

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)

降解蒽嗜盐菌 AD-3 的筛选、降解特性及加氧酶基因的研究

崔长征¹, 冯天才¹, 于亚琦², 董斐¹, 杨昕梅¹, 冯耀宇¹, 刘勇弟¹, 林汉平¹

(1. 华东理工大学资源与环境工程学院, 国家环境保护化工过程环境风险评价与控制重点实验室, 上海 200237; 2. 国家知识产权局专利局专利审查协作北京中心, 北京 100081)

摘要: 蒽是典型的多环芳烃类环境污染物, 属于美国 EPA 优先控制的 16 种多环芳烃类化合物, 其在高盐环境下的生物降解备受关注. 本研究从某石油污染的高盐土壤中成功筛选出了 1 株高效降解蒽的菌株, 经过对其生理生化特征和 16S rDNA 序列分析, 初步鉴定并命名该菌株为 *Martelevella* sp. AD-3. 该菌株在 0.1% ~ 10% 的盐度和 6.0 ~ 10.0 的 pH 范围内, 均能够降解蒽. 其生长和降解蒽的优化条件是: 蒽初始浓度 25 mg·L⁻¹、温度 30℃、pH 值 9.0 和盐度 3%, 在优化条件下培养 6 d, 蒽的降解率可达到 94.6%. 根据已报道的双加氧酶 α 亚基的同源性设计简并引物, 通过巢式 PCR 扩增获得双加氧酶基因的部分序列 307 bp (GenBank: JF823991.1), 与海杆菌属 *Marinobacter* sp. NCE312 (AF295033) 菌株蒽双加氧酶大亚基的部分氨基酸序列同源性最高为 95%.

关键词: 中度嗜盐菌; 多环芳烃; 蒽; 生物降解; 双加氧酶

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)11-4062-07

Isolation, Characterization of an Anthracene Degrading Bacterium *Martelevella* sp. AD-3 and Cloning of Dioxygenase Gene

CUI Chang-zheng¹, FENG Tian-cai¹, YU Ya-qi², DONG Fei¹, YANG Xin-mei¹, FENG Yao-yu¹, LIU Yong-di¹, LIN Han-ping¹

(1. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Risk Assessment and Control on Chemical Process, School of Resources and Environmental Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. Patent Examination Cooperation Center of The Patent Office, State Intellectual Property Office of China, Beijing 100081, China)

Abstract: Anthracene, among the 16 US EPA polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), is a typical low molecular weight environmental contaminant, which gains concern on its biodegradation under hypersaline condition. In this study, an anthracene-degrading bacterial strain was isolated from highly saline petroleum-contaminated soil. Based on its physiological, biochemical characteristics and 16S rDNA sequence analysis, the bacteria was preliminary identified and named as *Martelevella* sp. AD-3. The strain was able to utilize anthracene as sole carbon source for growth and the degradation occurred under broad salinities (0.1% to 10%) and varying pHs (6.0 to 10.0). The optimized degradation conditions were initial concentration 25 mg·L⁻¹, culture temperature 30℃, pH 9.0 and salinity 3%. And 94.6% of anthracene was degraded by strain AD-3 under the optimal conditions within 6 days. Degenerate primers design was performed with a reported dioxygenase α subunit homologous gene. A length of 307 bp fragment of the partial dioxygenase gene sequences (GenBank accession: JF823991.1) was amplified by nested PCR. The clones amino acid sequence from strain AD-3 showed 95% identity to that of the partial naphthalene dioxygenase large-subunit from *Marinobacter* sp. NCE312 (AF295033). The results lay a foundation for the further study of molecular mechanism involved in the PAHs biodegradation by strain AD-3.

Key words: moderately halophilic bacteria; polycyclic aromatic hydrocarbons; anthracene; biodegradation; dioxygenase

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 在环境中具有致畸, 致癌和致突变的“三致”效应以及对生态环境、人类健康的潜在威胁, 许多国家都将 PAHs 列入优先控制污染物, 其主要来源于煤、石油等化石燃料的不完全燃烧和石油产品的溢漏^[1,2]. 我国许多油田位于干旱或半干旱地区, 油田的土壤常具有高盐特征, 如中原油田、辽河油田和胜利油田的土壤含盐量分别为 7、9 和 15

g·kg⁻¹^[3]. 在石油开采过程中产生的大量落地原油使得这些区域的高盐土壤受到多环芳烃的污染. 目

收稿日期: 2012-02-16; 修订日期: 2012-04-09

基金项目: 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室开放基金项目 (11K02ESPCT); 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (WB1114031); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20110074130002)

作者简介: 崔长征 (1978 ~), 男, 博士, 主要研究方向为持久性有机污染物的生物降解研究, E-mail: cuichangzheng@ecust.edu.cn

前已有报道许多细菌、真菌及藻类等都具有降解 PAHs 的能力^[4-7], 但研究发现将非嗜盐 PAHs 的高效降解微生物接入到高盐环境中, 对 PAHs 的去除效果较差^[8], 利用嗜盐微生物降解高盐环境的 PAHs 可能是有效的途径, 近年来备受关注^[9-11].

