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ): 蛋白胨 10, 酵母粉 5, NaCl 10, 蒸馏水定容至 1L, pH 7.2. 配置固体培养基时加入 1.5% ~ 2.0% 的琼脂粉. 灭菌条件均采用  $115^\circ\text{C}$  高压灭菌 30 min.

### 1.3 高效液相色谱分析条件

ATZ 浓度采用高效液相色谱法测定. 色谱柱为  $4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$  反相 C18 柱; 柱温  $25^\circ\text{C}$ ; 以乙腈和水为流动相, 体积比 40:60; 流动相流速为  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 检测器检测波长为 200 nm; 进样量  $10\text{ }\mu\text{L}$ .

### 1.4 ATZ 降解菌株的驯化

#### 1.4.1 实验装置

将取自污水处理厂的污泥混合液投入添加悬挂式填料的反应器内进行曝气培养. 实验用水为人工配制的微污染水, 另外投加微量 ATZ 作为氮源进行降解菌株的驯化. 曝气运行 2 h, 静置 1 h, 去上清后重新加入原水后曝气运行, 反应稳定运行 2 个月。

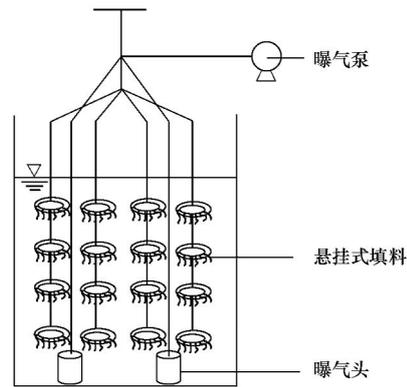


图 1 反应装置示意

Fig. 1 Flow diagram of experiment

#### 1.4.2 原水配方及运行条件

葡萄糖 1.8 g、淀粉 0.6 g、蛋白胨 0.6 g、 $\text{MgSO}_4$  0.3 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.24 g、 $\text{NaHCO}_3$  2 g、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.8 g、阿特拉津 400 mL(先将配成阿特拉津浓度为  $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的水溶液)加水至 30 L, 搅拌均匀配置成实验原水。

反应器的运行温度在  $25^\circ\text{C}$  左右, DO 在  $4\sim 5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 值保持中性, COD 均值约为  $12.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  均值约为  $4.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 反应期间对进出水的高锰酸盐指数、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{UV}_{254}$ 、浊度、污泥形态等进行监测, 以确保反应体系稳定性和污泥活性。

#### 1.5 ATZ 降解菌株的分离

将驯化一段时间的活性污泥稀释后, 涂布在 ATZ 固体平板. 因 ATZ 在水中的溶解度仅为  $33\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 因此培养基中加入 ATZ 后呈白色乳浊状. 菌株降解 ATZ 后会产生水解圈, 可以肉眼直接观察. 对产生水解圈的菌株分离纯化后编号保存。

#### 1.6 细菌总 DNA 的制备

将细菌接种到 LB 液体培养基,  $30^\circ\text{C}$  过夜振荡培养.  $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10min, 取上清液; 加 9.5 mL TE 悬浮沉淀, 并加 0.5 mL 10% SDS,  $50\text{ }\mu\text{L}$   $20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  蛋白酶 K, 混匀,  $37^\circ\text{C}$  保温 1 h; 加 1.5 mL  $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl, 混匀; 加 1.5 mL CTAB/NaCl 溶液, 混匀,  $65^\circ\text{C}$  保温 20 min; 用等体积酚: 氯仿: 异戊醇 (25:24:1) 抽提,  $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 将上清液移至干净离心管; 用等体积氯仿: 异戊醇 (24:1) 抽提, 取上清液移至干净管中; 加 1 倍体积异丙醇, 颠倒混合, 室温下静置 10 min, 沉淀 DNA; 用玻棒捞出 DNA 沉淀, 70% 乙醇漂洗后, 吸干, 溶解于 1 mL TE,  $-20^\circ\text{C}$  保存。

### 1.7 16S rRNA 基因 PCR 扩增和测序

以 L-6 菌株的总 DNA 为模板,用 16S rRNA 的一对通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-CGGTTACCTTGTACGACTTC-3') 进行 PCR 扩增反应. 反应体系为 50  $\mu$ L, 含有 10  $\times$  PCR buffer 5  $\mu$ L, Pfu 1  $\mu$ L, dNTPs (10 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>) 2  $\mu$ L, 27F 2  $\mu$ L, 1492R 2  $\mu$ L, DNA 模板 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 37  $\mu$ L. PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 35 个循环 (94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min), 最终 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min.

