

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第6期

Vol.35 No.6

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京地区冬夏季持续性雾-霾发生的环境气象条件对比分析..... 廖晓农, 张小玲, 王迎春, 刘伟东, 杜佳, 赵玲慧 (2031)

阜康大气气溶胶中水溶性无机离子粒径分布特征研究 苗红妍, 温天雪, 王跃思, 刘子锐, 王丽, 兰中东 (2045)

上海地铁站台大气颗粒物中过渡金属研究 包良满, 雷前涛, 谈明光, 李晓林, 张桂林, 刘卫, 李燕 (2052)

七一冰川地区苔藓中重金属元素含量研究 马娟娟, 李真 (2060)

冬季东海、南黄海中 DMS 和 DMSP 浓度分布及影响因素研究 宋以柱, 张洪海, 杨桂朋 (2067)

大亚湾石化排污海域重金属污染及生态风险评价 徐姗姗, 李纯厚, 徐娇娇, 肖雅元, 林琳, 黄小平 (2075)

深圳水库群表层水中全氟化合物的分布特征 王鑫璇, 张鸿, 何龙, 沈金灿, 柴之芳, 杨波, 王艳萍 (2085)

表层岩溶泉水中多环芳烃污染特征及来源解析 孙玉川, 沈立成, 袁道先 (2091)

桂江主要离子及溶解无机碳的生物地球化学过程 唐文魁, 陶贞, 高全洲, 毛海若, 姜光辉, 焦树林, 郑雄波, 张乾柱, 马赞文 (2099)

汾河源区不同景观带水文过程研究 杨永刚, 李彩梅, 秦作栋, 邹松兵 (2108)

北京市通州区地下水分层质量评价及水化学特征 郭高轩, 琚宜文, 翟航, 许亮, 沈媛媛, 纪轶群 (2114)

光透法定量两相流中流体饱和度的模型及其应用 章艳红, 叶淑君, 吴吉春 (2120)

紫色土坡耕地氮淋溶过程及其环境健康效应 陈维梁, 高扬, 林勇明, 朱波, 徐亚娟, 于贵瑞, 吴承祯 (2129)

基于非点源溶解态氮负荷估算的率水流域土地利用结构优化研究 陆宇超, 毕孟飞, 李泽利, 沙健, 王玉秋, 钱丽萍 (2139)

镇江老城区古运河沉积物氮及有机质垂向分布及污染评价 周晓红, 李义敏, 周艺, 卫安平, 周广顺, 肖思思 (2148)

两种沉水植物对上覆水和间隙水中可溶性无机氮的影响 杨文斌, 李阳, 孙共献 (2156)

湖泊沉积物短时间反复扰动下悬浮物上生物有效磷的动态变化 武晓飞, 李大鹏 (2164)

不同扰动强度下城市重污染河道底泥对磷吸收和固定的影响 王尚, 李大鹏 (2171)

池塘残饵对底泥氮、磷释放影响的模拟研究 吕元蛟, 李瑞娇, 张念, 赵峰, 谢从新, 张敏 (2178)

再悬浮过程中河流底泥 PAHs 的迁移与释放 王晓慧, 毕春娟, 韩景超 (2185)

低分子有机酸对汞氧化还原反应的影响 赵士波, 孙荣国, 王定勇, 王小文, 张成 (2193)

活性炭催化过氧化氢去除荧光增白剂 刘海龙, 张忠民, 赵霞, 焦茹媛 (2201)

准分子灯光照降解水中烷基酚的动力学 刘玉海, 叶招莲, 文颖频, 毕承路 (2209)

AF + BAF 用于处理树脂化工集中区废水厂尾水的研究 涂勇, 刘伟京, 张耀辉, 徐军, 唐敏, 陈勇, 白永刚 (2216)

镉(II)-8-羟基喹啉分子印迹聚合物微球的合成及吸附性能研究 杨春艳, 陈复彬, 赵慧, 常自强, 章竹君 (2223)

微气泡曝气生物膜反应器同步硝化反硝化研究 刘春, 年永嘉, 张静, 张明, 张磊, 龚鹏飞, 肖太民, 李星 (2230)

聚乳酸/淀粉固体缓释碳源生物反硝化研究 唐丹琦, 王娟, 郑天龙, 刘建国, 汪群慧 (2236)

丝状菌膨胀对无纺布生物反应器处理效果及膜污染特征的影响 侍宽, 薛罡, 高品, 吴凡 (2241)

聚合氯化铝去除污泥水中磷的工艺优化 周振, 胡大龙, 乔卫敏, 陈冠翰, 蒋玲燕, 李震, 麦穗海 (2249)

鄱阳湖持久性有机污染物 (POPs) 长距离传输潜力模拟 弓晓峰, 向洪锐, 陈春丽, 周文斌, 王佳佳, 刘春英, 曾艳 (2256)

基于不确定性分析的垃圾焚烧烟气中重金属的土壤沉积及生态风险评估 廖志恒, 孙家仁, 吴兑, 范绍佳, 任明忠, 吕家扬 (2264)

农药企业场地土壤中苯系物污染风险及管理对策 谭冰, 王铁宇, 李奇锋, 张海燕, 庞博, 朱朝云, 王道涵, 吕永龙 (2272)

渤海湾海域 10 种鱼类中二噁英类及指示性多氯联苯的污染特征研究及风险评价 王莎莎, 高丽荣, 田益玲, 朱帅, 张芹 (2281)

基于荧光传感器 F_{rex} 的特性检测水质环境中生物毒性物质 赵巍, 汪钊, 蔡强, 欧文斌, 孟凡国 (2287)

对苯二酚抑制铜绿微囊藻生长下藻毒素的产生与释放 张元春, 梁文艳, 赵远, 李飞贞, 曹敬灿, 胡绍杰 (2294)

基于沼液的培养基及产油小球藻藻种选育 赵凤敏, 梅帅, 曹有福, 丁进锋, 徐嘉杰, 李树君 (2300)

酸性矿山废水库周边土壤微生物多样性及氨氧化菌群落研究 刘莹, 王丽华, 郝春博, 李璐, 李思远, 冯传平 (2305)

河蚬 (*Corbicula fluminea*) 扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度的影响 王雪, 赵大勇, 曾巾, 余多慰, 吴庆龙 (2314)

海洋油气田沉积物产甲烷活性及微生物生态 田琪, 王佳, 范晓蕾, 罗生军, 郭荣波, 邱艳玲 (2322)

DGGE 及 T-RFLP 分析光照下电位对细菌群落的影响 吴义诚, 邓欢, 肖勇, 赵峰 (2328)

重金属抗性解磷细菌的磷溶解特性研究 田江, 彭霞薇, 李霞, 孙雅君, 冯红梅, 江泽平 (2334)

1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 许培雅 (2341)

黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响 江玲, 杨芸, 徐卫红, 王崇力, 陈蓉, 熊仕娟, 谢文文, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (2349)

黄河三角洲区土壤活性氮对盐分含量的响应 李玲, 仇少君, 陈印平, 赵西梅, 刘京涛, 陆兆华 (2358)

宁南山区不同草地土壤原位矿化过程中氮素的变化特征 蒋跃利, 赵彤, 闫浩, 黄懿梅 (2365)

长期施用四环素残留猪粪对土壤中耐药菌及抗性基因形成的影响 张俊, 杨晓洪, 葛峰, 王娜, 焦少俊, 叶波平 (2374)

长期不同耕作方式对紫色水稻土重金属含量及有效性的影响 常同举, 崔孝强, 阮震, 赵秀兰 (2381)

伊犁河流域土壤重金属环境地球化学基线研究及污染评价 赵新儒, 特拉津·那斯尔, 程永毅, 詹江渝, 杨剑虹 (2392)

江苏如东互花米草盐沼湿地重金属分布及其污染评价 张龙辉, 杜永芬, 王丹丹, 高抒, 高文华 (2401)

小流域农业面源氮污染时空特征及与土壤呼吸硝化关系分析 欧阳威, 蔡冠清, 黄浩波, 耿晓君 (2411)

保护性耕作下小麦田土壤呼吸及碳平衡研究 张赛, 王龙昌, 黄召存, 贾会娟, 冉春燕 (2419)

米楮天然林和人工林土壤呼吸的比较研究 吴君君, 杨智杰, 翁发进, 刘小飞, 陈朝琪, 林伟盛, 王小红, 陈坦 (2426)

水力停留时间对复合式厌氧折流板反应器乙醇型发酵制氢系统的影响 刘晓焯, 张洪, 李永峰 (2433)

《环境科学》征订启事 (2208) 《环境科学》征稿简则 (2400) 信息 (2084, 2200, 2229, 2391)

1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性

王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 许培雅*

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310014)

摘要: 以传统微生物富集分离方法, 从垃圾渗滤液活性污泥中筛选到 1 株高效好氧反硝化菌, 通过形态观察、生理生化特征及 16S rDNA 序列分析, 对菌株进行了鉴定, 同时对其好氧反硝化特性和异养硝化功能进行了研究. 结果表明, 筛选到的好氧反硝化菌株为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 命名为 GL19, GenBank 登录号为 (KC710974). 碳源、C/N、pH 及温度对菌株反硝化活性影响较大. 在柠檬酸钠为碳源、C/N 不低于 15、pH 6~10、溶解氧 (DO) 4.8~7.7 mg·L⁻¹ 及温度为 15~34℃, 硝酸盐氮负荷为 140 mg·L⁻¹ 的条件下, 硝酸盐去除率均达 100%, 总氮 (TN) 平均去除率为 96.5%, 最终无亚硝酸盐积累; 菌株能以亚硝酸盐氮、氨氮为底物进行高效脱氮, 20 h 内可将 140 mg·L⁻¹ 的亚硝酸盐氮完全去除, 28 h 内可将 280 mg·L⁻¹ 的氨氮降至 3.11 mg·L⁻¹, 氨氮去除率达 98.9%. 显示该菌具有耐冷、高效脱氮特性, 可实现同步硝化反硝化, 这对南方地区冬季废水处理具有潜在应用价值.

关键词: 耐冷兼性嗜碱菌; 好氧反硝化菌; 鉴定; 16S rDNA 序列; 反硝化特性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)06-2341-08 DOI: 10.13227/j.hjks.2014.06.042

Identification and Denitrification Characteristics of a Psychrotolerant Facultative Basophilic Aerobic Denitrifier

WANG Zhao-yang, CHEN Guo-yao, JIANG Ke, XU Pei-ya

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: An aerobic denitrifier was isolated from the activated sludge of landfill leachate through traditional microbiological methods. Based on its morphological feature, physiological and biochemical properties, and 16S rDNA sequence analysis, this strain was identified as *Pseudomonas* sp., named as GL19 with an accession number of KC710974 in GenBank. Its aerobic denitrification characteristics and nitrification function were studied to show that the factors including carbon source, C/N, pH and cultivation temperature were important for denitrification. The optimized condition for aerobic denitrification was as follows: sodium citrate as the carbon resource, C/N no less than 15, pH of 6-10, DO of 4.8-7.7 mg·L⁻¹, culture temperature of 15-34℃ and the initial nitrate nitrogen of 140 mg·L⁻¹. Combining these conditions, the removal rate of nitrate nitrogen and average removal rate of TN reached 100% and 96.5%, respectively, without the accumulation of nitrite nitrogen. The strain had the capability to utilize nitrite nitrogen or ammonia nitrogen to achieve high nitrogen removal efficiency; the nitrite nitrogen removal rate reached 100% in 20 hours with an initial nitrite nitrogen of 140 mg·L⁻¹; the ammonia nitrogen was efficiently removed from 280 mg·L⁻¹ to 3.11 mg·L⁻¹ in 28 hours with the removal rate of up to 98.9%. These results suggested that strain GL19 with the function of cold resistance and highly effective aerobic denitrification could achieve simultaneous nitrification and denitrification. Hence, GL19 could have high potential in practical wastewater treatment in winter of south area.

Key words: psychrotolerant facultative alkaliphile; aerobic denitrifier; identification; 16S rDNA sequence; denitrification characteristics

好氧反硝化菌是一类在有氧条件下利用周质硝酸盐还原酶等好氧反硝化酶系进行反硝化脱氮反应的异养型微生物^[1]. 20 世纪 70 年代, Krul 等^[2]最早给出了好氧反硝化反应的科学确证, 80 年代, Robertson 等^[3]首次观察到好氧反硝化现象并分离出好氧反硝化菌. 这一发现打破了传统理论认为反硝化只能在缺氧条件下进行的认识, 为污水脱氮引入了全新的概念. 好氧反硝化菌具有适应性较强、生长速度快、容易控制等优点, 在污水脱氮处理方面具有广阔的应用前景, 引起了国内外研究者的广

泛关注.