蒽 (Anthracene) 是典型的低相对分子质量 PAHs 类化合物, 其结构单元在致癌性苯并[a]芘 (Ba[a]P) 和苯并[a]蒽 (Ba[a]A) 中同样存在, 经常被用作微生物降解 PAHs 的模型化合物^[11,12], 然而高盐环境下微生物降解蒽的报道较少^[11]. 本研究从胜利油田石油污染的高盐土壤中分离到 1 株蒽的降解菌, 对其进行了分子生物学鉴定, 并分析了该菌在不同条件下降解蒽的特性, 以及检测了该菌中的双加氧酶基因, 以期为深入研究该嗜盐菌降解多环芳烃污染的分子机制奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

采样点位于山东省胜利油田 (37°47' ~ 37°84'N, 118°39' ~ 119°8'E) 采油井口, 土壤盐度约为 12 ~ 15 g·kg⁻¹, pH 7.3 ~ 7.8.

1.1.2 培养基

无机盐培养基 (sea salt defined medium, SSDM) 总盐度为 10%^[9], 实验中所用到的各种盐度的培养基按比例稀释配制. *N,N*-二甲基甲酰胺溶解蒽配成 10 mg·mL⁻¹ 的母液, 过滤除菌后按比例加入到无机盐培养基中.

富集和保存培养基 (g·L⁻¹): NaCl 30, 蛋白胨 10, 酵母膏 5, 蒽 0.2, 琼脂粉 15.

1.2 方法

1.2.1 蒽降解菌的富集、分离

从胜利油田石油污染的高盐土壤中, 以蒽为唯一碳源和能源富集、筛选蒽降解菌. 取 5 g 土壤加入 100 mL 含 100 mg·L⁻¹ 蒽, 盐浓度为 5% 的培养基中, 于 30℃, 150 r·min⁻¹ 避光振荡培养 10 d, 再按 10% 接种量转接到新鲜培养基中富集培养, 如此重复 4 次. 然后对有菌体生长或颜色变化的培养液进行稀释涂布到含 200 mg·L⁻¹ 蒽的丰富培养基平板上, 挑取不同形态特征的单克隆菌落, 纯化后分别接种到含 25 mg·L⁻¹ 蒽无机盐培养基中, 通过高效液相色谱分析并选取对蒽降解效率高且稳定的菌株进一步研究.

1.2.2 蒽降解菌的鉴定

通过对降解菌生理生化特性^[13] 和 16S rDNA 序列分析进行鉴定^[12]. 以 AD-3 菌基因组 DNA 为模板, 扩增 16S rDNA 的引物序列分别为, F27 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3' 和 R1492 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3', PCR 反应体系 (50 μL) 为: 10 × LA PCR buffer II (Mg²⁺) 5 μL、10 mmol·L⁻¹ dNTPs 8 μL、20 μmol·L⁻¹ 引物各 1 μL、ddH₂O 33.5 μL、LA *Taq* 酶 (5 U·L⁻¹) 0.5 μL、基因组 DNA 1 μL. PCR 反应程序为: 94℃ 5 min; 94℃ 0.5 min, 50℃ 0.5 min, 72℃ 2 min, 循环 25 次, 延伸 72℃ 10 min. PCR 产物分别经凝胶回收纯化试剂盒纯化, 与 pMD18-T 载体连接后, 再转化到 *E. coli* DH5α 菌株, 在含氨苄青霉素的平板上培养, 挑选菌落活化, 经 PCR 和酶切验证后, 由上海生工生物技术公司测序.

将测序结果与 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上的相关 16S rDNA 序列进行相似性比对分析, 采用 Mega 3.0 软件进行系统进化分析, Kimura2-Parameter Distance 模型计算进化距离, 用 neighbor-joining 法构建系统发育树, 1000 次随机抽样, 计算自引导值 (bootstrap) 以评估系统发育树的置信度.

1.2.3 蒽降解实验

将 30 mL 一定浓度蒽的培养基置于 100 mL 的锥形瓶中, 按 5% 接种量 ($D_{600} = 0.05$), 于 30℃, 150 r·min⁻¹ 避光振荡培养. 定时取样, 分别测定 D_{600} 和蒽的残留, 并分别改变培养温度, 蒽的浓度, 初始 pH 值, 培养基盐浓度, 研究各因素对蒽降解效率的影响. 以未接菌的含蒽无机盐培养基为对照, 按照降解率 $D = (c_{ck} - c_t) / c_{ck} \times 100\%$ 的方式计算, 式中, c_{ck} 为空白处理中蒽的浓度, c_t 为培养结束时培养基中蒽的浓度.

温度影响实验: 选择盐度为 5% 和 pH 为 7.5 的培养基. 当蒽初始浓度为 25 mg·L⁻¹ 时, 分别在 25、30、37℃ 条件下培养, 6 d 后分析测定蒽的残留浓度.