PCR 扩增产物检测后回收纯化,与 pMD19-T 载体连接,转化 *E. coli* DH5 $\alpha$ ,用 X-gal 平板筛选含有插入 DNA 的白色转化子菌落. 重组质粒由北京鼎国昌盛生物技术有限公司进行测序. 用 GenBank 的数据库进行菌株的 16S rRNA 基因序列 Blast 比对,确定菌株的分类.

### 1.8 降解菌株的生理生化鉴定

参照文献 [17, 18] 进行菌株的革兰氏染色实验,以及葡萄糖发酵实验、明胶液化、淀粉水解实验、接触酶反应、氧化酶反应等相关的生理生化实验.

## 2 结果与讨论

### 2.1 ATZ 降解菌株的分离

将经过贫营养原水曝气培养法,以 SBR 方式驯化和稳定运行 2 个月后的污泥混合液,梯度稀释后涂布于 ATZ 固体平板上. 经分离纯化后得到 1 株能产生明显透明降解条带的降解菌株,命名为 L-6. 划线于 LB 固体平板培养约 24 h,样品处理后在扫描电镜下观察,发现 L-6 菌株细胞呈现长杆状.

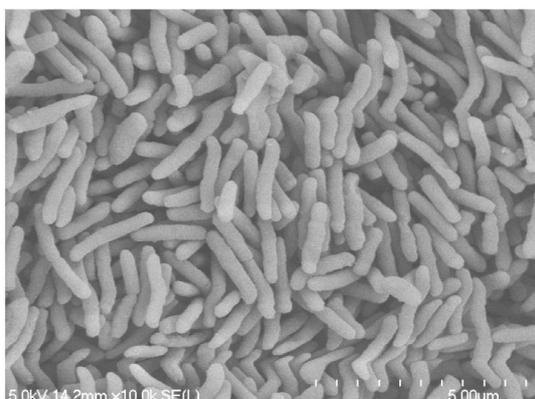


图 2 L-6 菌扫描电子显微镜图 ( $\times 10\ 000$ )

Fig. 2 Scanning electron micrograph of L-6

### 2.2 生理生化实验鉴定

常规的细菌鉴定实验结果如表 1 所示.

表 1 菌株的生理生化鉴定

Table 1 Morphological and biochemical characteristics			
试验名称	结果	试验名称	结果
革兰氏染色	-	淀粉水解	-
葡萄糖发酵	-	明胶液化	-
甲基红(M. R)	+	接触酶反应	+
V-P 测定	-	氧化酶反应	+

### 2.3 DNA 的提取

提取基因组 DNA,琼脂糖凝胶电泳检测,实验结果见图 3. 从中可知,成功提取到降解菌 L-6 的 DNA,菌株的基因组 DNA 总量约为 21 kb.

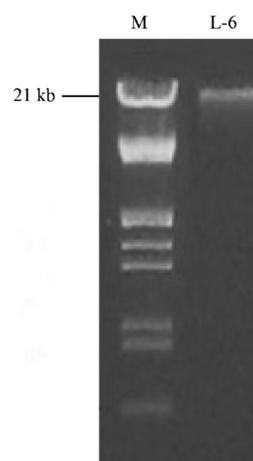


图 3 基因组 DNA 电泳结果

Fig. 3 Agarose electrophoresis result of genomic DNA

### 2.4 16S rRNA 基因序列与进化树分析

PCR 扩增后得到长约 1 500 bp 的 16S rRNA 片段,如图 4 所示. 将 PCR 产物回收纯化后与 pMD19-T 载体连接,转化 *E. coli* DH5 $\alpha$ ,用 X-gal 平板筛选含有插入 DNA 的白色转化子菌落进行测序分析,最后测得其实际长度为 1 423 bp.

由于同一个种、属细菌的 16S rRNA 基因具有高度的保守性,所以 16S rRNA 基因序列的同源性分析常被用作细菌的系统分类. 将降解菌 L-6 的 16S rRNA 基因序列在 GenBank 注册,登录号为 HQ285878. 与数据库中的序列进行 Blast 比对,结果显示该菌株的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中多株 *Pseudomonas* 菌株 16S rRNA 基因的同源性在 99% 以上. 结合菌株的形态和生理生化特征,鉴定降解菌 L-6 为假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.). 建立的进化树见图 5.