目前, 筛选出的多数好氧反硝化菌在反硝化过程中存在反硝化活性低、亚硝酸盐氮积累严重、TN 去除率低等问题, 如杨基先等^[4]从活性污泥筛选出的好氧反硝化菌株 G3 在最优条件下, 24 h 内亚硝酸盐氮积累 12.03 mg·L⁻¹. Wang 等^[5]筛选出的菌

收稿日期: 2013-10-17; 修订日期: 2013-12-12

作者简介: 王兆阳(1988~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物技术及水污染控制, E-mail: zydywf@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xpy@zjut.edu.cn

株 *Pseudomonas* sp. HS-N62 在初始硝酸盐氮浓度为 $140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 9 h 时亚硝酸盐氮积累 $89.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应末期 TN 去除率仅 65.9%. Zheng 等^[6] 研究表明, 好氧反硝化菌株 *Marinobacter* sp. 在 3 d 内将 $147.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸盐氮几乎全部转化为亚硝酸盐氮. 极少数好氧反硝化菌具有快速高效脱氮性能, 如朱晓宇等^[7] 分离出的 2 株反硝化菌 *Pseudomonas pseudoaeruginosa* ZW23 和 *Pseudomonas mendocina* ZW27, 均可在 12 h 内引起反应体系内 TN 的显著下降, 脱氮速率分别达到 $21.72 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 和 $22.31 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 反应过程无亚硝酸盐氮积累. 为更好地将好氧反硝化菌应用于实际废水脱氮处理, 筛选分离出快速高效、环境适应性强的好氧反硝化菌仍然是一项极为迫切的任务. 本研究报道了 1 株具有耐低温兼性嗜碱特性的高效好氧反硝化菌, 并对其进行了鉴定, 较为详实地考察了其反硝化特性, 一方面丰富了好氧反硝化菌种资源库, 另一方面为污水脱氮提供了候选菌株和理论支持.

1 材料与方法

1.1 菌株来源

菌株分离自浙江萧山锦江绿色能源有限公司垃圾渗滤液生化反应池活性污泥.

1.2 培养基

富集培养基 SM ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[8]: 六水丁二酸钠 14.8; NaNO_3 0.85; KH_2PO_4 1.36; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.27; 酵母浸膏 1; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.19; 微量元素 2 mL; pH 7.2.

溴百里酚蓝 (BTB) 培养基 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[8]: L-天门冬酰胺 1.0; KNO_3 1.0; 丁二酸钠 $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 14.2; KH_2PO_4 1.0; $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.04; CaCl_2 0.15; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1; 琼脂 20; BTB 1 mL; pH 7.2.

反硝化培养基 DM ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 六水丁二酸钠 11.82 g; NaNO_3 0.85 g; 维氏盐溶液 50 mL, pH 7.2.

LB 活化培养基 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 蛋白胨 10.0; 酵母浸膏 5.0; NaCl 5.0; pH 7.

微量元素溶液 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): EDTA 50.0; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3.9; CaCl_2 5.5; $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 5.06; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.1; $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.57; $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.61; pH 6.0.

维氏盐溶液 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): K_2HPO_4 5.0; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5; NaCl 2.5; $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.05; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05.

1.3 高效好氧反硝化菌株的分离筛选

1.3.1 好氧反硝化菌的富集、初筛

取 5 mL 用玻璃珠均匀打散的活性污泥转接至装有 95 mL SM 容积为 250 mL 的三角瓶内, 置于 30°C , $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床条件培养, 每隔 4 d 以 5% 的接种量转接 1 次. 经过一段时间的富集驯化后, 通过倍比稀释、涂布 BTB 平板, 挑取 BTB 平板上蓝色单菌落连续划线纯化, 将纯化后的单菌落接种至斜面, 保存.

1.3.2 好氧反硝化菌的复筛

用 LB 培养基活化初筛菌, 取活化种子液离心并用无菌生理盐水重悬洗涤, 重复 3 次后重悬菌体, 配制成 D_{600} 为 1.0 的菌悬液, 以 2% 的接种量接种到装有 100 mL DM 的 250 mL 三角瓶中, 置于 30°C , $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床条件下培养 2 d, 混匀, 测定各培养液中的 TN, 每株菌设置 3 个平行.

1.4 菌株的形态及生理生化鉴定

参照文献^[9,10].

1.5 16S rDNA 序列分析

1.5.1 基因组 DNA 的提取

根据文献^[11]中的 CTAB 方法进行.

1.5.2 16S rDNA 的 PCR 扩增、测序

以基因组 DNA 为模板扩增 16S rDNA, 采用通用引物, 正向引物为 27F: 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3', 反向引物为 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 均由生物工程(上海)有限公司合成. PCR 反应体系 (50 μL) 为: $10\times$ PCR Buffer 5 μL ; dNTPs 4 μL ; 引物 27F 和 1492R 各 1 μL ; 模板 DNA 1 μL ; *Taq* DNA 聚合酶 1 μL ; ddH_2O 37 μL . PCR 反应条件为: 94°C 预变性 4 min; 94°C 变性 1 min, 55°C 退火 50 s, 72°C 延伸 1 min, 30 个循环; 72°C 延伸 10 min. 扩增结束用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, PCR 产物用 Takara DNA 片段纯化试剂盒纯化, 切胶回收后送至生物工程(上海)有限公司测序.

1.5.3 系统发育分析

将获得的 16S rDNA 序列在 EzTaxon server 2.1 中进行序列相似性比对, 从 LPSN 数据库中选取该菌株对应的模式菌株, 使用 MEGA 4.0 软件进行多序列比对分析, 并用 N-J 法构建系统发育树.

1.6 菌株 GL19 好氧反硝化特性研究

1.6.1 菌悬液的制备

斜面菌株用 LB 培养基活化 2 次后, 离心, 用无菌生理盐水洗涤 3 次, 悬浮于无菌生理盐水, 配制成

D_{600} 为 1.0 的菌悬液。

1.6.2 碳源对菌株好氧反硝化特性影响

分别以葡萄糖、丁二酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、乙醇以及甲醇作为唯一碳源, 维持 C/N 15, 以 2% 的接种量接种于装有 100 mL DM 的 250 mL 三角瓶中, 30℃、180 r·min⁻¹ 恒温摇床培养 48 h, 每 4 h 取样测定培养液的 D_{600} , 离心后测定 pH、硝酸盐氮(NO_3^- -N)、亚硝酸盐氮(NO_2^- -N) 以及总氮(TN)。

1.6.3 C/N 对菌株好氧反硝化特性影响

改变培养基中柠檬酸钠的量, 将 C/N 调整为 5、8、10、12、15、18。接种量 2%, 30℃、180 r·min⁻¹ 恒温摇床培养 36 h, 取样及指标测定同 1.6.2 节。

1.6.4 初始 pH 对菌株好氧反硝化特性影响

培养基的初始 pH 分别调整为 5、6、7、8、9、10。将菌株以 2% 的接种量接入适宜碳源和 C/N 的 DM 中, 30℃、180 r·min⁻¹ 恒温摇床培养 36 h, 取样及指标测定同 1.6.2 节。

1.6.5 DO 对菌株好氧反硝化特性影响

以摇床转速表征溶氧大小, 分别设定摇床转速为 120、180、200 及 230 r·min⁻¹, 对应 DO 分别为 4.8、6.9、7.2 及 7.7 mg·L⁻¹。将菌株以 2% 的接种量接入适宜碳源、C/N 及 pH 的 DM 中, 30℃ 恒温摇床培养 36 h, 取样及指标测定同 1.6.2 节。