蒽浓度影响实验: 选择盐度为 5% 和 pH 为 7.5 的培养基. 分别选择蒽初始浓度为 15、25、50、75 mg·L⁻¹, 于 30℃ 摇床中培养, 6 d 后分析测定蒽的残留浓度.

盐度影响实验: 选择蒽初始浓度为 25 mg·L⁻¹, pH 为 7.5 的培养基. 分别在盐度为 0.1% ~ 10% 的范围内于 30℃ 条件下培养, 6 d 后分析测定蒽的残留浓度.

pH 值影响实验: 选择葱初始浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 盐度为 3% 的培养基. 分别在 pH 为 6.0 ~ 10.0 的范围内于 30°C 条件下培养, 6 d 后分析测定葱的残留浓度.

1.2.4 葱的分析

向经过降解后的培养基中加入等体积的乙酸乙酯, 剧烈振荡萃取 30 min, 静置分层后取上层有机相. 重复萃取一次, 合并有机相, 取 10 mL 在 40°C 氮吹干燥, 用 10 mL 色谱级甲醇溶解残留物并过滤后, 再进行 HPLC 分析. 分析条件是: SHIMADZU LC-20A 高效液相色谱仪, SPD-M20A 紫外检测器, CTO-20A 柱温箱, LC-20AD 泵, Shimadzu VP-ODS 色谱柱 ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm i. d.}, 50 \mu\text{m}$), LC-Solution 色谱工作站, 检测波长为 254 nm, 流动相为甲醇: 水 = 80: 20, 流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温为 40°C , 进样量为 $10 \mu\text{L}$, 葱的保留时间为 16.5 min.

1.2.5 双加氧酶检测、基因克隆及序列分析

在富集和保存固体培养基上, 稀释涂布培养至对数期的 AD-3 细胞, 30°C 倒置培养过夜, 无菌操作在培养皿盖内加入 10 mg 吡啶并密封, 30°C 倒置培养 5 h, 观察菌落颜色的变化^[14].

以 AD-3 菌基因组 DNA 为模板, 利用巢式 PCR 扩增编码双加氧酶 α 亚基保守区的部分基因序列, 上游引物 31S: 5'-GAGATGCATACCACGTKGGT TGGA-3', 以及参考扩增革兰氏阴性细菌双加氧酶基因的引物^[15], PAH-RHD α GN F: 5'-GAGATGCATACCACGTKGGTTGGA-3', PAH-RHD α GN R: 5'-AGCTGTTGTTCCGGAAGAYWGTGCMGT T-3', PCR 的体系、扩增条件及序列分析参见 1.2.2 节. 第一轮扩增引物为 31S, PAH-RHD α GN R, 第二轮扩增引物为 PAH-RHD α GN F, PAH-RHD α GN R. 退火温度均为 53°C .

2 结果与讨论

2.1 葱降解菌株的富集培养和分离纯化

从不同来源的土壤样品经过 4 次富集培养后, 得到的混合微生物的培养物, 在培养过程中通过测定培养液中的 D_{600} , 发现它可以在含有 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葱培养基中生长, 说明该混合微生物培养物能以葱为唯一碳源和能源生长. 上述混合培养物在富集和保存培养基平板上稀释涂布, 挑选生长较快、不同颜色和形态的单菌落, 经过复筛、纯化后得到 3 株能以葱为唯一碳源和能源生长的菌株, 经过初步降解葱的效率测定, 选择了 1 株降解效率高且稳定的菌株命名为 AD-3. 该菌株在初始葱浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.5, 30°C , 5% 盐浓度, $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的条件下培养 6 d, 观察到培养基的颜色由白色逐渐变为浅黄色, 表明菌株能以葱为唯一碳源和能源生长, 6 d 后的降解率为 30.9%. 在补加 0.02% 的酵母粉的情况下, 能够加速葱的降解, 降解率可达 44.7%, 添加低浓度的酵母粉通常具有促进多环芳烃的降解^[9].

2.2 葱降解菌株的鉴定

该菌株在富集和保存培养基固体培养基上培养 3 d 后, 菌落呈圆形, 直径约 1.5 mm, 表面凸起, 光滑, 不透明, 边缘整齐. 菌体形态为短杆状, 革兰氏染色阴性, 不产芽孢. AD-3 菌株硝酸盐还原反应和 VP 反应为阳性, 吡啶实验为阴性.

利用 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增获得的目的 DNA 片段, 测序得到 1390 bp 的 16S rDNA 部分序列 (GenBank 登录号为 GU086202), 该序列与 NCBI 上已报道的 16S rDNA 序列进行 Blast 分析, 与 AD-3 序列相似性最高的为 *Martelella* 属的菌株, 选取相关菌株的 16S rDNA 序列用 Neighbour-joining