### 2.5 降解菌株的生长和 ATZ 降解曲线

制备 L-6 菌悬液,浓度  $D_{600} \approx 1.0$ . 按 1% 的接种量分别接种于有药 (ATZ 浓度为 500 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>) 及

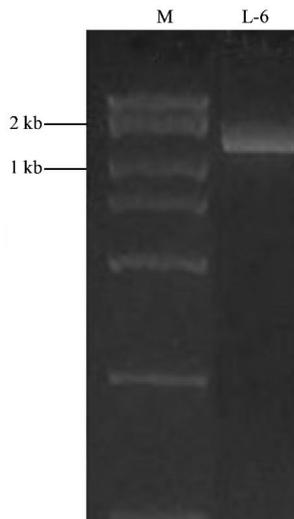


图4 菌株的16S rRNA片段扩增电泳

Fig. 4 Agarose electrophoresis result of 16S rRNA PCR product

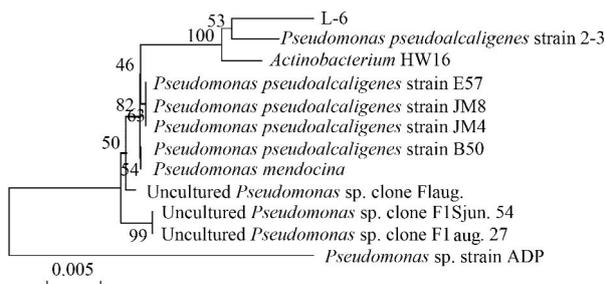


图5 菌株L-6系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of strain L-6

无药( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  代替 ATZ 作为唯一氮源)培养液中,  $30^\circ\text{C}$ ,  $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡培养, 培养液中的生长量随时间的变化如图 6 所示。

从图 6 中可以看出降解菌株 L-6 在 2 种培养液中都能稳定生长, 48 h 后菌体都到达最大值。但从生长量来看, 在无药培养基中的菌体生长的更迅速, 且延迟期仅 6 h 左右。延迟期后菌体生长迅速, 对

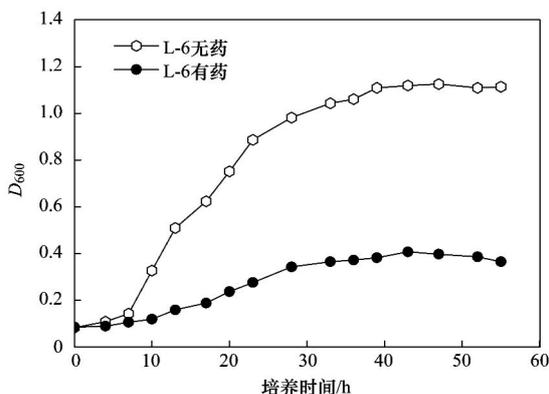


图6 菌株L-6生长曲线

Fig. 6 Growth curves of strain L-6

数生长期明显。而在以 ATZ 作为氮源的培养液中菌体生长相对缓慢, 且延迟期较长, 大约为 10 h。且菌体在有药培养基中的各个生长阶段特征不明显。

通过降解效率的考察发现该菌在前 12 h 内对 ATZ 的利用率很低(见图 7); 同时在对菌株生长曲线的考察时发现菌株有约 10 h 的生长延迟期, 说明降解菌株对 ATZ 的降解和降解菌的生长具有相关性。在前 12 h, 降解菌株对培养液需要一个适应的过程, 12 h 之后菌株生长开始加快, 此时降解菌株对 ATZ 的降解速率也开始加大。培养 84 h 后, 继续延长培养时间, ATZ 浓度的减少量基本保持平稳, 96 h ATZ 残留量仅为  $52.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 经计算降解率达到 89.2%, 降解效果理想。

