

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第11期

Vol.33 No.11

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

京津冀与长三角区域大气 NO₂ 污染特征 王英, 李令军, 刘阳 (3685)

2008~2011年夏季京津冀区域背景大气污染变化分析 杨俊益, 辛金元, 吉东生, 朱彬 (3693)

沧州市大气污染特征观测研究 王永宏, 胡波, 王跃思, 刘伟, 张武 (3705)

华北工业城市降水中金属元素污染特征及来源 李月梅, 潘月鹏, 王跃思, 王英锋, 李杏茹 (3712)

广州市交通主干道空气中苯系物的测量 叶丛雷, 谢品华, 秦敏, 凌六一, 郑尼娜, 刘文彬, 黄祖照 (3718)

基于实时交通信息的道路机动车动态排放清单模拟研究 黄成, 刘娟, 陈长虹, 张健, 刘登国, 朱景瑜, 黄伟明, 巢渊 (3725)

柴油轿车燃用煤基 F-T 合成油的排放特性 胡志远, 程亮, 谭丕强, 楼狄明 (3733)

九龙江口滨海湿地生源要素空间分布特征 余小青, 杨军, 刘乐冕, 田原, 余正, 王昌付 (3739)

南四湖水体氮、磷营养盐时空分布特征及营养状态评价 舒凤月, 刘玉配, 赵颖, 吴艳鹏, 李爱华 (3748)

天目湖流域湿地对氮磷输出影响研究 李兆富, 刘红玉, 李恒鹏 (3753)

北京市新建城区不透水地表径流 N、P 输出形态特征研究 李立青, 吕书丛, 朱仁肖, 刘泽权, 单保庆 (3760)

云阳宗海湖的分布与来源 张玉玺, 向小平, 张英, 陈玺, 刘景涛, 王金翠, 张媛静, 孙继朝 (3768)

南方某城市地表水体中粪源性污染指示微生物的分布特征研究 孙傅, 沙婧, 刘彦华 (3778)

三峡库区大宁河藻细胞昼夜垂直迁移研究 张永生, 郑丙辉, 姜霞, 郑浩, 钟娜, 陈春宵 (3787)

江淮农村生态型排水系统构建及截污作用研究 单保庆, 李楠, 唐文忠 (3797)

人工湿地植物床-沟壕系统水质净化效果 汪仲琼, 张荣斌, 陈庆华, 魏宏斌, 王为东 (3804)

潜流人工湿地演变对废水中有机物、氮及磷去除的影响 魏泽军, 谢建平, 黄玉明 (3812)

人工湿地处理含盐生活污水的特性研究 高峰, 杨朝晖, 李晨, 金卫红, 邓一兵 (3820)

催化湿式氧化法降解水中的 β-萘酚 刘杰, 于超英, 赵培庆, 陈革新 (3826)

ZVI/EDDS/Air 体系降解水中 2,4-二氯酚的研究 孙倩, 周海燕, 曹梦华, 吴琳娜, 王琳玲, 陈静, 陆晓华 (3833)

微波改性 MWNTs/TiO₂ 复合材料对 1,2,3-三氯苯的光催化降解研究 施周, 张茜, 张伟, 徐舜开, 张骅 (3840)

腐殖酸对生物炭去除水中 Cr(VI) 的影响机制研究 丁文川, 田秀美, 王定勇, 曾晓岚, 徐茜, 陈健康, 艾小雨 (3847)

臭氧氧化-活性污泥法处理含 PVA 工业废水的试验研究 邢晓琼, 黄程兰, 刘敏, 陈滢 (3854)

复合底物对颗粒化 EBPR 系统除磷特性的影响及优化试验研究 徐少娟, 孙培德, 郑雄柳, 董毅 (3859)

进水比例对水解反应器出水水质的影响研究 梁康强, 熊娅, 戚茂荣, 林秀军, 朱民, 宋英豪 (3868)

厌氧-准好氧联合型生物反应器填埋场渗滤液水质水量变化规律的研究 韩智勇, 刘丹, 李启彬, 陈馨 (3873)

我国城市污水处理回用调查研究 郭宇杰, 王学超, 周振民 (3881)

快雌醇和壬基酚在土壤中的吸附-解吸特征 姜鲁, 王继华, 李建忠, 辛佳, 李森, 刘翔 (3885)

黄土丘陵区刺槐林深层土壤有机碳矿化特征初探 马昕昕, 许明祥, 杨凯 (3893)

半干旱黄土丘陵区土壤结皮的地表水文效应 卫伟, 温智, 陈利顶, 陈瑾, 吴东平 (3901)

广西大石围巨型漏斗土壤中多环芳烃与环境因素 孔祥胜, 祁士华, 蒋忠诚, 黄保健 (3905)

酸性条件下黄铁矿氧化机制的研究 王楠, 易筱筠, 党志, 刘云 (3916)

淋洗条件下砂土和粉土水盐运移过程的监测研究 付腾飞, 贾永刚, 郭磊, 刘晓磊 (3922)

空气注射修复苯污染地下水模拟研究 樊艳玲, 姜林, 张丹, 钟茂生, 贾晓洋 (3927)

不同终点检测 5 种双酚 A 类化合物对 MCF-7 的细胞毒性 张帅帅, 刘堰, 刘树深, 朱祥伟 (3935)

上海世博园后滩湿地糙足类群落特征及其对环境因子的响应 陈立婧, 吴艳芳, 景钰湘, 王聪, 张饮江 (3941)

耐盐石油烃降解菌的筛选鉴定及其特性研究 吴涛, 谢文军, 依艳丽, 李小彬, 王君, 胡相明 (3949)

高效降酚菌株 *Ochrobactrum* sp. CH10 生长动力学和苯酚降解特性的研究 陈晓华, 魏刚, 刘思远, 孙江曼, 王芳芳, 李昊源, 刘宇军 (3956)

四溴双酚 A 好氧降解菌的筛选及其降解特性研究 钱艳园, 刘莉莉, 于晓娟, 丁丛, 王志平, 施玉衡, 李晨君 (3962)

长期施用有机和无机肥对黑土 *nirS* 型反硝化菌种群结构和丰度的影响 尹昌, 范分良, 李兆君, 宋阿琳, 朱平, 彭畅, 梁永超 (3967)

三氯乙烯在不同土壤中的吸附特性及其影响因素研究 何龙, 邱兆富, 吕树光, 逯志昌, 王治立, 隋倩, 林匡飞, 刘勇弟 (3976)

多菌灵在农田土壤中的降解及其影响因子研究 肖文丹, 杨肖娥, 李廷强 (3983)

硫化物对垃圾焚烧污泥焚烧飞灰高温过程中重金属挥发的影响 刘敬勇, 孙水裕 (3990)

关于医疗垃圾飞灰中二噁英在惰性气氛下的低温热脱附研究 纪莎莎, 李晓东, 徐旭, 陈彤 (3999)

第七届环境模拟与污染控制学术研讨会论文

稻田气溶胶 NH₃ 和气体 NO_x 排放在线测定研究 龚巍巍, 栾胜基 (4006)

一种可同时检测挥发性氯代烷烃和氯代烯烃的电子鼻的研制 文晓刚, 刘锐, 蔡强, 万梅, 汤灵容, 陈吕军 (4012)