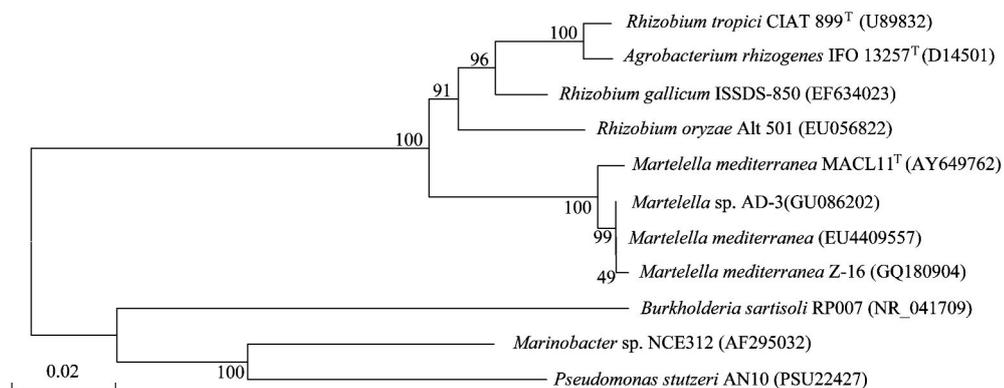


图 1 基于菌株 AD-3 和亲缘关系相近菌株的 16S rDNA 序列系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of strain AD-3 and related species

method 构建系统发育树(图 1)。由图 1 可见,菌株 AD-3 位于 *Martelella* 分支上。结合表型特征、生理生化特性和 16S rDNA 序列分析,菌株 AD-3 鉴定并命名为 *Martelella* sp. AD-3 (CTCCM 2011218)。

2.3 AD-3 菌株降解蒽的特性

2.3.1 温度对蒽降解效率的影响

培养基盐度为 5%, pH 为 7.5 时,不同温度条件下对 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蒽的降解情况如图 2 所示。AD-3 在 25、30、37°C 下都能够降解蒽,表明该菌降解蒽对温度有较广泛的适应性,在 30°C 时达到最高的降解率为 44.7%。

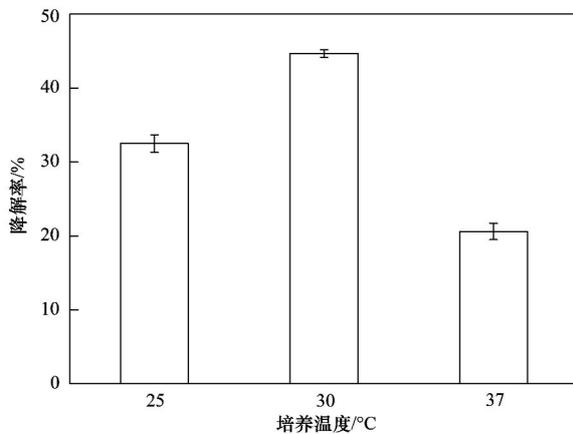


图 2 培养温度对 AD-3 菌株降解蒽的影响

Fig. 2 Effect of incubation temperature on anthracene degradation by strain AD-3

2.3.2 初始蒽浓度对蒽降解效率的影响

在培养基盐度为 5%, pH 为 7.5, 30°C 时, AD-3 对不同浓度蒽的降解情况如图 3 所示。在蒽初始浓度为 15、25、50 和 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时于 30°C 摇床中培养 6 d 后,蒽的降解率分别为 53.1%、44.7%、20.5% 和 10.2%。当蒽初始浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其降解的平均速率 $[\text{mg} \cdot (\text{L}^{-1} \cdot \text{d})^{-1}]$ 最大为 $1.86 \text{ mg} \cdot (\text{L}^{-1} \cdot \text{d})^{-1}$ 。初始蒽浓度对于它的生物降解有一定的影响,在 $>25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围内,降解率和降解速率均随其浓度的增加而逐渐降低,推测高浓度的蒽对菌体有一定的毒害作用,且较高的蒽浓度增加了降解菌对污染物降解的延滞期^[16]。然而,当浓度 $<25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其降解的平均速率也降低。可能原因是蒽浓度较低时,没有足够的碳源和能源,从而不能够很好地满足细胞的生长需求^[17]。初始蒽浓度对 AD-3 菌株降解蒽的影响和 Ling 等^[16]报道的茈降解菌株 *Bacillus vallismortis* JY3A 对茈的降解结果类似,当培养基中添加的茈的浓度过高或过低时,茈的降解率均降低。