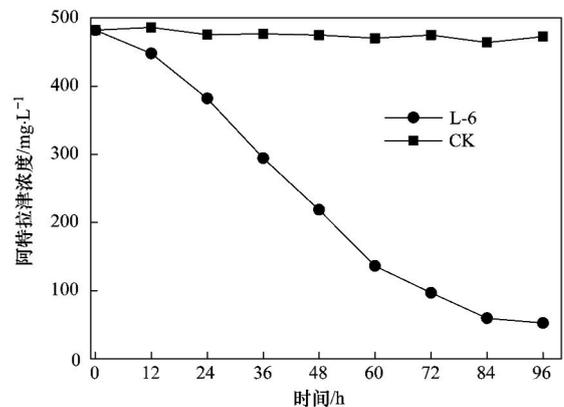


图7 菌株降解曲线

Fig. 7 Degradation curves of strains

## 2.6 降解菌对碳源的利用

在无碳无氮培养基中, 添加  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  作为氮源, 在不同的三角瓶里分别添加葡萄糖、乳糖、蔗糖、D-果糖、柠檬酸钠和淀粉为碳源, 浓度均为  $3.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。接种振荡培养 48 h, 测定 600 nm 处吸光值, 见图 8。碳源利用实验表明, L-6 菌株利用的碳源范围较窄, 可利用葡萄糖、果糖、蔗糖和柠檬酸钠作为碳源。对于葡萄糖, 果糖利用较好, 48 h 菌体  $D_{600}$  分别达到 1.231 和 1.031。在柠檬酸钠中也能生长但生长量仅为 0.334, 在蔗糖、乳糖、淀粉中几乎不生长,  $D_{600}$  分别为 0.076、0.025 和 0.048。

## 2.7 温度对降解效果的影响

接菌于 ATZ 浓度为  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准阿特拉津液体培养基, 分别在 15、20、25、30、35 和  $40^\circ\text{C}$ ,  $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡培养 96 h 后测 ATZ 降解率。每个条件下设 3 个重复样品。

培养 96 h 后发现 L-6 菌株温度适应范围较宽,

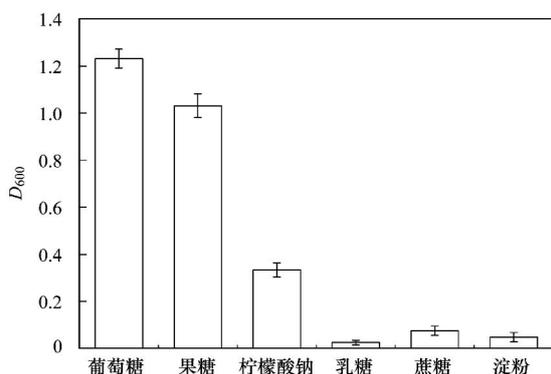


图 8 菌株对不同碳源的利用

Fig. 8 Utilization of different carbon sources by strain L-6

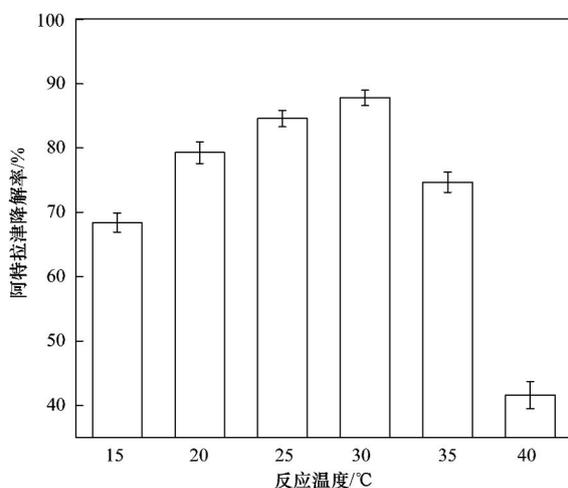


图 9 温度对 ATZ 降解率的影响

Fig. 9 Effect of temperature on atrazine biodegradation rate

在 15~35℃ 条件下能较好地降解 ATZ. 30℃ 以下范围内,降解率随温度的升高而增加,在 30℃ 时降解效果最佳,降解率达到 87.8%. 当温度达到 35℃ 时降解率为 74.7%,降解效率虽有下降但仍然较为理想. 当温度高达 40℃ 时,该降解菌株仍然能对 ATZ 产生降解效果,降解率为 41.6%,表明该菌株能耐较高温度.