基于被动采样技术的垃圾焚烧厂及周边大气中 PAHs 分布研究 孙少艾, 李洋, 周轶, 王海蛟, 孙英 (4018)

涪江流域农业非点源污染空间分布及污染源识别 丁晓雯, 沈珍瑶 (4025)

人工湿地不同区域基质磷含量的差异分析 曹雪莹, 种云霄, 余光伟, 仲海涛 (4033)

基于 RT-qPCR 选择性检测水中活性病原菌 林怡雯, 李丹, 吴舒旭, 何苗, 杨天 (4040)

消毒副产物生成的温度影响和动力学模型 张小璐, 杨宏伟, 王小任, 付静, 解跃峰 (4046)

一种厌氧微定量研究新方法 张仲良, 吴静, 蒋剑凯, 姜洁, 李怀志 (4052)

梧桐树叶作为反硝化碳源的研究 熊剑锋, 徐华, 阎宁, 张永明 (4057)

降解嗜盐菌 AD-3 的筛选、降解特性及加氧酶基因的研究 崔长征, 冯天才, 于亚琦, 董斐, 杨昕梅, 冯耀宇, 刘勇弟, 林汉平 (4062)

《环境科学》征订启事 (3711) 《环境科学》征稿简则 (3767) 信息 (3998, 4039, 4045, 4056) 专辑征稿通知 (4051)

耐盐石油烃降解菌的筛选鉴定及其特性研究

吴涛^{1,3}, 谢文军^{2*}, 依艳丽^{1*}, 李小彬³, 王君³, 胡相明⁴

(1. 沈阳农业大学土地与环境学院, 沈阳 110866; 2. 滨州学院山东省黄河三角洲生态环境重点实验室, 滨州 256603; 3. 滨州学院生命科学系, 滨州市食品安全重点实验室, 滨州 256603; 4. 滨州学院城市与环境系, 滨州 256603)

摘要: 为得到高效耐盐石油烃降解菌, 从黄河三角洲石油污染盐渍化土壤中分离出 39 株细菌, 经液体培养初筛和土壤培养复筛实验, 得到 1 株高效耐盐石油烃降解菌 BM38. 通过形态特征、生理生化特征和 16S rDNA 序列分析, 确定该菌为恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*). 通过液体培养实验, 研究了 BM38 的耐盐和产生物表面活性剂特性以及对不同烃的利用能力. 结果表明, 在含 0.5% ~ 6.0% NaCl 液体培养基中 BM38 生长良好, 属中度耐盐菌. 在高盐环境下 BM38 具有较强的分解石油烃能力, 其中在含 1.0% NaCl 液体培养基中, 降解 7 d 后, 原油降解率达到 73.5%; 在含盐量 0.22% 和 0.61% 土壤中添加 BM38, 降解 40 d 后, 土壤总石油烃降解率达到 40% 以上. BM38 能产生一种生物乳化剂, 盐浓度对这种乳化剂的乳化能力影响较大, 当 NaCl 浓度增加到 1.0%, 乳化值 (EI24) 开始迅速降低, 但在 NaCl 浓度为 2.0% 时, EI24 仍达到 61.0%. BM38 能够利用环己烷、甲苯、异辛烷、菲和正十六烷为唯一碳源生长, 其中对正构烷烃和芳烃具有较强的利用能力.

关键词: 石油污染; 土壤; 石油烃降解菌; 耐盐; 恶臭假单胞菌; 乳化

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)11-3949-07

Isolation, Identification and Characterization of Halotolerant Petroleum-degrading Bacteria

WU Tao^{1,3}, XIE Wen-jun², YI Yan-li¹, LI Xiao-bin³, WANG Jun³, HU Xiang-ming⁴

(1. College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Eco-Environmental Science for Yellow River Delta, Binzhou University, Binzhou 256603, China; 3. Key Laboratory for Food Safety of Binzhou, Department of Life Science, Binzhou University, Binzhou 256603, China; 4. Department of City and Environment, Binzhou University, Binzhou 256603, China)

Abstract: To obtain efficient halotolerant petroleum-degrading bacteria, 39 bacteria strains were isolated from 30 petroleum contaminated saline soil samples in Yellow River Delta, an important base of petroleum production in China. One bacterium (strain BM38) was found to efficiently degrade crude oil in highly saline environments based on a series of liquid and soil incubation experiments. According to its morphology, physiochemical characteristics and 16S rDNA sequence analysis, this strain was identified as *Pseudomonas putida*. Moreover, a series of liquid incubation experiments were conducted to investigate its characteristics such as halotolerance, biosurfactants production and degrading efficiency for various hydrocarbons. The salt resistance test demonstrated that strain BM38 grew well at NaCl concentrations ranging from 0.5% to 6.0%. Petroleum degradation experiments showed that strain BM38 could degrade 73.5% crude oil after 7 days in a liquid culture medium containing 1.0% NaCl and remove more than 40% of total petroleum hydrocarbons after 40 days in the soil with 0.22% and 0.61% of salinity, these results proved that the strain was effective in removing petroleum hydrocarbons. Strain BM38 could produce a bioemulsifier in a liquid culture medium. The NaCl concentration had the significant effect on the EI24 of fermentation broth, which decreased sharply if the NaCl concentration was greater than 1.0%. However, the EI24 of BM38 was still quite high in the presence of 2.0% of NaCl, and the value was 61.0%. Furthermore, this strain was also able to grow in mineral liquid media amended with hexadecane, toluene, phenanthrene, isooctane and cyclohexane as the sole carbon sources. Among these hydrocarbons, strain BM38 showed relatively high ability in degrading n-alkanes and aromatic hydrocarbons. The results indicated that strain BM38 had potential for application in bioremediation of petroleum-contaminated saline soil.

Key words: petroleum contamination; soil; petroleum-degrading bacteria; halotolerant; *Pseudomonas putida*; emulsification

土壤石油污染是世界各国普遍关注的环境问题. 微生物降解是修复石油污染土壤的一种有效、经济、环保的方法, 是石油烃类有机污染物去除的主要机制^[1,2]. 有关于石油烃降解微生物的筛选、鉴定及其对石油污染土壤修复的成功实例, 国内外已有很多报道^[3-6]. 然而, 土壤的石油污染常伴随

收稿日期: 2012-03-09; 修订日期: 2012-05-08

基金项目: 山东省科技攻关计划项目(2009GG10006012); 滨州市科技发展计划项目([2010]26); 山东省中青年科学家科研奖励基金项目(2008BS09024); 国家自然科学基金项目(31000059); 滨州学院服务滨州行动计划项目(BZXYFB20100404)

作者简介: 吴涛(1980~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为污染土壤的生物修复, E-mail: wby200612@126.com

* 通讯联系人, E-mail: xwjeric@yahoo.com.cn; wtsdbz@yahoo.cn

着高盐环境,高浓度盐离子严重制约石油烃降解菌的生长及其对于石油烃的代谢能力,传统的非耐盐微生物并不适合对污染的高盐环境进行生物修复^[7]. 因此,筛选耐盐石油烃降解菌,对石油污染盐渍化土壤进行生物修复,是目前面临的一项重要课题. 现已报道的耐盐石油烃降解菌,主要从油田废水和油污海水中分离得到^[8~10],由于土壤环境较复杂,这些降解菌在高盐环境下修复石油污染土壤的应用潜力很有限^[11]. 盐渍化土壤中土著微生物具有独特的耐盐机制,能够适应高盐环境,可能对修复高盐环境下土壤的石油污染具有较高潜力. 笔者从黄河三角洲石油污染盐渍化土壤中筛选出 1 株高效耐盐石油烃降解菌,通过形态观察、生理生化特征和 16S rDNA 序列比对对其进行鉴定,同时初步研究了该菌的特性,以期高盐环境下石油污染土壤的生物修复提供依据.