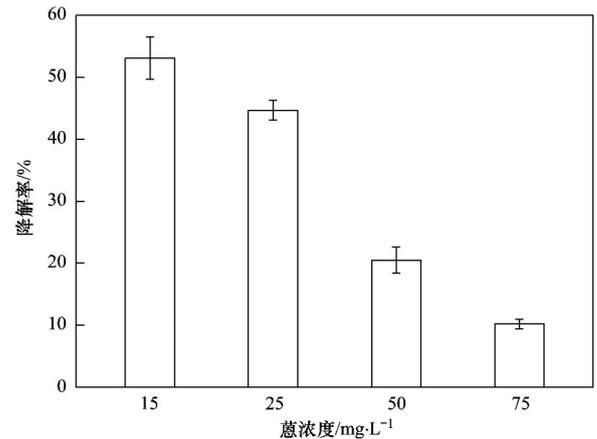


图 3 蒽浓度对 AD-3 菌株降解蒽的影响

Fig. 3 Effect of concentration of anthracene on its degradation by strain AD-3

2.3.3 盐度对蒽降解效率的影响

不同盐度条件下 AD-3 菌对 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蒽的降解结果如图 4 所示。实验结果表明,培养基的盐度对菌株 AD-3 降解蒽的效率影响较为显著。在培养基盐度为 0.1%、1%、3%、5%、8% 和 10% 情况下,蒽的降解率依次为 45.6%、78.0%、44.7%、27.2% 和 6.6%。菌株 AD-3 在 0.1% ~ 10% 的盐度范围内均能够有效的降解蒽,在 3% 盐度的条件下,蒽的降解效率最高。在高盐度条件下,细菌生长比较缓慢,降解率随着盐浓度的增高而下降,这可能是由于盐度升高引起细胞渗透压升高,抑制了细菌的生长^[18]。这一现象在当盐度低于 0.1% 或高于 10% (数据未显示) 时,没有观察到明显的降解现象,由此可知菌株 AD-3 的生长需要一定的盐度条件,在低盐或无盐条件下不能降解蒽。根据 Kushner^[19] 报道的嗜盐菌的分类标准,蒽降解菌 AD-3 是 1 株中度嗜盐菌。此外,在高于 10% 的盐度下会抑制其生

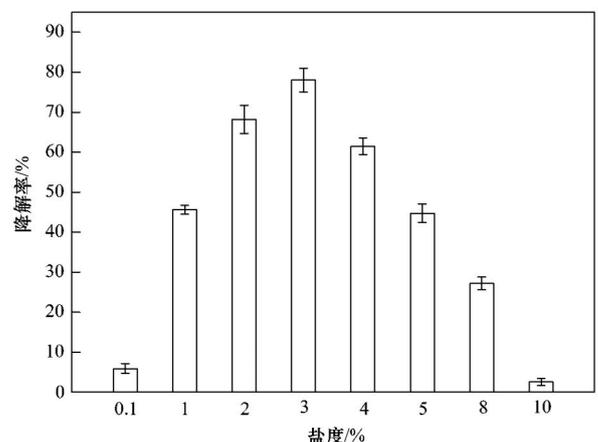


图 4 盐度对 AD-3 菌株降解蒽的影响

Fig. 4 Effect of salinity on anthracene degradation by strain AD-3

长,说明 AD-3 菌的盐适应范围具有一定局限性^[20]. AD-3 菌在 0.1% ~ 10% 较宽泛的盐度范围内均具有良好的降解蒽的能力,使其能够在含不同盐度 PAHs 污染场地的生物修复过程中发挥潜在的作用.

2.3.4 pH 对蒽降解效率的影响

培养基盐度为 3% 时,不同 pH 值条件下 AD-3 对 25 mg·L⁻¹ 蒽的降解结果如图 5 所示. 菌株 AD-3 在 pH 6.0 ~ 10.0 的范围内均能降解蒽. 不同初始 pH 值对于蒽的降解有较大影响,在初始 pH 7.5、9.0 偏碱性的情况下,蒽的降解率分别为 78.0% 和 94.6%,但是在初始 pH 6.0 的情况下,仅有 20.8% 的蒽被降解. 这可能是 AD-3 降解蒽过程中,产生了大量酸性中间产物,从而抑制了微生物对底物的降解作用^[21,22]. 菌株 AD-3 降解蒽时的最适 pH 为 9.0,使其能够在 PAHs 污染的碱性场地的生物修复过程中发挥潜在的作用.

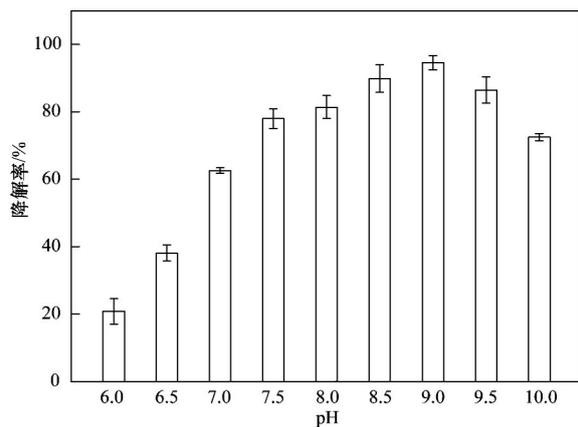


图 5 pH 对 AD-3 菌株降解蒽的影响

Fig. 5 Effect of pH on anthracene degradation by strain AD-3

2.3.5 在最佳条件下菌株 AD-3 的生长与降解情况

根据不同条件下蒽的降解结果,在初始蒽浓度 25 mg·L⁻¹, pH 9.0, 30℃, 3% 盐度, 150 r·min⁻¹ 的最佳条件下,并补加 0.02% 的酵母粉连续培养 6 d 的实验结果如图 6 所示. 前 4 d 降解速率较快,降解率达到 81.5%,从第 4 ~ 6 d,蒽的降解速度逐渐减缓,仅降解了 13.1%,最终的降解率可达 94.6%,其平均降解速率为 3.9 mg·(L⁻¹·d)⁻¹. 由生长曲线显示,当菌株 AD-3 接入到含蒽的新鲜培养基 48 h 后,细胞生长趋于稳定. 上述结果表明,该菌对蒽有良好的降解性能,且降解的延滞期较短,是降解蒽的高效菌株. Arulazhagan 等报道^[11],菌株 *Ochrobactrum* sp. VA1 在 3% 的盐度并补加葡萄糖,4 d 后可将 3 mg·L⁻¹ 的蒽降解 87%,平均降解速率为 0.65