1.6.6 温度对菌株好氧反硝化特性影响

将菌株以 2% 接种量接入适宜碳源、C/N 及 pH 的 DM 中, 分别置于 15、30、34、40℃, 适当转速的恒温摇床下培养 36 h, 取样及指标测定同 1.6.2 节。

1.6.7 菌株 GL19 对亚硝酸盐的利用考察

以亚硝酸钠作为 DM 中的唯一氮源, 维持 C/N 15, 以 2% 的接种量进行接种, 置于 30℃、180 r·min⁻¹ 的恒温摇床培养 36 h, 每 4 h 取样测定培养基中的 D_{600} 、总氮(TN), 离心后测定 pH、亚硝酸盐氮(NO_2^- -N) 及总氮(TN)。

1.6.8 菌株 GL19 异养硝化特性

以硫酸铵作为 DM 中的唯一氮源, 维持 C/N 15, 以 2% 的接种量进行接种, 置于 30℃、180 r·min⁻¹ 的恒温摇床培养 36 h, 每 4 h 取样测定培养基中的 D_{600} 、总氮(TN), 离心后测定 pH、氨氮(NH_4^+ -N) 及总氮(TN)。

1.7 分析方法

NO_3^- -N: GB7480-87 酚二磺酸分光光度法;
 NO_2^- -N: GB 7493-87 N-(1-萘基)-乙二胺光度法;
TN: GB 11894-89 过硫酸钾氧化-紫外分光光度法;
 NH_4^+ -N: GB 7479-87 纳氏试剂分光光度法; 菌体生

长量: 光密度法(D_{600}); pH 值采用 Switzerland 生产的 MP220-pH 计测定; DO 采用美国哈希(HACH)公司生产的 HQd Portable Meter 测定。

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离筛选

经过近 6 个月的富集驯化、BTB 平板筛选, 得到 34 株菌。经摇瓶复筛(结果见图 1) 得到 TN 去除率高于 45% 的菌株 GL2 和 GL19, 分别为 45.8%、51.7%。由于此处的 TN 是未经离心测定的, 既包括了培养基内硝酸盐氮、亚硝酸盐氮等无机氮又包括了胞内外可被氧化的有机氮。所以, TN 的去除率即可用来表示菌株好氧反硝化脱氮能力。选取菌株 GL19 进行后续研究。

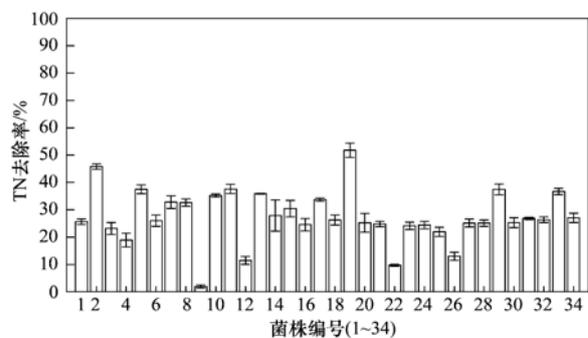


图 1 定量筛选结果

Fig. 1 Results of quantitative screening

2.2 菌株 GL19 的形态学和生理生化特性

菌株 GL19 在富集培养基琼脂平板上培养 24 h, 菌落呈圆形, 边缘不整齐, 白色黏稠, 不易挑取, 表面光滑, 半透明。油镜下观察细胞为短棒状(图 2), 革兰氏染色阴性。透射电镜观察(图 3) 菌株呈直棒状, 大小为(0.3~0.5) μm × (1.0~2.5) μm, 端生单鞭毛。菌株生理生化试验结果见表 1。

2.3 16S rDNA 序列的同源性比对及系统发育分析

将获得的 16S rDNA 序列在 EzTaxon server 2.1

表 1 菌株 GL19 生理生化鉴定结果¹⁾

生理生化指标	结果	生理生化指标	结果
葡萄糖氧化	-	色氨酸脱氨酶	-
接触酶	+	精氨酸双水解酶	+
氧化酶	+	鸟氨酸脱羧酶	-
硝酸盐还原	+	赖氨酸脱羧酶	+
V-P	-	精氨酸脱羧酶	+
甲基红	-	明胶液化	-
吲哚	-	Tween80	+
4℃ 生长	+	硫化氢	+
42℃ 生长	+	酪素水解	-
淀粉水解	-	反硝化	+

1) 表中“+”表示阳性;“-”表示阴性

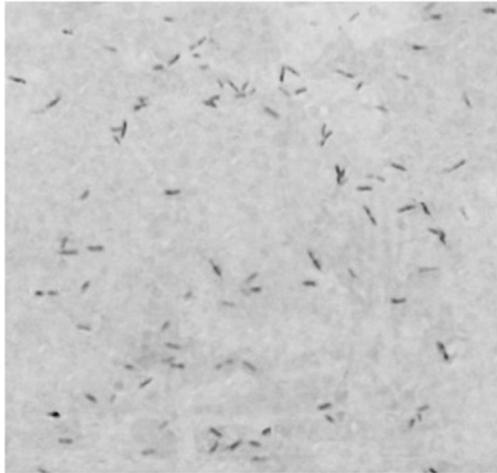


图2 菌株 GL19 菌体形态(10×100)

Fig. 2 Unicell morphology of strain GL19(10×100)

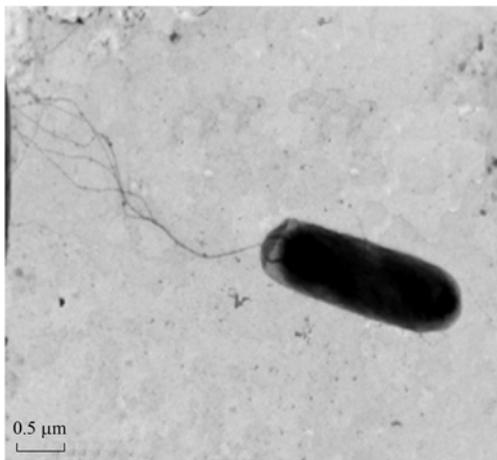


图3 菌株 GL19 透射电镜观察(×30 000)

Fig. 3 Transmission electron microscopy of strain GL19(×30 000)

中进行序列相似性比对,从 LPSN 数据库中选取该菌株对应的模式菌株,使用 MEGA 4.0 软件进行多序列比对分析,并用 N-J 法构建系统发育树,如图 4 所示.结果表明,菌株 GL19 与多株 *Pseudomonas* sp. 16S rDNA 序列的相似性达 99%. 其中与 *Pseudomonas toyotomiensis* HT-3^T 16S rDNA 序列的相

似性高达 99.783%,结合菌株的形态学及生理生化试验结果,可确定菌株 GL19 为假单胞菌属 *Pseudomonas* sp.. GenBank 登录号为(KC710974).