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源

原油取自胜利油田某采油厂; 分离菌种土样采

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Primary physico-chemical properties of the tested soils

pH(H ₂ O)	盐分/%	有机碳/g·kg ⁻¹	总氮/g·kg ⁻¹	总磷/g·kg ⁻¹	速效氮/mg·kg ⁻¹	速效磷/mg·kg ⁻¹	总石油烃/mg·kg ⁻¹
7.90	0.22	7.78	0.63	0.75	27.3	24.1	57.89

富集培养基:无机盐液体培养基 1 000 mL, NaCl 10 g, 原油 5 g.

降油培养基:无机盐液体培养基 1 000 mL, NaCl 10 g, 原油 1 g.

产表面活性剂培养基:无机盐液体培养基 1 000 mL, 牛肉膏 3 g, pH 值调至 7.4.

以上培养基均于 121℃ 灭菌 30 min.

1.2 耐盐石油烃降解菌的富集分离

取采集的石油污染土壤样品 5.0 g, 接入 100 mL 富集培养基中, 置于 30℃ 恒温摇床 160 r·min⁻¹ 富集培养 7 d. 移取第一次富集培养液, 按 10% 比例接入新鲜的富集培养基中, 相同培养条件下进行第二次富集培养, 共重复 3 次. 将得到的富集培养液进行梯度稀释, 取合适稀释度涂布含 1.0% NaCl 的牛肉膏蛋白胨培养基平板, 置于 30℃ 恒温培养箱中, 培养 5 d. 挑取具有不同菌落形态的单菌落, 经纯化后保存于牛肉膏蛋白胨斜面.

1.3 高效耐盐石油烃降解菌的筛选

自黄河三角洲不同重盐碱地区的 10 口老油井周围, 取距离地表 2~10 cm 处污染土壤 0.5 kg 左右, 共采集 30 份土壤样品.

1.1.2 供试土壤

土壤培养筛选实验用土, 取自胜利油田某一油井周围表层土壤(0~20 cm), 其基本理化性质见表 1. 所取土壤于 45℃ 下干燥 4 d, 过 2 mm 筛, 混匀. 121℃ 下灭菌 1 h, 每隔 24 h 重复一次, 共进行 5 次. 在无菌条件下, 分成 3 份, 将含不同量的 NaCl + Na₂SO₄ (摩尔比为 6:1) 混合液和溶于石油醚的原油溶液分别撒入土中, 混匀, 于 40℃ 下干燥 10 d 后, 充分混匀, 制成最终含油量为 1.96% (质量比), 含盐量分别为 0.22%、0.61%、1.20% 的土样.

1.1.3 培养基

无机盐液体培养基: KH₂PO₄ 0.68 g, Na₂HPO₄ 1.79 g, MgSO₄ 0.35 g, NO₃NH₄ 1 g, 酵母粉 0.01 g, 微量元素混合液 1 mL, pH 值调至 7.4, 蒸馏水定容至 1 000 mL. 其中微量元素混合液: CuCl₂·2H₂O 1 g, CoCl₂·6H₂O 4 g, ZnCl₂ 2 g, CaCl₂ 40 g, H₃BO₃ 0.5 g, NaMoO₄·2H₂O 2 g, FeCl₃·7H₂O 40 g, AlCl₃·6H₂O 1 g, MnCl₂·4H₂O 8 g, 溶于 1 000 mL 蒸馏水.

1.3.1 培养液中石油烃降解实验

将纯化后菌株接种到牛肉膏蛋白胨液体培养基, 置于 30℃ 恒温摇床 180 r·min⁻¹ 培养 24 h, 离心, 用磷酸缓冲液洗涤菌体 3 次, 再用磷酸缓冲液稀释, 制成细胞数约为 1 × 10⁸ 个·mL⁻¹ 的菌悬液^[12]. 按 10% 接种量接入至 100 mL 降油培养基, 置于 30℃ 恒温摇床 180 r·min⁻¹ 培养 7 d, 同时以不加菌降油培养基作对照, 重复 3 次. 培养结束时, 向培养液中加入 60 mL 二氯甲烷, 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min. 上清液移入分液漏斗再用二氯甲烷提取两次. 混合有机相, 用无水硫酸钠过滤脱水后置于预先恒重的小烧杯中, 室温氮气吹脱至恒重, 称重残油量.

1.3.2 土壤培养石油烃降解实验

选取液体培养基中石油烃降解率较高的 5 株菌, 进行土壤复筛实验. 供试土壤石油烃质量分数 1.96%, 设含盐量为 0.22%、0.61%、1.20% 这 3 个水平, 以不加菌土样为对照, 共 18 个处理, 重复 3 次. 具体实验方法为: 将菌株按 1.3.1 节的方法制

备菌悬液. 取 10 mL 菌悬液, 均匀喷洒入装有 100 g 土的 250 mL 三角瓶中. 加入 NH_4NO_3 和 K_2HPO_4 , 以补充土壤中 N、P 营养, 使土壤中 C: N: P 约为 50: 10: 1^[13]. 每隔 3 d 喷洒无菌水, 使土壤含水量保持在 18% ~ 20% (质量比). 置于 30℃ 恒温培养箱, 培养 40 d.

土壤石油烃含量采用二氯甲烷提取, 重量法测定. 具体方法为: 取 10.0 g 干土, 与硅藻土混匀, 以二氯甲烷为提取剂, 利用 E-916 快速溶剂萃取仪循环提取 2 次. 提取液转入分液漏斗, 用 100 mL 蒸馏水冲洗 2 次, 收集有机相, 用无水硫酸钠过滤脱水后置于预先恒重的小烧杯中, 室温氮气吹脱至恒重, 称重残油量.

1.4 菌株鉴定

形态观察和生理生化实验参照文献[14], 菌株的 16S rDNA 克隆参照文献[15]进行. 正向引物: 5'-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3'; 反向引物: 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'. 16S rDNA 序列由中美泰和生物技术公司测定. 将测定的序列在 GenBank 中用 Blast 软件与已知序列进行同源性分析, 采用 clusterX 1.81 软件进行多序列比对, 用 Mega 4.0 软件包中的 Kimura 2-Parameter Distance 模型进行多序列匹配排列, 以邻接法 (Neighbor-Joining Method) 构建 16S rDNA 系统发育树.

1.5 菌株耐盐实验

调整 LB 液体培养基中的 NaCl 加入量, 使 NaCl 浓度分别为 0.5%、2.0%、4.0%、6.0%、8.0%, 接种量 1%, pH 值 7.4, 于 30℃、150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养, 每隔一定时间取样, 于 630 nm 处测 D 值.