mg·(L⁻¹·d)⁻¹. Santos 等^[23] 报道了 1 株 *Pseudomonas aeruginosa* 312A 菌株,48 d 后可将 250 mg·L⁻¹ 的蒽降解 72%,其平均降解速率为 3.75 mg·(L⁻¹·d)⁻¹. 与以上结果相比,AD-3 菌株对蒽具有更高的降解效率.

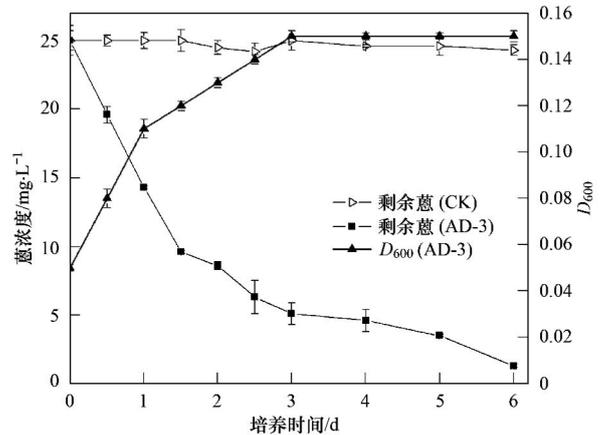


图 6 最优条件下 AD-3 菌株以蒽为碳源的生长和降解

Fig. 6 Growth and degradation of strain AD-3 on utilization of anthracene as carbon source under optimal conditions

2.4 双加氧酶基因的检测及序列分析

当在 AD-3 菌的培养皿盖上加入吡啶继续培养 5 h 后,观察到 AD-3 菌落由白色变为蓝色,表明该菌能够转化吡啶产生靛蓝. 在双加氧酶催化合成靛蓝的过程中,将吡啶氧化成二羟二醇,二羟二醇脱氢生成羟化吡啶,在空气中二聚生成靛蓝^[14]. 由此推测 AD-3 在降解蒽过程中可以表达多环芳烃双加氧酶.

利用巢式 PCR 的方法,第一轮中用 31S, PAH-RHD α GN R 引物进行 PCR 扩增,未获得目的条带,将第一轮 PCR 产物稀释 10 倍作为模板,以 PAH-RHD α GN F, PAH-RHD α GN R 引物进行第二轮的 PCR 扩增,获得大小为 307 bp 的基因片段 (GenBank 登陆号为 JF823991.1). 该片段含有一个开放阅读框,编码 101 个氨基酸. 从该片段在 NCBI 上 BLAST 的结果中选择 12 株具有代表性细菌的双加氧酶氨基酸序列,构建其系统进化树如图 7 所示. 菌株 AD-3 位于海杆菌属 *Marinobacter* 分支上. AD-3 与海杆菌属能够降解萘等多环芳烃的 *Marinobacter* sp. NCE312 (AF295033) 菌株的萘双加氧酶大亚基部分氨基酸序列相似度最高为 95%^[24],与 *Rhodococcus*、*Nocardioides* 等非嗜盐菌株的双加氧酶氨基酸序列差异较大^[25]. 中度嗜盐菌株可能与非嗜盐菌株降解多环芳烃具有不同的分子降解机制,获得的 AD-3 菌株为进一步探索中度嗜盐菌降解多环芳烃的分子机制奠定了基础.

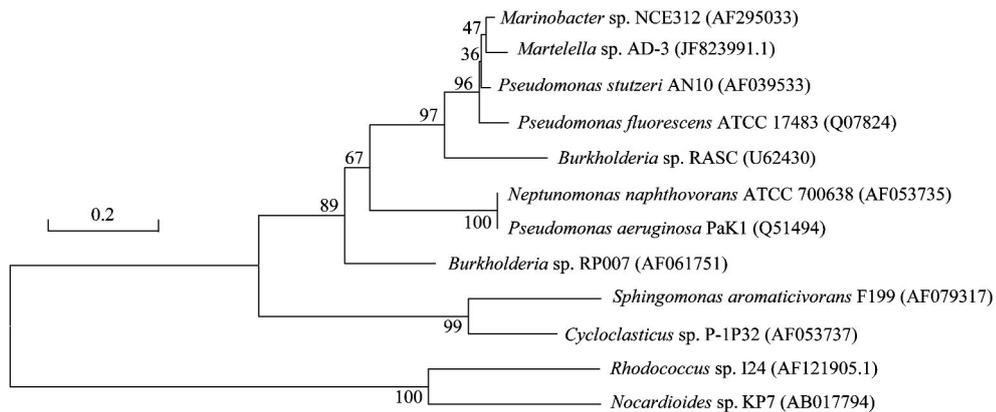


图7 基于菌株 AD-3 和亲缘关系相近菌株的多环芳烃双加氧酶氨基酸序列系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree based on amino acid sequence of polycyclic aromatic hydrocarbons dioxygenase