### 2.8 pH 对降解效果的影响

分别将标准阿特拉津液体培养基 pH 值调至 6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0,接种后放入 30℃,150 r·min<sup>-1</sup> 摇床振荡培养,96 h 后测定降解率. 结果如图 10 所示,菌株 L-6 在 pH 值 7~9 范围内能够较好地降解 ATZ. 在 pH=8 时,降解效率最好,降解率为 88.9%. 随着 pH 的升高,降解率虽然随之降低,但仍能保持较为理想的降解效率. 当 pH=10 时,降解率为 64.6%,说明 L-6 菌株能适应一定的碱性环境. 而当 pH=6 时,降解效率受到很大影响,降解率下降为 45.6%,判断该菌株不适宜酸性环境.

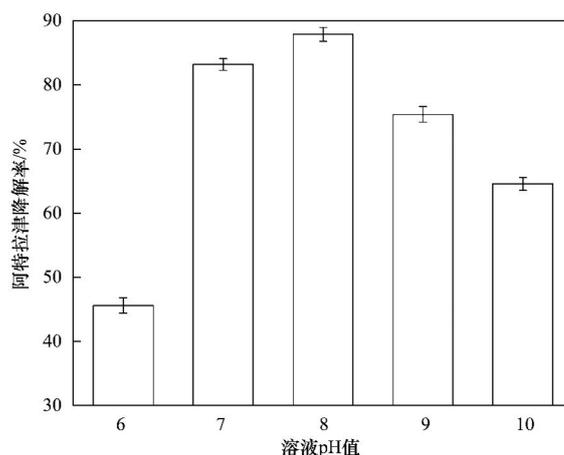


图 10 pH 值对 ATZ 降解率的影响

Fig. 10 Effect of pH on atrazine biodegradation

## 3 结论

(1) 由 SBR 贫营养原水曝气驯化,分离出 1 株对 ATZ 有较高降解能力的菌株 L-6. 通过扫描电镜观察,并根据生理生化反应及 16S rRNA 鉴定,判断该降解菌为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.).

(2) 降解菌药培养液中降解菌生长相对缓慢,且延迟期明显大于不含药培养基. 以 ATZ 为唯一氮源的培养液中作用 96 h,降解率达到 89.2%,降解效果理想.

(3) 菌株 L-6 利用的碳源范围较窄,可利用葡萄糖、果糖、蔗糖和柠檬酸钠作为碳源生长,不能利用蔗糖、乳糖、淀粉.

(4) 通过室内降解条件优化,确定 L-6 最佳降解条件:温度为 30℃,初始 pH 范围为 7~9.

### 参考文献:

- [1] Sene L, Converti A, Secchi G A R, et al. New aspects on atrazine biodegradation [J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2010, 53(2): 487-496.
- [2] Ralebitso T K, Senior E, Van Verseveld H W. Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments [J]. Biodegradation, 2002, 13(1): 1-19.
- [3] 吴卫东,周驰,郭晋君,等. 高压液相色谱法测定地表水和饮用水中的阿特拉津[J]. 干旱环境监测, 2011, 25(1): 1-3, 8.
- [4] Freitas L G, Singer H, Müller S R, et al. Source area effects on herbicide losses to surface waters-A case study in the Swiss Plateau [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2008, 128(3): 177-184.
- [5] 石颖. 环境内分泌干扰物的研究进展 [J]. 国外医学卫生与科学技术, 2006, 29(11): 106-108.
- [6] Bianchi C L, Pirola C, Ragaini V, et al. Mechanism and