1.6 菌株产生物表面活性剂实验

采用产表面活性剂培养基进行培养, 在 0、12、24、36、48、60、72 h 取样, 测定菌液的表面张力和乳化值. 调整产表面活性剂培养基中的 NaCl 加入量, 使 NaCl 浓度分别为 0.5%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%, 接种量 1%, 于 30℃、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下摇床培养 36 h, 测定菌液的表面张力和乳化值. 表面张力测定方法: 将发酵液在 4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心 20 min, 去除菌体, 室温下以 JK99B 全自动张力仪测定菌液表面张力. 乳化值测定方法: 在刻度试管中, 加入 5 mL 液体石蜡和 5 mL 去菌体菌液, 室温振荡 2 min 后, 静止 24 h. 乳化值 (EI24) 用乳化层的高度与液体石蜡总高度之比, 乘以 100% 计算.

1.7 菌株利用不同烃类物质的定性实验

分别配制含有 0.1% 环己烷、甲苯、异辛烷、菲

和正十六烷为唯一碳源的无机盐液体培养基, 每种底物做 3 个重复. 接种量 10%, pH 值 7.4, 于 30℃、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养 7 d, 以不加碳源的接菌培养液做空白对照, 于 630 nm 处测 D 值.

2 结果与讨论

2.1 耐盐石油烃降解菌的分离与筛选

土壤样品经 3 次富集培养、分离及纯化, 共得到 39 株细菌 (编号 BM1 ~ BM39). 以原油为碳源, 通过液体培养石油烃降解实验对分离菌株进行筛选, 培养 7 d 后, 各菌株对原油降解率如图 1. 从中可知, 分离菌株在含 1.0% NaCl 无机盐液体培养基中对原油的降解能力有很大差异, 39 株菌对原油降解率为 6.0% ~ 73.5%. 其中, BM5、BM10、BM16、BM26 和 BM38 对原油降解率达到 50% 以上, 降解率为 51.2% ~ 73.5%, 与国内外同类研究相比, 5 株菌的降解效果处于相对较高的水平, 高于菌 CZ-1 对胜利油田原油的降解率 (34.3%, 7 d)^[16] 和菌 ptr1-ptr24 对辽河油田原油的降解率 (7.3% ~ 41%, 7 d)^[17], 与 P11、BB3、WL2 和 MVL1 等降解菌对尼日尼亚伯尼轻质原油的降解率相当 (26.4% ~ 75.1%, 6 d)^[6].

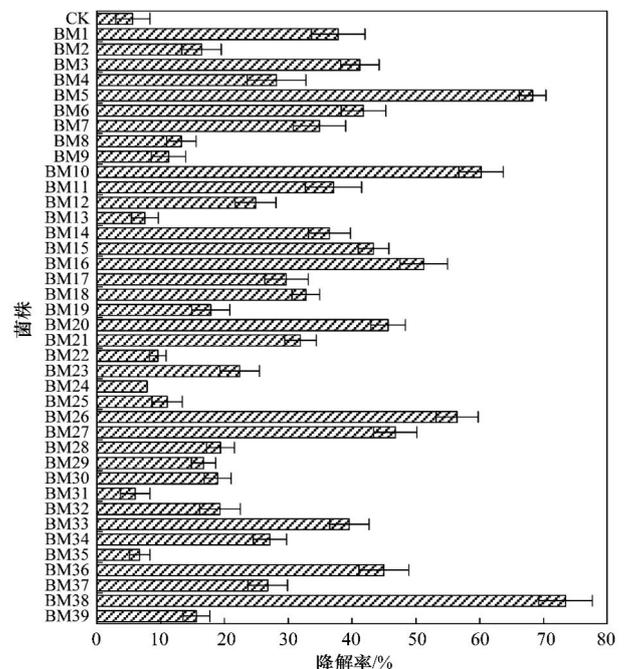


图 1 分离菌株在液体培养基中的石油烃降解率

Fig. 1 Degradation of crude oil by the isolated strains in liquid cultivation medium

为得到高盐环境下石油污染土壤修复效率稳定、高效的菌株, 选取液体培养基中石油烃降解率较高的 5 株菌, 进行土壤复筛实验. 添加 5 菌株在

不同含盐量土壤中的石油烃降解率见表 2。可以看出,在含盐量为 0.22% 土壤中,5 株石油烃降解菌的除油率显著高于不加降解菌的自然体系。降解 40 d 后,投加菌 BM38 石油烃降解率为 40.7%,与对照相比提高了 25.1%,显著高于投加菌 BM16、BM26 和 BM10 的石油烃降解率 ($P < 0.05$)。在含盐量为 0.61% 土壤中,菌 BM26、BM10、BM5 和 BM38 的除油率显著高于不加降解菌的自然体系,与对照相比,石油烃降解率分别提高了 6.0%、9.2%、13.8% 和 28.8%。BM38 石油烃降解率显著高于投加菌 BM26、BM10、BM5 和 BM16 的石油烃降解率 ($P < 0.05$)。在含盐量为 1.20% 土壤中,菌 BM5 和 BM38 的除油率显著高于不加降解菌的自然体系,与对照相比,石油烃降解率分别提高了 11.1% 和 20.5%,

BM38 石油烃降解率又显著高于 BM5 的石油烃降解率,投加菌 BM16、BM26、BM10 与对照相比,石油烃降解率差异不显著。土壤复杂环境影响微生物活性和酶活性^[18],在液体培养基中 5 株降解菌对石油烃都具有较高的降解率,但在实际不同盐含量石油污染土壤修复实验中,各菌株除油效果有较大差异,BM38 除油效果明显高于 BM16、BM26、BM10 和 BM5 的除油效果。大量研究表明,随着盐浓度的增加微生物降解效率降低^[19,20],本研究中,分别在含盐量为 0.22% 和 0.61% 土壤中添加菌 BM38,二者石油烃降解率差异不显著 ($P < 0.05$),降解率都达到 40% 以上,表明 BM38 具有一定的耐盐性,在高盐环境土壤中具有较强的分解石油烃能力。因此选择 BM38 作进一步研究。

表 2 5 株菌在不同含盐量土壤中的石油烃降解率¹⁾

Table 2 Degradation of crude oil by five isolated strains in soils with different salinity

含盐量/%	降解率/%					
	对照	BM16	BM26	BM10	BM5	BM38
0.22	15.6 ± 0.79	22.5 ± 2.36 ^{a,b}	27.9 ± 3.47 ^{a,b}	28.5 ± 0.92 ^{a,b}	35.4 ± 3.12 ^a	40.7 ± 2.51 ^a
0.61	13.4 ± 1.32	15.7 ± 1.12 ^b	19.4 ± 2.41 ^{a,b}	22.6 ± 1.39 ^{a,b}	27.2 ± 1.94 ^{a,b}	42.2 ± 1.46 ^a
1.20	10.7 ± 1.89	11.3 ± 0.99 ^b	12.6 ± 1.57 ^b	13.9 ± 1.85 ^b	21.8 ± 2.18 ^{a,b}	31.2 ± 3.63 ^{a,c}

1) a: 添加菌 BM16、BM26、BM10、BM5、BM38 的土壤与对照土壤石油烃降解率的差异显著性, $P < 0.05$; b: 添加菌 BM16、BM26、BM10、BM5 的土壤与添加菌 BM38 土壤石油烃降解率的差异显著性, $P < 0.05$; c: 添加菌 BM38 在含盐量 0.61%、1.20% 土壤中与在含盐量 0.22% 土壤中石油烃降解率的差异显著性, $P < 0.05$