3 结论

(1) 本研究从胜利油田石油污染的高盐土壤中筛选到 1 株高效降解萘的菌株, 经生理生化和 16S rDNA 序列分析被鉴定为 *Martelella* 属。

(2) 中度嗜盐菌株 *Martelella* sp. AD-3 在 0.1% ~ 10% 的盐度, pH 6.0 ~ 10.0 范围内均能够降解萘, 在最优降解条件下对 25 mg·L⁻¹ 萘的降解率可达 94.6%。

(3) *Martelella* sp. AD-3 菌株能够转化吡啶生成靛蓝, 该菌株与海杆菌属能够降解萘等多环芳烃的 *Marinobacter* sp. NCE312 (AF295033) 菌株的萘双加氧酶大亚基部分氨基酸序列相似度最高为 95%。

参考文献:

- [1] Mohan S V, Kisa T, Ohkuma T, et al. Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency [J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2006, 5(4): 347-374.
- [2] Kanaly R A, Harayama S. Advances in the field of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation by bacteria [J]. Microbial Biotechnology, 2010, 3(2): 136-164.
- [3] 杨玉楠, 韩东. 嗜盐菌强化石油污染土壤生物修复的可行性研究 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 121-126.
- [4] Steffen K T, Hatakka A, Hofrichter M. Removal and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 60(1-2): 212-217.
- [5] Juhasz A L, Naidu R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo [a] pyrene [J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2000, 45(1): 57-88.
- [6] Kanaly R A, Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria [J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(8): 2059-2067.
- [7] Powell S N, Singleton D R, Aitken M D. Effects of enrichment with salicylate on bacterial selection and PAH mineralization in a microbial community from a bioreactor treating contaminated soil [J]. Environmental Science and Technology, 2008, 42(11): 4099-4105.
- [8] Díaz M P, Boyd K G, Grigson S J. Biodegradation of crude oil across a wide range of salinities by an extremely halotolerant bacterial consortium MPD-M, immobilized onto polypropylene fibers [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 79(2): 145-153.
- [9] Zhao B S, Wang H, Mao X W, et al. Biodegradation of phenanthrene by a halophilic bacterial consortium under aerobic conditions [J]. Current Microbiology, 2009, 58(3): 205-210.
- [10] Betancur-Galvis L A, Alvarez-Bernal D, Ramos-Valdivia A C, et al. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated saline-alkaline soils of the former Lake Texcoco [J]. Chemosphere, 2006, 62(11): 1749-1760.
- [11] Arulazhagan P, Vasudevan N. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a halotolerant bacterial strain *Ochrobactrum* sp. VAI [J]. Marine Pollution Bulletin, 2011, 62(2): 388-394.
- [12] Cui C Z, Zeng C, Wan X, et al. Effect of rhamnolipids on degradation of anthracene by two newly isolated strains, *Sphingomonas* sp. 12A and *Pseudomonas* sp. 12B [J]. Journal of Microbiology Biotechnology, 2008, 18(1): 63-66.
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [14] Ensley B D, Ratzkin B J, Osslund T D, et al. Expression of naphthalene oxidation genes in *Escherichia coli* Results in the biosynthesis of indigo [J]. Science, 1983, 222(4620): 167-169.
- [15] Cebon A, Norini M P, Beguiristain T, et al. Real-Time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD_α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples [J]. Journal of Microbiological Methods, 2008, 73(2): 148-159.
- [16] Ling J Y, Zhang G Y, Sun H B, et al. Isolation and

- characterization of a novel pyrene-degrading *Bacillus vallismortis* strain JY3A[J]. *Science Total Environment*, 2011, **409**(10): 1994-2000.
- [17] 霍莹, 许景钢, 李淑芹, 等. 咪唑乙烟酸降解菌 S181 的分离鉴定及其降解特性[J]. *环境科学*, 2011, **32**(5): 1518-1523.
- [18] Tang Y J, Qi L H, Krieger-Brockett B. Evaluating factors that influence microbial phenanthrene biodegradation rates by regression with categorical variables[J]. *Chemosphere*, 2005, **59**(5): 729-741.
- [19] Kushner D J. Life in high salt and solute concentrations[A]. In: *Microbial Life in Extreme Environments*[M]. London: Academic Press, 1978. 317-368.
- [20] 毛心慰, 王慧, 赵百锁. BTEX 降解嗜盐菌群的多样性及其降解特性[J]. *环境科学学报*, 2009, **29**(4): 709-715.
- [21] Tao X Q, Lu G N, Dang Z, *et al.* A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils [J]. *Process Biochemistry* 2007, **42**(3): 401-408.
- [22] 刘芳, 梁金松, 孙英, 等. 高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究[J]. *环境科学*, 2011, **32**(6): 1799-1804.
- [23] Santos E C, Jacques R J S, Bento F M, *et al.* Anthracene biodegradation and surface activity by an iron-stimulated *Pseudomonas* sp. [J]. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(7): 2644-2649.
- [24] Hedlund B P, Geiselbrecht A D, Staley J T. *Marinobacter* strain NCE312 has a *Pseudomonas*-like naphthalene dioxygenase [J]. *FEMS Microbiology Letter*, 2001, **201**(1): 47-51.
- [25] Laurie A D, Lloyd-Jones G. The *phn* genes of *Burkholderia* sp. strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism [J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, **181**(2): 531-540.