- efficiency of atrazine degradation under combined oxidation processes[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2006, **64** (1-2): 131-138.
- [ 7 ] Freeman J L, Rayburn L A. Developmental impact of atrazine on metamorphig *Xenopus Laevis* as revealed by nuclear analysis and morphology[J]. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2004, **24**(7): 1648-1653.
- [ 8 ] Guérit I, Bocquené G, James A, *et al.* Environmental risk assessment; A critical approach of the European TGD in an *in situ* application [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, **71**(1): 291-300.
- [ 9 ] Safe S. Clinical correlates of environmental endocrine disruptors [J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2005, **16**(4): 139-144.
- [10] Mompelat S, Le Bot B, Thomas O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water[J]. *Environment International*, 2009, **35**(5): 803-814.
- [11] Byer J D, Struger J, Sverko E, *et al.* Spatial and seasonal variations in atrazine and metolachlor surface water concentrations in Ontario (Canada) using ELISA[J]. *Chemosphere*, 2011, **82** (8): 1155-1160.
- [12] Megharaj M, Ramakrishnan B, Venkateswarlu K, *et al.* Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective [J]. *Environment International*, 2011, **37** (8): 1362-1375.
- [13] Omotayo A E, Ilori M O, Amund O O, *et al.* Establishment and characterization of atrazine degrading cultures from Nigerian agricultural soil using traditional and Bio-Sep bead enrichment techniques[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, **48**(1): 63-70.
- [14] Kadian N, Malik A, Satya S, *et al.* Effect of organic amendments on microbial activity in chlorpyrifos contaminated soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2012, **95** (S1): S199-S202.
- [15] Cheyns K, Martin-Laurent F, Bru D, *et al.* Long-term dynamics of the atrazine mineralization potential in surface and subsurface soil in an agricultural field as a response to atrazine applications [J]. *Chemosphere*, 2012, **86**(10): 1028-1034.
- [16] 李绍峰, 秦蓁蓁, 陈雷. 膜生物反应器去除原水中微量阿特拉津的研究[J]. *水处理技术*, 2009, **35**(4): 52-55.
- [17] 赵斌, 何绍江. *微生物学实验* [M]. 北京: 科学出版社, 2002. 121-159.
- [18] Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* [M]. The Translate and Edit Group of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology of Microbiological Institute of Chinese Academy of Science. Beijing: Science Press, 1984.