2.4 菌株 GL19 好氧反硝化特性研究

2.4.1 碳源对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

在微生物好氧反硝化过程中,碳源在为菌体生长提供能量的同时,也扮演着反硝化过程中电子供体的角色,对微生物好氧反硝化过程有着很重要的影响^[12,13].图 5 为不同碳源条件下菌体的生长情况及脱氮特性.结果表明,碳源对菌体的生长和脱氮特性影响较大.以柠檬酸钠或丁二酸钠为碳源时菌体生长良好,24 h 内 NO₃⁻-N 去除率分别可达 99.3%、100%,TN 的去除率均大于 96.0%,但以丁二酸钠为碳源,全程有少量 NO₂⁻-N 积累.以葡萄糖、乙酸钠及乙醇为碳源,菌体经较长的延滞期才到达对数期,NO₃⁻-N 也主要在对数期被利用,NO₃⁻-N 去除率在 48 h 内分别可达 96.9%、88.6%、92.6%,对应 TN 去除率分别为 93.0%、81.2%、88.8%.菌株在以甲醇为碳源时,几乎不生长.这与 Wang 等^[5]研究相似,菌株 GL19 能够利用常见小分子碳源进行生长及反硝化.菌株之所以不能利用甲醇,可能是由于甲醇对菌体产生了毒害作用.本试验考察的碳源种类较少,因而今后可以研究其它廉价碳源对该菌株反硝化活性的影响,为菌株实际应用提供理论参考.考虑到丁二酸钠价格较贵、且反应全程有 NO₂⁻-N 积累,后续试验选用柠檬酸钠为碳源.

2.4.2 C/N 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

很多研究表明 C/N 对好氧反硝化的影响很大,且普遍认为较高的 C/N 会增强好氧反硝化效果^[14,15].图 6 为不同 C/N 条件下,菌体在不同时间段的好氧反硝化活性.结果显示不同 C/N 对菌体的生长和反硝化能力有着很大的影响.当 C/N 不大于 12 时,由于碳源不充足,菌体的生长和反硝化活性都受到一定程度的抑制,NO₃⁻-N 不能完全去除,

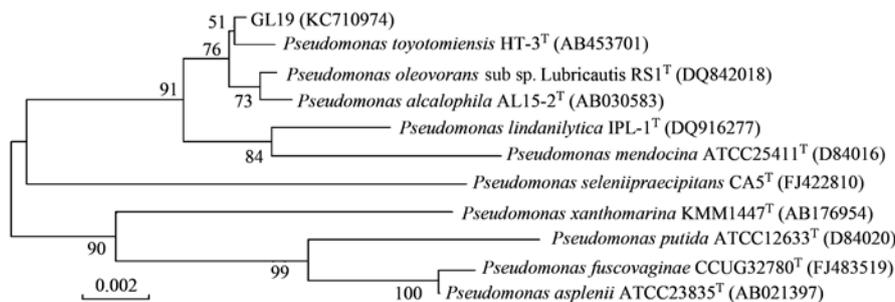


图4 基于 16S rDNA 序列同源性构建的菌株 GL19 及相关细菌的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic trees of strain GL19 and related bacteria based on the partial 16S rDNA sequences

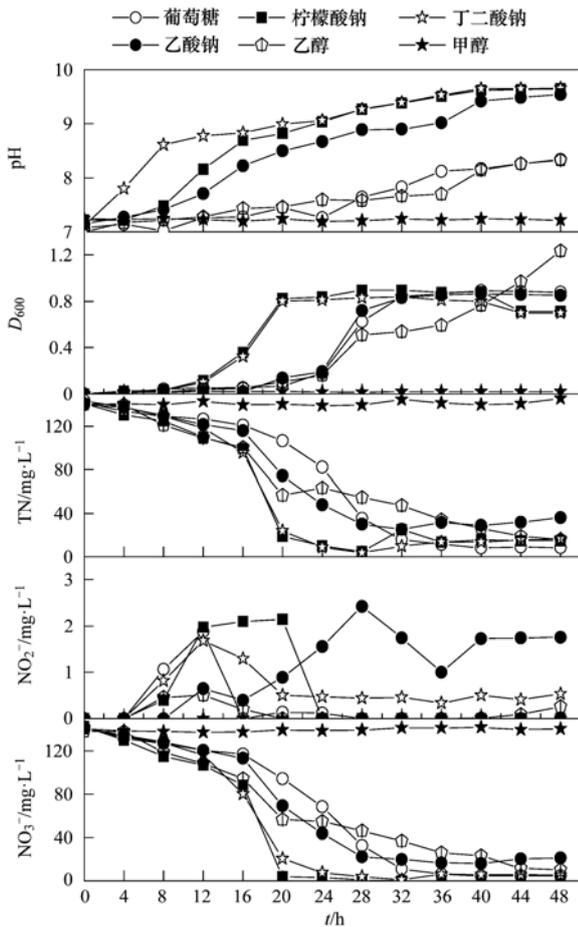


图 5 碳源对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

Fig. 5 Effects of carbon source on the aerobic denitrification of strain GL19

TN 去除率最大仅为 84.8%, 且整个过程均有 NO_2^- -N 积累, 特别当 C/N 为 5 时, NO_3^- -N 及 TN 的去除率仅为 55.4%、35.1%。当 C/N 增大到 15 时, NO_3^- -N 去除率达 100%, 对应 TN 去除率为 96.9%, 且最终无 NO_2^- -N 积累。继续增大 C/N, 菌体浓度虽有一定程度的提高, 但反硝化活性已经达到稳定, 即 C/N 为 15 时, 菌体反硝化所需的能量已经很充足。但实际废水尤其是高浓度含氮废水的 C/N 比较低, 增加 C/N 势必会增加废水处理的成本, 故在实际应用中应视情况而定, 综合考虑。

2.4.3 初始 pH 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

环境中 pH 的改变能够引起微生物细胞膜电荷的变化, 进而影响微生物对营养物质的吸收。此外, pH 还影响微生物反硝化酶的活性, pH 过高或过低均会导致反硝化酶活力降低甚至失活^[16]。图 7 为不同 pH 条件下, 菌体在不同时间段的生长情况及好氧反硝化活性。从中可以看出, 菌体生长的 pH 范围为 6~10, 当 pH 为 5 时, 菌体不能生长。pH 为 6