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, et al. (3693)
Characteristics of Atmospheric Pollutants in Cangzhou	WANG Yong-hong, HU Bo, WANG Yue-si, et al. (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, et al. (3712)
BTX Monitoring Nearby Main Road Traffic in Guangzhou	YE Cong-lei, XIE Pin-hua, QIN Min, et al. (3718)
Dynamic Road Vehicle Emission Inventory Simulation Study Based on Real Time Traffic Information	HUANG Cheng, LIU Juan, CHEN Chang-hong, et al. (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, et al. (3733)
Spatial Variations of Biogenic Elements in Coastal Wetland Sediments of the Jiulong River Estuary	YU Xiao-qing, YANG Jun, LIU Le-mian, et al. (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, et al. (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, et al. (3760)
Distribution and Sources of Arsenic in Yangzonghai Lake, China	ZHANG Yu-xi, XIANG Xiao-ping, ZHANG Ying, et al. (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, et al. (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, et al. (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, et al. (3820)
Degradation of β -Naphthol by Catalytic Wet Air Oxidation	LIU Jie, YU Chao-ying, ZHAO Pei-qing, et al. (3826)
Degradation of 2,4-Dichlorophenol in Aqueous Solution by ZVI/EDDS/Air System	SUN Qian, ZHOU Hai-yan, CAO Meng-hua, et al. (3833)
Study on Photocatalytic Degradation of 1,2,3-Trichlorobenzene Using the Microwaved MWNTs/TiO ₂ Composite	SHI Zhou, ZHANG Qian, ZHANG Wei, et al. (3840)
Mechanism of Cr(VI) Removal from Aqueous Solution Using Biochar Promoted by Humic Acid	DING Wen-chuan, TIAN Xiu-mei, WANG Ding-yong, et al. (3847)
Research on the Treatment of Wastewater Containing PVA by Ozonation-Activated Sludge Process	XING Xiao-qiong, HUANG Cheng-lan, LIU Min, et al. (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, et al. (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, et al. (3868)
Evolution of Leachate Quantity and Quality in the Anaerobic-semiaerobic Bioreactor Landfill	HAN Zhi-yong, LIU Dan, LI Qi-bin, et al. (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, et al. (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, et al. (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, et al. (3905)
Investigation on Mechanism of Pyrite Oxidation in Acidic Solutions	WANG Nan, YI Xiao-yun, DANG Zhi, et al. (3916)
Monitoring of Water and Salt Transport in Silt and Sandy Soil During the Leaching Process	FU Teng-fei, JIA Yong-gang, GUO Lei, et al. (3922)
Simulation on Remediation of Benzene Contaminated Groundwater by Air Sparging	FAN Yan-ling, JIANG Lin, ZHANG Dan, et al. (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, et al. (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, et al. (3941)
Isolation, Identification and Characterization of Halotolerant Petroleum-degrading Bacteria	WU Tao, XIE Wen-jun, YI Yan-li, et al. (3949)
Growth Kinetics and Phenol Degradation of Highly Efficient Phenol-degrading <i>Ochrobactrum</i> sp. CH10	CHEN Xiao-hua, WEI Gang, LIU Si-yuan, et al. (3956)
Isolation of Aerobic Degrading Strains for TBBPA and the Properties of Biodegradation	QIAN Yan-yuan, LIU Li-li, YU Xiao-juan, et al. (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, et al. (3967)
Characteristics and Influencing Factors of Trichloroethylene Adsorption in Different Soil Types	HE Long, QIU Zhao-fu, LÜ Shu-guang, et al. (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, et al. (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, et al. (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, et al. (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, et al. (4033)
Selective Detection of Viable Pathogenic Bacteria in Water Using Reverse Transcription Quantitative PCR	LIN Yi-wen, LI Dan, WU Shu-xu, et al. (4040)
Formation of Disinfection By-products; Temperature Effect and Kinetic Modeling	ZHANG Xiao-lu, YANG Hong-wei, WANG Xiao-mao, et al. (4046)
A Novel Quantitative Approach to Study Dynamic Anaerobic Process at Micro Scale	ZHANG Zhong-liang, WU Jing, JIANG Jian-kai, et al. (4052)
Leaves of <i>Platanus orientalis</i> as the Carbon Source for Denitrification	XIONG Jian-feng, XU Hua, YAN Ning, et al. (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, et al. (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