## CONTENTS

CH <sub>4</sub> Concentrations and the Variation Characteristics at the Four WMO/GAW Background Stations in China .....	FANG Shuang-xi, ZHOU Ling-xi, XU Lin, <i>et al.</i> (2917)
Characteristics of Stable Isotopes in Precipitation over Northeast China and Its Water Vapor Sources .....	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, MA Qian, <i>et al.</i> (2924)
Study on Air Quality and Pollution Meteorology Conditions of Guangzhou During the 2010 Asian Games .....	LI Ting-yuan, DENG Xue-jiao, FAN Shao-jia, <i>et al.</i> (2932)
Characteristics and Sources of PM <sub>10</sub> -bound PAHs During Haze Period in Winter-Spring of Xiamen .....	QIAN Ran-ran, YAN Jing-ming, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (2939)
Improvement and Application of the Method for Determination of OCEC Split .....	WANG Li-hua, DONG Hua-bin, YAN Cai-qing, <i>et al.</i> (2946)
Characteristics of Mercury Pollution in Soil and Atmosphere in Songhua River Upstream Jia-pi-gou Gold Mining Area .....	ZHANG Gang, WANG Ning, WANG Yuan, <i>et al.</i> (2953)
Pollution Characteristics and Health Assessment of Particulate Mercury in Hebei Rural Households .....	ZHAO Ya-juan, GONG Wei-wei, LUAN Sheng-ji (2960)
Composition and Characteristics of Volatile Organic Chemicals Emission from Printed Circuit Board Factories .....	MA Ying-ge (2967)
Preliminary Study Concerning Emissions of the Volatile Organic Compounds from Cooking Oils .....	HE Wan-qing, TIAN Gang, NIE Lei, <i>et al.</i> (2973)
Characteristics of Biofilm Phase During the Long-term Degradation of a Toluene-contaminated Gas Stream Using BTF .....	HU Jun, ZHENG Jiang-ling, WU Yue-xin, <i>et al.</i> (2979)
Performance of Cross Flow Tricking Filter for H <sub>2</sub> S Gas Treatment .....	LIU Chun-jing, LI Jian, LIU Jia, <i>et al.</i> (2987)
Study on Mercury Re-emissions During Fly Ash Utilization .....	MENG Yang, WANG Shu-xiao (2993)
Construction of Semi-analytical Model for Inversing Total Suspended Matter in Lake Taihu and Chaohu and Assessment of Its Applicability .....	LIU Zhong-hua, LI Yun-mei, TAN Jing, <i>et al.</i> (3000)
Association Study Between Water Quality of Chaohu Lake and Resources Input in Agriculture of Basin .....	ZHANG Yan, GAO Xiang, ZHANG Hong (3009)
Sediment and Pore Water Nutrient Characteristics in Growing Zones of <i>Alternanthera philoxeroides</i> in the Shiwuli River, Chaohu Lake .....	LI Ru-zhong, LI Feng, ZHOU Ai-jia (3014)
Enrichment Characteristic of Phosphorus in Surface and Core Sediments of Chaohu Lake and the Pollution Quantification .....	LIU En-feng, DU Chen-chang, YANG Xiang-dong, <i>et al.</i> (3024)
Spatial Distribution Characteristics and Correlation Analysis of Organic Matter, Total Nitrogen and Total Phosphorus in Topsoil Around Chaohu Lake .....	CHEN Shu-qin, CHU Zhao-sheng, HU She-rong, <i>et al.</i> (3031)
Dynamic Characteristics of Nitrogen and Phosphorus in the Representative Input Tributaries of Danjiangkou Reservoir .....	LEI Pei, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing (3038)
Effects of Thermal Stratification on Spring Blooms in Xiangxi Bay of the Three Gorges Reservoir .....	LIU Liu, LIU De-fu, XIAO Shang-bin, <i>et al.</i> (3046)
Explore the Spatial and Temporal Patterns of Water Pollution in the Yincungang Canal of the Lake Taihu Basin, China .....	YANG Xiao-ying, LUO Xing-zhang, ZHENG Zheng, <i>et al.</i> (3051)
Analysis on the Forms and Release Potential of Nutrients in Sediments from Lakes in the West Jiangsu Province .....	LIU Tao, HU Zhi-xin, YANG Liu-yan, <i>et al.</i> (3057)
Spatial Distribution and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Surface Sediments from Western Lakeside Belt of Lake Taihu .....	GAN Shu, LU Shao-yong, QIN Pu-feng, <i>et al.</i> (3064)
Source Apportionment of Nitrogen and Phosphorus from Cropping Non-point Source Pollution in Nansi Lake Basin .....	LIU Jing, LU Feng, YANG Yan-zhao, <i>et al.</i> (3070)
Relationship Between Dissolved Organic Carbon and DBP in the Pearl River Water .....	HE Hong-wei, ZHOU Da-cheng, WANG Bao-qiang, <i>et al.</i> (3076)
Health Risk Assessment of Heavy Metals in Typical Township Water Sources in Dongjiang River Basin .....	WANG Ruo-shi, XU Qiu-jin, ZHANG Xian, <i>et al.</i> (3083)
Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments of Maozhou River, Shenzhen .....	SUN Jian-lin, NI Hong-gang, DING Chao, <i>et al.</i> (3089)
Distribution Patterns of Heavy Metals in Surficial Sediment and Their Influence on the Environment Quality of the Intertidal Flat of Luoyuan Bay, Fujian Coast .....	GAO Wen-hua, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (3097)
Study on the Changes of Macrobenthos Communities and Their Causes in Bohai Bay .....	CAI Wen-qian, LIU Lu-san, QIAO Fei, <i>et al.</i> (3104)
Construction of Groundwater Contamination Prevention Mapping System .....	WANG Jun-jie, HE Jiang-tao, LU Yan, <i>et al.</i> (3110)