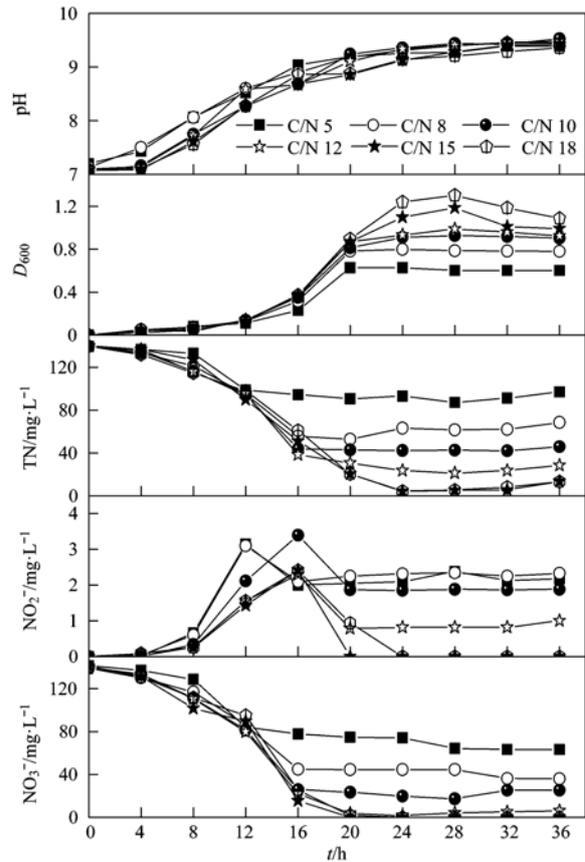


图 6 C/N 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

Fig. 6 Effects of C/N on the aerobic denitrification of strain GL19

~10 时, 菌体能够生长并发挥反硝化作用, 最终 NO_3^- -N 的去除率均可达 100%, TN 平均去除率约 96.0%, 无 NO_2^- -N 积累。pH 为 6 时, 菌体经过近 20 h 的适应期才进入对数期, 且过程中 NO_2^- -N 积累严重, 最高积累 $10.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。可能是由于酸性环境抑制了亚硝酸盐还原酶的活性, 进入对数期后, 随着 pH 升高, 亚硝酸盐还原酶恢复活性, 最终将积累的 NO_2^- -N 全部还原。pH 为 10 较之 pH 为 6, 菌体生长适应期短、 NO_2^- -N 微量积累、反硝化速率高, 说明该菌在碱性环境下能较好地生长并发挥反硝化作用, 具有兼性嗜碱特性。而目前分离出的大多数好氧反硝化菌脱氮适宜 pH 为中性或偏碱, 在 pH 为 10 条件下几乎没有太大的反硝化能力。Wang 等^[5]对 *Pseudomonas* sp. HS-N62 研究表明, 在 pH 为 10 时, 菌株硝酸盐氮去除率不足 50%。Zheng 等^[17]对耐冷反硝化菌 *Psychrobacter* sp. S1-1 研究表明, 偏碱性条件下菌株的反硝化能力大大降低。李卫芬等^[18]利用 *Pseudomonas stutzeri* F1 进行反硝化研究表明, 在 pH 大于 8 的条件下菌体就出现了生长不好, 脱氮效率低的现象。结果表明菌株 GL19 具有兼

性嗜碱特性, pH 适应范围优于目前分离出的大多数好氧反硝化菌.

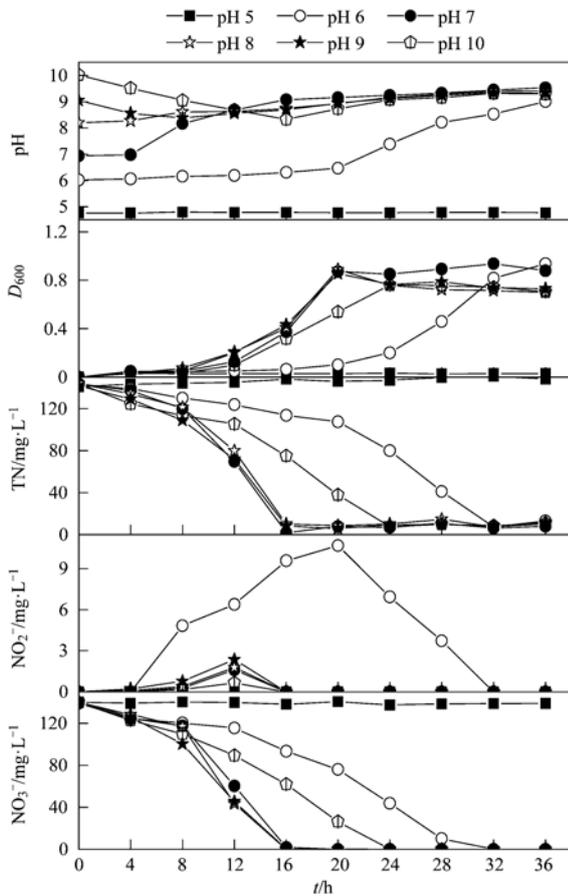


图 7 初始 pH 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

Fig. 7 Effects of initial pH on the aerobic denitrification of strain GL19

2.4.4 DO 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

DO 作为反硝化过程中重要的影响因素之一, 其浓度高低直接影响好氧反硝化菌的生长状况及脱氮活性, 且不同菌种的好氧反硝化机制存在较大差异, 有必要做进一步研究^[19~21]. 本试验通过调节摇床转速来实现培养基中不同的 DO 浓度. 由图 8 可知, 转速越高, 菌株适应期越短, 达到最佳脱氮效果时间越短, 但彼此相差不大, 4 个 DO 浓度均可在 16 ~ 20 h 内实现 NO_3^- -N 完全去除, TN 去除率均约 95.0%, NO_2^- -N 在中间阶段出现少量积累, 而后被迅速利用. 其中 NO_3^- -N 反应速率最高可达 $24.32 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 而目前好氧反硝化菌反应速率大多在 $4.50 \sim 13.67 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 菌株 GL19 的反应速率是这些菌的 1.77 ~ 5.40 倍. 这说明 $4.8 \sim 7.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围, 好氧反硝化相关酶系均具有较强的活性, 受 DO 浓度影响较小. 目前大多数分离出的好

氧反硝化菌的反硝化活性都在某种程度上受到 DO 的影响, 如 *Marinobacter* sp. F6^[6]、*Pseudomonas stutzeri* F1^[18]、*Pseudomonas stutzeri* YHA-13^[22]、*Agrobacterium* sp. LAD9^[23] 等. 少数研究者发现某些好氧反硝化菌反硝化活性不受 DO 影响, 如 *Acinetobacter* sp. C-4^[24], 在 $100 \sim 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 范围内均可维持高效去除率. 本研究结果表明 DO 对菌株 GL19 的生长及反硝化活性影响较小, 这进一步证实该菌株在实际废水处理上的潜在实用价值.