2.2 菌株鉴定

BM38 菌株的形态为短杆状,无芽孢,革兰氏阴性,一端丛生鞭毛。在牛肉膏蛋白胨培养基平板上,30℃ 培养 24 h,菌落呈圆形、边缘不整齐,湿润、白色、表面光滑。主要生理生化特性见表 3。参照文献^[14],初步鉴定为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。

表 3 菌株 BM38 主要的生理生化特性¹⁾

Table 3 Main physiological and biochemical properties of strain BM38

特征	结果	特征	结果
接触酶	+	明胶液化	-
氧化酶	+	利用:葡萄糖	+
甲基红试验	-	阿拉伯糖	+
V-P 测定	-	木糖	+
水解淀粉	-	果糖	+
硝酸盐还原	-	麦芽糖	-
柠檬酸盐利用	+	蔗糖	-
乙酰胺水解酶	+	乳糖	-
苯丙氨酸脱氨酶	-	半乳糖	+

1) “+”为阳性;“-”为阴性

菌株 BM38 的 PCR 扩增产物经测序表明长度为 1 428 bp, GenBank 登录号为 JQ619028。利用 GenBank Blast 软件进行序列同源性比较,结果显示菌株 BM38 的 16S rDNA 序列与假单胞菌属

(*Pseudomonas*) 具有高度同源性。以菌株 BM38 16S rDNA 序列为基础构建的系统发育树如图 2 所示。可以看出,菌株 BM38 与 *Pseudomonas putida* (AB513735) 聚于一类,同源性达到 100%。根据形态观察、生理生化特征和 16S rDNA 序列比对,鉴定 BM38 为恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)。

2.3 菌株耐盐特性

微生物在自然环境中的耐盐性能决定了生物修复石油污染盐渍化土壤的效果^[21]。通过液体培养实验研究了 BM38 对中等盐度的耐受性,不同 NaCl 浓度下 BM38 的生长状况如图 3。可以看出,在含 0.5% ~ 6.0% NaCl 的培养基中 BM38 生长良好。当 NaCl 浓度为 8.0% 时,培养 32 h 后,培养液 D_{630} 只从 0.06 增加到 0.12,菌株生长几乎受到完全抑制,表明 BM38 耐受盐度范围为 0.5% ~ 6.0%,属中度耐盐菌^[22]。盐浓度影响菌株生长率,随着浓度的增加,菌株生长曲线的适应期变长,对数增长期生长速率变慢,这与 Hua^[23] 和 Mukherji^[24] 等的研究结果一致。生长适应期变长,可能是由于接种到不同盐度的培养基上,菌株要经过一定时间的调整和适应,以合成多种酶和其他物质,来完善体内渗透调节机制。

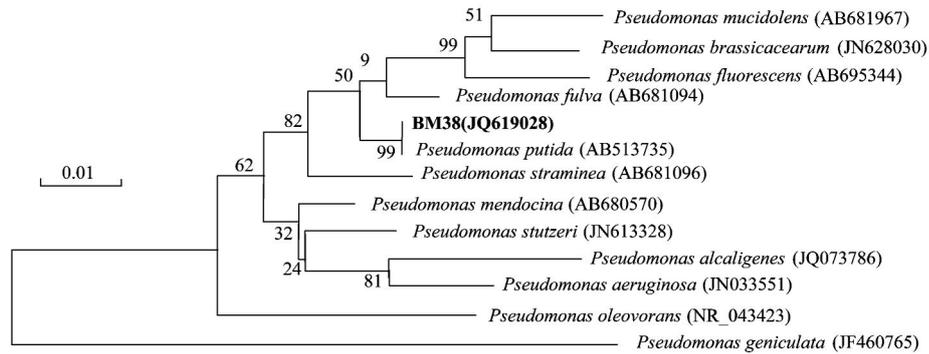


图2 菌株 BM38 基于 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree generated from an alignment of the 16S rDNA of strain BM38

对数增长期增长速率变慢,可能由于高盐环境下微生物要耗费能量调整自身的代谢途径或分泌胞外多聚物抵御外界不良环境因子作用,使用于生长繁殖的能量相对减少,造成自身生长速率变慢,世代时间变长^[25].

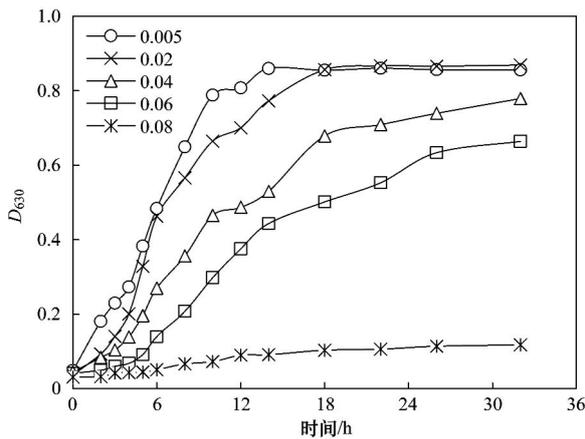


图3 BM38 在不同 NaCl 浓度下的生长曲线

Fig. 3 Growth curves of strain BM38 in different NaCl concentration cultures

2.4 菌株产生物表面活性剂特性

生物表面活性剂是微生物在一定条件下产生的具有一定表面活性的代谢产物.它能够增强石油烃等憎水性化合物的亲水性和生物可利用性,继而提高石油烃的降解速率^[26],目前关于假单胞菌产生的生物表面活性剂已有很多报道^[27,28].表面张力和乳化性能是菌株产生物表面活性剂的两个重要指标. BM38 在不同培养时间发酵液的表面张力和乳化值如图4.可以看出, BM38 培养从0~12 h,发酵液乳化值迅速增加,培养到12 h时, EI24 达到83.5%,此后发酵液乳化值基本不变.结合图3可知, BM38 表现出的最大乳化性能出现在生长稳定期. BM38 培养0~72 h,发酵液表面张力从62.9 mN·m⁻¹降低

到51.3 mN·m⁻¹,降低幅度较小.根据以往研究, Calvo 等^[27]指出微生物可产生2种不同类型的生物表面活性剂,一种是一些相对分子质量低的小分子,它们能显著降低空气-水或油-水界面的张力,从而有助于油水乳化;另一种是一些生物大分子,它们虽不能显著降低表面张力,但对油水界面表现出很强的亲和力,在低浓度下具有高的乳化性能,又称作生物乳化剂. BM38 发酵液表面张力降低不显著,但具有较高的乳化性能,表明它产生的是一种生物乳化剂.

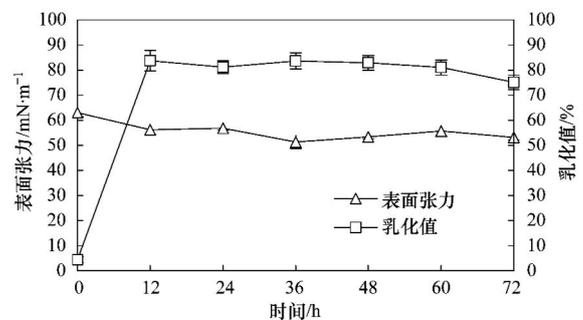


图4 在不同培养时间下 BM38 发酵液的表面活性

Fig. 4 Surface activity of culture supernatant of strain BM38 at different times

不同 NaCl 浓度下 BM38 发酵液的表面张力和乳化值如图5.可以看出, NaCl 浓度对 BM38 发酵液的表面张力影响不大,变化范围在50.1~56.9 mN·m⁻¹之间. NaCl 浓度对 BM38 的乳化值影响较大.当 NaCl 浓度 > 1.0% 时, EI24 开始迅速降低,浓度达到4.0%时, EI24 降低到10%.但 BM38 在 NaCl 浓度为2.0%时,仍具有较高的乳化性能, EI24 为61.0%,这接近于已报道的最大 EI24 值65%^[29],表明 BM38 在一定的盐环境下仍具有较高的乳化性能.