Uncertainty Analysis of Groundwater Protection and Control Zoning in Beijing Plain .....	LU Yan, HE Jiang-tao, WANG Jun-jie, <i>et al.</i> (3117)
Nitrate Storage and Transport Within a Typical Karst Aquifer System in the Paralleled Ridge-valley of East Sichuan .....	YANG Ping-heng, YUAN Dao-xian, REN You-rong, <i>et al.</i> (3124)
Adsorption of Perfluorooctanesulfonate (PFOS) onto Modified Activated Carbons .....	TONG Xi-zhen, SHI Bao-you, XIE Yue, <i>et al.</i> (3132)
Investigation of the Oxidation Reaction of O <sub>3</sub> with Bromide Ion in Aqueous Solution .....	YU Xiao-ting, ZHANG Jia-hui, PAN Xun-xi, <i>et al.</i> (3139)
Determination of the Distribution of Relative Molecular Mass of Organic Matter by High Pressure Size Exclusion Chromatography with UV and TOC Detectors .....	ZHANG Han, DONG Bing-zhi (3144)
Black Water Bloom Induced by Different Types of Organic Matters and Forming Mechanisms of Major Odorous Compounds .....	LU Xin, FENG Zi-yan, SHANG Jing-ge, <i>et al.</i> (3152)
Effect of Fe and Fe/Ni Nanoparticles on the Biodegradation of Phenol by BFN at Different pH Values .....	KUANG Ye, ZHOU Yan, WANG Qing-ping, <i>et al.</i> (3160)
Pretreatment of High-Concentration Acrylic Acid Wastewater by the Multi-Stage Microaerobic Biological Fluidized Bed Reactor .....	LI Sha, ZHENG Sheng-zhi, SONG Yu-dong, <i>et al.</i> (3167)
Denitrification on Secondary Effluent of Acrylic Fiber Wastewater by Tri-Stage Biofilm Advanced Reactor .....	XU Shao-yang, JIANG Jin-yuan, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (3172)
Dynamic Adsorption of Cadmium (II) in Water on Modified Peanut Shells .....	LONG Teng, YI Xiao-yun, DANG Zhi (3177)
Adsorption Properties of Thiocyanate Anion on Granular Mg/Al Mixed Oxides .....	WANG Xiu-juan, WANG Hai-zeng, SUN Bao-wei, <i>et al.</i> (3182)
Model of Regularity of Ammonia Transformation Along Marine Biological Aerated Filter .....	LUO Rong-qiang, HOU Sha-sha, SHEN Jia-zheng, <i>et al.</i> (3189)
Aerobic Granular Sludge Bulking Due to the Lack of Nutrient and Its Recovery .....	ZHANG Zhu, GAO Da-wen, YUAN Xiang-juan, <i>et al.</i> (3197)
Enhanced Hydrolysis of Waste Activated Sludge by Biosurfactant .....	YI Xin, LUO Kun, YANG Qi, <i>et al.</i> (3202)
Enrichment and Identification of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria .....	LIU Dong-ying, QIU Yan-ling, YUAN Xian-zheng, <i>et al.</i> (3208)
Isolation, Identification and Characterization of an Atrazine Degrading Bacterium .....	LI Shao-feng, ZHU Jing, LI Tie-jing (3214)
Isolation, Identification and Enzymological Characterization of a New Fungal with High Laccase Production from Agricultural Waste Composting .....	REN Xiu-juan, FAN Chang-zheng, LU Lun-hui, <i>et al.</i> (3220)
Screening and Identification of Microorganisms for Decolorization of Molasses Spent Wash .....	LI Bi-jin, LIU You-yan, HE Kai, <i>et al.</i> (3228)
Analysis of Microbial Community Structure in Lactic Acid Fermentation from Kitchen Waste .....	LIU Jian-guo, WANG Qun-hui, WANG Shuang, <i>et al.</i> (3236)
Effect of Covalent Functionalization on DNA Cleavage Activity and ROS Formation of Single-Walled Carbon Nanotubes .....	WU Ren-ren, TAO Xue-Qin, DANG Zhi, <i>et al.</i> (3241)
Research on Mercury Methylation by <i>Geobacter sulfurreducens</i> and Its Influencing Factors .....	ZOU Yan, SI You-bin, YAN Xue, <i>et al.</i> (3247)
Uptake Effect of Cd and Pb by Rape Under Single Cd/Pb and Cd-Pb Combined Stress .....	WU Wen-fei, NAN Zhong-ren, WANG Sheng-li, <i>et al.</i> (3253)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in Farming Domestic Muscovy Duck Originated from Au/Cu Mining and Smelting Activities .....	HANG Xiao-shuai, LIANG Bin, WANG Wen-lin, <i>et al.</i> (3261)
Effects of the Environmental Hormone Cypermethrin on the Reproduction of <i>Brachionus calyciflorus</i> .....	DONG Xue-xing, YANG Jia-xin, LÜ Lin-lan, <i>et al.</i> (3266)
Research on Anti-Corrosion of <i>Thiobacillus</i> for the Geopolymer Solidification MSWI Fly Ash .....	JIN Man-tong, SUN Xin, DONG Hai-li, <i>et al.</i> (3272)
Chlorination Transformation and Volatilization of Heavy Metals in Fly Ash from the Incineration During the Disposal Process with Higher Temperature .....	LIU Jing-yong, SUN Shui-yu (3279)
Study on Greenhouse Gas Emissions from Urban Waste Disposal System; A Case Study in Xiamen .....	YU Yang, CUI Sheng-hui, LIN Jian-yi, <i>et al.</i> (3288)
Fate Analysis of NPEOs and Their Metabolites in Municipal Wastewater Plants .....	LIAN Jing, LIU Jun-xin (3295)

# 《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)

2012年9月15日 33卷 第9期

## ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 9 Sep. 15, 2012

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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com
订 购 处	全国各地邮局	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: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人