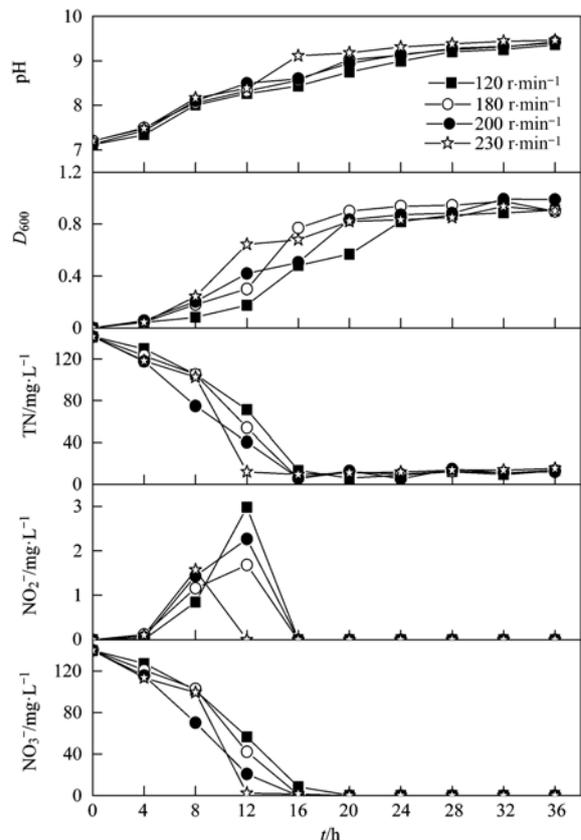


图 8 DO 对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

Fig. 8 Effects of DO on the aerobic denitrification of strain GL19

2.4.5 温度对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响

温度是影响菌体生长及好氧反硝化酶活性的一个重要因素, 温度过高或过低均会影响菌体的生长和反硝化酶的活性. 图 9 为不同温度条件下, 菌体在不同时间段的生长状况及反硝化活性. 从中可以看出, 温度对菌株 GL19 的生长及反硝化活性有着显著的影响. 当温度为 15°C 时, 菌体经约 20 h 的适应期进入对数期, 进入对数期后的 16 h 内, 将 NO_3^- -N 完全去除, NO_3^- -N 反应速率最高达 $8.31 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, TN 去除率约 94.3%, 最终无 NO_2^- -N 积累. 在温度为 30°C 、 34°C 条件下, 菌株能够快速生长, 反硝化速率也大大增强, 20 h 时 NO_3^- -N 去除

率达到 100%, TN 去除率分别达到 96.8%、96.2%, 反应末期无 NO_2^- -N 积累. 当温度为 40°C 时, 菌体浓度最大, 但脱氮效果降低, NO_3^- -N、TN 最大去除率分别仅为 84.3%、78.8%, NO_2^- -N 全程积累, 末期积累量为 $3.33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明该菌株最适生长温度与好氧反硝化最适温度不同, 40°C 高温抑制了菌株反硝化酶系的活性. 而张苗等^[25] 筛选出的 *Chelatococcus* sp. TAD1 可在 50°C 好氧条件下 24 h 内可将 $63.79 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸盐氮降至 $0.46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 相比而言在高温环境下菌株 GL19 存在反硝化活性不高的问题, 但菌株 GL19 具有较强的耐冷特性, 在低温 15°C 条件下, 仍能够生长并发挥反硝化作用. 而南方地区冬季废水脱氮系统的水温一般为 18°C 左右, 因此该菌可作为南方地区冬季废水脱氮工艺的候选菌株.

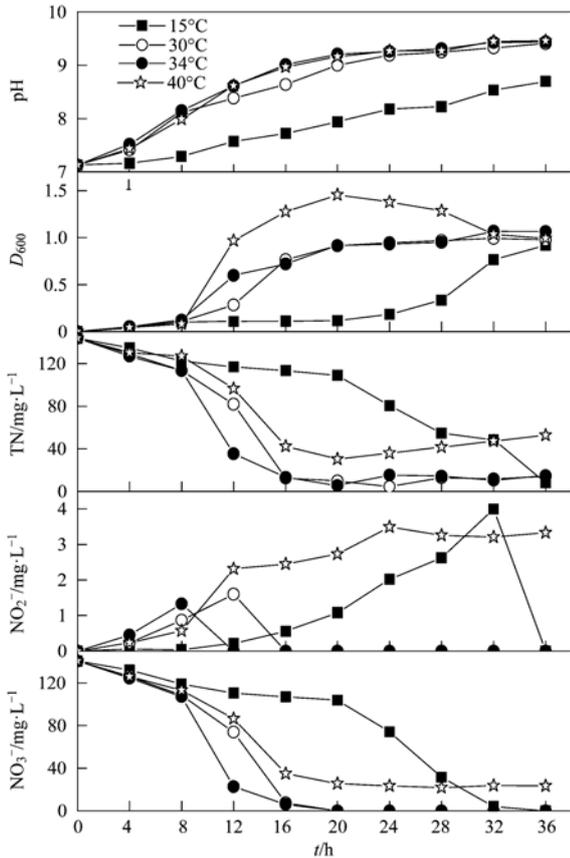


图 9 温度对菌株 GL19 好氧反硝化特性的影响
Fig. 9 Effects of temperature on the aerobic denitrification of strain GL19

2.4.6 菌株 GL19 对亚硝酸盐的利用考察

菌株 GL19 对亚硝酸盐利用情况如图 10 所示, 菌株经过 8 h 的适应期后进入对数期, 进入对数期 12 h 内, 即将初始浓度为 $140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- -N 全部

去除, 对应 TN 去除率为 94.8%. 整个反应过程未离心 TN 去除率为 44.1%, 即约 44% 的氮以气体的形式释放, 反应过程有 NO_3^- -N 积累 (图 10 中未显示), 但反应末期检测不到 NO_3^- -N 的存在, 这一方面说明菌株在一定条件下可被诱导产生异养硝化酶系之一的亚硝酸盐氧化酶; 另一方面说明菌株能以硝酸盐或亚硝酸盐为底物进行高效好氧反硝化作用, 可以作为处理不同废水水质的候选菌株.