2.5 菌株利用不同烃类物质特性

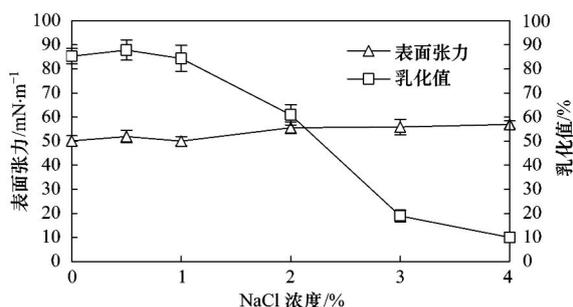


图5 在不同 NaCl 浓度下 BM38 发酵液的表面活性

Fig. 5 Surface activity of culture supernatant of strain BM38 at different NaCl concentrations

不同石油烃降解菌对于石油中各种不同的烃类具有不同的降解能力。多数石油烃降解菌一般只能降解一种或几种烃类^[30]。本研究选取了代表几种石油烃组分化学结构的物质,正十六烷、异辛烷、甲苯、菲和环己烷,分别以这几种物质为唯一碳源配制无机盐培养基,考察 BM38 对石油烃各组分的利用能力。BM38 以不同烃类为底物的生长状况如图 6。可以看出,BM38 能够利用正十六烷、异辛烷、甲苯、菲和环己烷为唯一碳源生长。从利用各种底物的情况来看,BM38 以正十六烷为底物生长最好,其次是单环芳烃甲苯,然后是 3 环的芳烃菲,以支链烷烃异辛烷和脂环烃环己烷为底物生长状况较差,表明 BM38 对正构烷烃和芳烃具有较强的代谢能力,对支链烷烃和脂环烃代谢能力较差。一般来说,石油烃中含有的正构烷烃最易被微生物降解,支链烷烃和芳烃较难降解,脂环烃最难被微生物利用,BM38 对石油烃各组分利用也具有这些相同特性。微生物对多环芳烃的降解是决定石油烃污染物在自

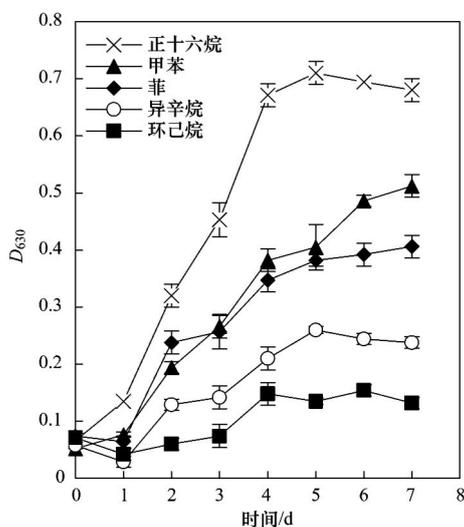


图6 BM38 以不同烃类为底物的生长状况

Fig. 6 Growth of strain BM38 in different hydrocarbon media

然界中最主要的生物降解过程,目前能利用芳烃进行生长的细菌主要有假单胞菌属、分支杆菌属和芽孢杆菌属^[31-33]。BM38 能利用芳烃为唯一碳源很好生长,进一步表明该菌在修复石油污染的环境中具有一定的应用潜力。

3 结论

(1) 本研究从黄河三角洲石油污染盐渍化土壤中分离出 39 株细菌,经初步液体培养石油降解实验,筛选出石油烃降解率高于 50% 的菌 5 株。通过土壤培养石油降解实验,确定了 1 株高效耐盐石油烃降解菌 BM38。经鉴定 BM38 为恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)。

(2) 耐盐实验表明,盐浓度影响 BM38 生长率,随着盐浓度的增加,菌株生长曲线的适应期变长,对数增长期生长速率变慢。在含 0.5% ~ 6.0% NaCl 液体培养基中 BM38 生长良好,属中度耐盐菌。石油降解实验表明,在高盐环境下 BM38 具有较强的分解石油烃能力,其中在含 1.0% NaCl 液体培养基中,降解 7 d 后,原油降解率达到 73.5%;在含盐量 0.22% 和 0.61% 土壤中添加 BM38,降解 40 d 后,土壤总石油烃降解率达到 40% 以上。

(3) BM38 能产生一种生物乳化剂,其发酵液最大乳化能力出现在生长稳定期。NaCl 浓度对发酵液的乳化能力影响较大,随 NaCl 浓度增加 EI24 降低,在 NaCl 浓度为 2.0% 时,EI24 达到 61.0%,仍具有较高的乳化性能。BM38 能够利用环己烷、甲苯、异辛烷、菲和正十六烷为唯一碳源生长,其中对正构烷烃和芳烃具有较强的利用能力,对支链烷烃和脂环烃利用能力较差。结果表明,BM38 在修复石油污染盐渍化土壤中具有很大的应用潜力。

参考文献:

- [1] Margesin R, Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2001, 67(7): 3127-3133.
- [2] Kleinstueber S, Riis V, Fetzer I, et al. Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2006, 72(5): 3531-3542.
- [3] Leahy J G, Colwell R R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment[J]. Microbiological Reviews, 1990, 54(3): 305-315.
- [4] Von derWeid I, Marques J M, Cunha C D, et al. Identification and biodegradation potential of a novel strain of *Dietzia cinnamea* isolated from a petroleum-contaminated tropical soil [J].

- Systematic & Applied Microbiology, 2007, **30**(4): 331-339.
- [5] Verma S, Bhargava R, Pruthi V. Oily sludge degradation by bacteria from Ankleshwar, India [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2006, **57**(4): 207-213.
- [6] Obayori O S, Adebusoye S A, Adewale A O, *et al.* Differential degradation of crude oil (Bonny light) by four *Pseudomonas* strains[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, **21**(2): 243-248.
- [7] Margesin R, Schinner F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2001, **56**(5-6): 650-663.
- [8] 夏文杰,董汉平,俞理,等.一株耐温耐盐烃降解菌 *Geobacillus* sp. XDF-4 性能[J]. 化工学报, 2010, **61**(11): 2951-2959.
- [9] Gauthier M J, Lafay B, Christen R, *et al.* Marinobacter hydrocarbonoclasticus gen. nov., sp. nov., a new, extremely halotolerant, hydrocarbon-degrading marine bacterium [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 1992, **42**(4): 568-576.
- [10] Nicholson C A, Fathepure B Z. Biodegradation of benzene by halophilic and halotolerant bacteria under aerobic conditions[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2004, **70**(2): 1222-1225.
- [11] Kapley A, Purohit H J, Chhatre S, *et al.* Osmotolerance and hydrocarbon degradation by a genetically engineered microbial consortium[J]. Bioresource Technology, 1999, **67**(3): 241-245.
- [12] 徐金兰,黄廷林,唐智新,等.石油污染土壤生物修复高效菌的降解特性[J]. 石油学报(石油加工), 2009, **25**(4): 570-576.
- [13] Yerushalmi L, Rocheleau S, Cimpoia R, *et al.* Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbon in contaminated soil [J]. Bioremediation Journal, 2003, **7**(1): 37-51.
- [14] 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. 67-105, 128-191.
- [15] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. (3rd ed.). Beijing: Science Press, 2002. 597-627.
- [16] 王海峰,包木太,韩红,等.一株枯草芽孢杆菌分离鉴定及其降解稠油特性[J]. 深圳大学学报(理工版), 2009, **26**(3): 221-227.
- [17] 袁红莉,杨金水,王占生,等.降解石油微生物菌种的筛选及降解特性[J]. 中国环境科学, 2003, **23**(2): 157-161.
- [18] 戴冬娟,李广贺,张旭,等.酸性土壤环境石油烃生物降解效应[J]. 环境科学, 2005, **26**(3): 146-151.
- [19] Ward D M, Brock T D. Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments [J]. Applied & Environmental Microbiology, 1978, **35**(2): 353-359.
- [20] Mille G, Almallah M, Bianchi M, *et al.* Effect of salinity on petroleum biodegradation [J]. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1991, **339**(10): 788-791.
- [21] Obuekwe C O, Badrudeen A M, Al-Saleh E, *et al.* Growth and hydrocarbon degradation by three desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, **56**(4): 197-205.
- [22] Le Borgne S, Paniagua D, Vazquez-Duhalt R. Biodegradation of organic pollutants by halophilic bacteria and archaea[J]. Journal of Molecular Microbiology & Biotechnology, 2008, **15**(2-3): 74-92.
- [23] Hua X F, Wang J, Wu Z J, *et al.* A salt tolerant *Enterobacter cloacae* mutant for bioaugmentation of petroleum-and salt-contaminated soil[J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, **49**(2): 201-206.
- [24] Mukherji S, Jagadevan S, Mohapatra G, *et al.* Biodegradation of diesel oil by an Arabian Sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field [J]. Bioresource Technology, 2004, **95**(3): 281-286.
- [25] 信欣,鲍建国,刘慧,等.耐盐(CaCl₂)皂素废水降解菌的分离及特性[J]. 应用与环境生物学报, 2007, **14**(1): 111-115.
- [26] Llori M O, Amobi C J, Odocha A C. Factors affecting biosurfactant production by oil degrading *Aeromonas* spp. isolated from a tropical environment [J]. Chemosphere, 2005, **61**(7): 985-992.
- [27] Calvo C, Manzanera M, Silva-Castro G A, *et al.* Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects [J]. Science of the Total Environment, 2009, **407**(12): 3634-3640.
- [28] Lotfabad T B, Shourian M, Roostaazad R, *et al.* An efficient biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MR01, isolated from oil excavation areas in south of Iran [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009, **69**(2): 183-193.
- [29] Bento F M, Camargo F A O, Okeke B C, *et al.* Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation [J]. Bioresource Technology, 2005, **96**(9): 1049-1055.
- [30] Röling W F M, Head I M, Later S R. The microbiology of hydrocarbon degradation in subsurface petroleum reservoirs: perspectives and prospects [J]. Research in Microbiology, 2003, **154**(5): 321-328.
- [31] Cheung P Y, Kinkle B K. *Mycobacterium* diversity and pyrene mineralization in petroleum-contaminated soils [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2001, **67**(5): 2222-2229.
- [32] Tian L, Ma P, Zhong J J. Kinetics and key enzyme activities of phenanthrene degradation by *Pseudomonas mendocina* [J]. Process Biochemistry, 2002, **37**(12): 1431-1437.
- [33] Toledo F L, Calvo C, Rodelas B, *et al.* Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities [J]. Systematic & Applied Microbiology, 2006, **29**(3): 244-252.

CONTENTS

Characteristics of Atmospheric NO ₂ in the Beijing-Tianjin-Hebei Region and the Yangtze River Delta Analyzed by Satellite and Ground Observations	WANG Ying, LI Ling-jun, LIU Yang (3685)
Variation Analysis of Background Atmospheric Pollutants in North China During the Summer of 2008 to 2011	YANG Jun-yi, XIN Jin-yuan, JI Dong-sheng, <i>et al.</i> (3693)
Characteristics of Atmospheric Pollutants in Cangzhou	WANG Yong-hong, HU Bo, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (3705)
Chemical Characteristics and Sources of Trace Metals in Precipitation Collected from a Typical Industrial City in Northern China	LI Yue-mei, PAN Yue-peng, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (3712)
BTX Monitoring Nearby Main Road Traffic in Guangzhou	YE Cong-lei, XIE Pin-hua, QIN Min, <i>et al.</i> (3718)
Dynamic Road Vehicle Emission Inventory Simulation Study Based on Real Time Traffic Information	HUANG Cheng, LIU Juan, CHEN Chang-hong, <i>et al.</i> (3725)
Emission Characteristics of a Diesel Car Fueled with Coal Based Fischer-Tropsch (F-T) Diesel and Fossil Diesel Blends	HU Zhi-yuan, CHENG Liang, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (3733)
Spatial Variations of Biogenic Elements in Coastal Wetland Sediments of the Jiulong River Estuary	YU Xiao-qing, YANG Jun, LIU Le-mian, <i>et al.</i> (3739)
Spatio-Temporal Distribution of TN and TP in Water and Evaluation of Eutrophic State of Lake Nansi	SHU Feng-yue, LIU Yu-pei, ZHAO Ying, <i>et al.</i> (3748)
Impact on Nitrogen and Phosphorous Export of Wetlands in Tianmu Lake Watershed	LI Zhao-fu, LIU Hong-yu, LI Heng-peng (3753)
Nitrogen and Phosphorus Composition in Urban Runoff from the New Development Area in Beijing	LI Li-qing, LÜ Shu-cong, ZHU Ren-xiao, <i>et al.</i> (3760)
Distribution and Sources of Arsenic in Yangzonghai Lake, China	ZHANG Yu-xi, XIANG Xiao-ping, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (3768)
Occurrence of Fecal Indicator Bacteria in Urban Surface Water: A Case Study in Southern China	SUN Fu, SHA Jing, LIU Yan-hua (3778)
Vertical Migration of Algal Cells in the Daning River Bay of the Three Gorges Reservoir	ZHANG Yong-sheng, ZHENG Bing-hui, JIANG Xia, <i>et al.</i> (3787)
Construct of Yangtze-Huai River Rural Areas Ecological Drainage System and Its Retention Effect on Pollutants	SHAN Bao-qing, LI Nan, TANG Wen-zhong (3797)
Water Treatment Efficiency of Constructed Wetland Plant-Bed/Ditch Systems	WANG Zhong-qiong, ZHANG Rong-bin, CHEN Qing-hua, <i>et al.</i> (3804)
Effect of the Subsurface Constructed Wetland Evolution into Free Surface Flow Constructed Wetland on the Removal of Organic Matter, Nitrogen, and Phosphorus in Wastewater	WEI Ze-jun, XIE Jian-ping, HUANG Yu-ming (3812)
Treatment Characteristics of Saline Domestic Wastewater by Constructed Wetland	GAO Feng, YANG Zhao-hui, LI Chen, <i>et al.</i> (3820)
Degradation of β -Naphthol by Catalytic Wet Air Oxidation	LIU Jie, YU Chao-ying, ZHAO Pei-qing, <i>et al.</i> (3826)
Degradation of 2,4-Dichlorophenol in Aqueous Solution by ZVI/EDDS/Air System	SUN Qian, ZHOU Hai-yan, CAO Meng-hua, <i>et al.</i> (3833)
Study on Photocatalytic Degradation of 1,2,3-Trichlorobenzene Using the Microwaved MWNTs/TiO ₂ Composite	SHI Zhou, ZHANG Qian, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (3840)
Mechanism of Cr(VI) Removal from Aqueous Solution Using Biochar Promoted by Humic Acid	DING Wen-chuan, TIAN Xiu-mei, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (3847)
Research on the Treatment of Wastewater Containing PVA by Ozonation-Activated Sludge Process	XING Xiao-qiong, HUANG Cheng-lan, LIU Min, <i>et al.</i> (3854)
Effects of Composite Substrates on the Phosphorus Removal in Granule-based EBPR System and Its Optimization Experiment	XU Shao-juan, SUN Pei-de, ZHENG Xiong-liu, <i>et al.</i> (3859)
Research of Input Water Ratio's Impact on the Quality of Effluent Water from Hydrolysis Reactor	LIANG Kang-qiang, XIONG Ya, QI Mao-rong, <i>et al.</i> (3868)
Evolution of Leachate Quantity and Quality in the Anaerobic-semiaerobic Bioreactor Landfill	HAN Zhi-yong, LIU Dan, LI Qi-bin, <i>et al.</i> (3873)
National Survey of Urban Sewage Reuse in China	GUO Yu-jie, WANG Xue-chao, ZHOU Zhen-min (3881)
Sorption and Desorption of 17 α -Ethinyl Estradiol and 4-n-Nonylphenol in Soil	JIANG Lu, WANG Ji-hua, LI Jian-zhong, <i>et al.</i> (3885)
Soil Organic Carbon Mineralization of Black Locust Forest in the Deep Soil Layer of the Hilly Region of the Loess Plateau, China	MA Xin-xin, XU Ming-xiang, YANG Kai (3893)
Effects of Soil Crusts on Surface Hydrology in the Semiarid Loess Hilly Area	WEI Wei, WEN Zhi, CHEN Li-ding, <i>et al.</i> (3901)
Environmental Factors on Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils from Dashiwei Karst Giant Doline (Tiankeng) in Guangxi, China	KONG Xiang-sheng, QI Shi-hua, JIANG Zhong-cheng, <i>et al.</i> (3905)
Investigation on Mechanism of Pyrite Oxidation in Acidic Solutions	WANG Nan, YI Xiao-yun, DANG Zhi, <i>et al.</i> (3916)
Monitoring of Water and Salt Transport in Silt and Sandy Soil During the Leaching Process	FU Teng-fei, JIA Yong-gang, GUO Lei, <i>et al.</i> (3922)
Simulation on Remediation of Benzene Contaminated Groundwater by Air Sparging	FAN Yan-ling, JIANG Lin, ZHANG Dan, <i>et al.</i> (3927)
Detecting the Cytotoxicities of Five Bisphenol A Analogues to the MCF-7 Human Breast Carcinoma Cell Line Through Different Endpoints	ZHANG Shuai-shuai, LIU Yan, LIU Shu-shen, <i>et al.</i> (3935)
Response of Copepod Community Characteristics to Environmental Factors in the Backshore Wetland of Expo Garden, Shanghai	CHEN Li-jing, WU Yan-fang, JING Yu-xiang, <i>et al.</i> (3941)
Isolation, Identification and Characterization of Halotolerant Petroleum-degrading Bacteria	WU Tao, XIE Wen-jun, YI Yan-li, <i>et al.</i> (3949)
Growth Kinetics and Phenol Degradation of Highly Efficient Phenol-degrading <i>Ochrobactrum</i> sp. CH10	CHEN Xiao-hua, WEI Gang, LIU Si-yuan, <i>et al.</i> (3956)
Isolation of Aerobic Degrading Strains for TBBPA and the Properties of Biodegradation	QIAN Yan-yuan, LIU Li-li, YU Xiao-juan, <i>et al.</i> (3962)
Influences of Long-term Application of Organic and Inorganic Fertilizers on the Composition and Abundance of <i>nirS</i> -type Denitrifiers in Black Soil	YIN Chang, FAN Fen-liang, LI Zhao-jun, <i>et al.</i> (3967)
Characteristics and Influencing Factors of Trichloroethylene Adsorption in Different Soil Types	HE Long, QIU Zhao-fu, LÜ Shu-guang, <i>et al.</i> (3976)
Degradation of Carbazim in Paddy Soil and the Influencing Factors	XIAO Wen-dan, YANG Xiao-e, LI Ting-qiang (3983)
Effects of Sulphur Compounds on the Volatile Characteristics of Heavy Metals in Fly Ash from the MSW and Sewage Sludge Co-combustion Plant During the Disposal Process with Higher Temperature	LIU Jing-yong, SUN Shui-yu (3990)
Low-temperature Thermal Treatment of Dioxin in Medical Waste Fly Ash Under Inert Atmosphere	JI Sha-sha, LI Xiao-dong, XU Xu, <i>et al.</i> (3999)
Hourly Measurement on Aerosol NH ₃ and Gas NO _x Emission in the Rice Field	GONG Wei-wei, LUAN Sheng-ji (4006)
Implementation of an Electronic Nose for Rapid Detection of Volatile Chloroalkane and Chloroalkene	WEN Xiao-gang, LIU Rui, CAI Qiang, <i>et al.</i> (4012)
Pilot Study on PAHs of the Atmosphere Around the Refuse Incineration Plant Based on the Technology of Passive Sampling	SUN Shao-ai, LI Yang, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (4018)
Spatial Distribution and Pollution Source Identification of Agricultural Non-Point Source Pollution in Fujiang Watershed	DING Xiao-wen, SHEN Zhen-yao (4025)
Difference of P Content in Different Area Substrate of Constructed Wetland	CAO Xue-ying, CHONG Yun-xiao, YU Guang-wei, <i>et al.</i> (4033)
Selective Detection of Viable Pathogenic Bacteria in Water Using Reverse Transcription Quantitative PCR	LIN Yi-wen, LI Dan, WU Shu-xu, <i>et al.</i> (4040)
Formation of Disinfection By-products; Temperature Effect and Kinetic Modeling	ZHANG Xiao-lu, YANG Hong-wei, WANG Xiao-mao, <i>et al.</i> (4046)
A Novel Quantitative Approach to Study Dynamic Anaerobic Process at Micro Scale	ZHANG Zhong-liang, WU Jing, JIANG Jian-kai, <i>et al.</i> (4052)
Leaves of <i>Platanus orientalis</i> as the Carbon Source for Denitrification	XIONG Jian-feng, XU Hua, YAN Ning, <i>et al.</i> (4057)
Isolation, Characterization of an Anthracene Degrading Bacterium <i>Marteella</i> sp. AD-3 and Cloning of Dioxygenase Gene	CUI Chang-zheng, FENG Tian-cai, YU Ya-qi, <i>et al.</i> (4062)

《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11月15日 33卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 11 Nov. 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