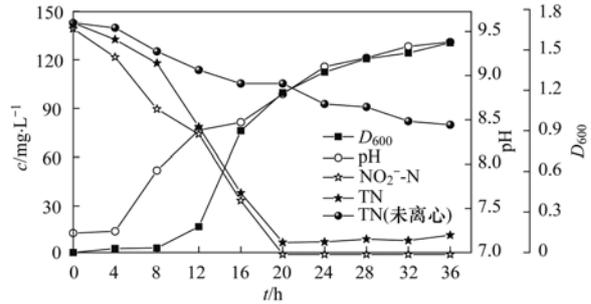


图 10 菌株 GL19 亚硝酸盐反硝化过程
Fig. 10 Process of nitrite denitrification of strain GL19

2.5 菌株 GL19 异养硝化特性

目前分离出的大多数好氧反硝化菌都具有异养硝化特性. 为验证菌株 GL19 是否具有异养硝化特性, 本研究以硫酸铵作为 DM 中的唯一氮源, 考察不同时间段菌体的生长状况及异养硝化特性, 结果见图 11. 从中可知, 菌株 GL19 在 4 h 时即进入对数期, 于 28 h 内将初始浓度为 $280 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NH_4^+ -N 降至 $3.11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NH_4^+ -N 去除率达 98.9%, 相应 TN 去除率为 91.7%. 整个反应过程未离心 TN 去除率为 35.1%, 这说明在异养硝化过程中约 35% 的氮因反硝化作用以气体形式释放, 整个反应没有检测到 NO_3^- -N、 NO_2^- -N, 这可能是由于菌株 GL19 具有较高的好氧反硝化活性, 异养硝化的中间代谢产物产生即被利用, 所以检测不到中间代谢物, 也有可能菌株 GL19 具有特殊的异养硝化代谢途径: NH_4^+ -N \rightarrow NH_2OH \rightarrow N_2O \rightarrow N_2 ^[26]. 综上可知, 好氧反硝化菌株

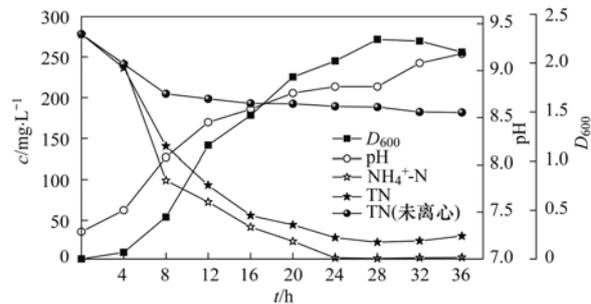


图 11 菌株 GL19 异养硝化特性
Fig. 11 Nitrification performance of the strain GL19

GL19 兼具异养硝化特性,能够独立实现同一反应器内的同步硝化反硝化。

3 结论

(1)从垃圾渗滤液活性污泥中筛选到 1 株高效好氧反硝化菌 GL19。通过形态观察、生理生化特征及 16S rDNA 分析,初步鉴定该菌为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), GenBank 登录号为 KC710974。

(2)研究发现碳源、C/N、pH 及温度对菌株反硝化活性影响较大。在柠檬酸钠为碳源、C/N 不低于 15、pH 6 ~ 10、DO 4.8 ~ 7.7 mg·L⁻¹ 及温度 15 ~ 34℃,硝酸盐氮负荷为 140 mg·L⁻¹ 的条件下,硝酸盐去除率均达 100%, TN 平均去除率为 96.5%, 最终无亚硝酸盐积累,具有耐冷兼性嗜碱、高效脱氮特性。

(3)该菌能够利用氨氮、硝酸盐氮及亚硝酸盐氮进行快速高效地脱氮,可应用于不同含氮水质废水的脱氮处理,同时该菌具有耐冷特性,其在南方地区冬季废水脱氮处理方面也具有一定的潜在实用价值。

参考文献:

- [1] 丁炜, 朱亮, 徐京, 等. 好氧反硝化菌及其在生物处理与修复中的应用研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17** (6): 923-929.
- [2] Krul J M. Dissimilatory nitrate and nitrite reduction under aerobic conditions by an aerobically and anaerobically grown *Alcaligenes* sp. and by activated sludge [J]. Journal of Applied Microbiology, 1976, **40** (3): 245-260.
- [3] Robertson L A, Kuenen J G. Aerobic denitrification: a controversy revived [J]. Archives of Microbiology, 1984, **139** (4): 351-354.
- [4] 杨基先, 高珊珊, 马放, 等. 一株好氧反硝化细菌的分离鉴定及反硝化能力[J]. 环境科学学报, 2008, **28** (7): 1302-1307.
- [5] Wang P, Yuan Y, Li Q, et al. Isolation and immobilization of new aerobic denitrifying bacteria [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, **76**: 12-17.
- [6] Zheng H Y, Liu Y, Gao X Y, et al. Characterization of a marine origin aerobic nitrifying-denitrifying bacterium [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, **114** (1): 33-37.
- [7] 朱晓宇, 王世梅, 梁剑茹, 等. 两株高效好氧反硝化细菌的分离鉴定及其脱氮效率[J]. 环境科学学报, 2009, **29** (1): 111-117.
- [8] Takaya N, Catalan-Sakairi M A B, Sakaguchi Y, et al. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69** (6): 3152-3157.
- [9] 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.
- [10] 布坎南·R·E, 吉本斯·N·E. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [11] 贾爱荣, 张永刚, 王萍, 等. 食品检测中革兰氏阳性菌 DNA 提取新方法的研究[J]. 食品工业, 2011, **32** (12): 104-107.
- [12] Bernat K, Wojnowska-Baryła I. Carbon source in aerobic denitrification [J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, **36** (2): 116-122.
- [13] 肖继波, 江惠霞, 褚淑祎. 好氧反硝化菌 *Deftuwbacter lusatiensis* str. DN7 的分离鉴定和异养硝化性能[J]. 应用生态学报, 2012, **23** (7): 1979-1984.
- [14] Kim M, Jeong S Y, Yoon S J, et al. Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N ratios [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, **106** (5): 498-502.
- [15] 张苗, 黄少斌, 肖先念. C/N 和 pH 值对高温好氧反硝化菌产 N₂O 的影响研究[J]. 环境工程学报, 2012, **6** (1): 275-279.
- [16] Gupta A B. *Thiosphaera pantotropha*: a sulphur bacterium capable of simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1997, **21** (8): 589-595.
- [17] Zheng H Y, Liu Y, Sun G, et al. Denitrification characteristics of a marine origin psychrophilic aerobic denitrifying bacterium [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, **23** (11): 1888-1893.
- [18] 李卫芬, 傅罗琴, 邓斌, 等. 1 株好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性研究[J]. 环境科学, 2011, **32** (8): 2403-2408.
- [19] Patureau D, Bernet N, Delgenes J P, et al. Effect of dissolved oxygen and carbon-nitrogen loads on denitrification by an aerobic consortium [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, **54** (4): 535-542.
- [20] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4 [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, **100** (2): 184-191.
- [21] Wu Z, Huang S, Yang Y, et al. Isolation of an aerobic denitrifying bacterial strain from a biofilter for removal of nitrogen oxide [J]. Aerosol and Air Quality Research, 2013, **13** (3): 1126-1132.
- [22] 韩永和, 章文贤, 庄志刚, 等. 耐盐好氧反硝化菌 A-13 菌株的分离鉴定及其反硝化特性[J]. 微生物学报, 2013, **53** (1): 47-58.
- [23] Chen Q, Ni J. Ammonium removal by *Agrobacterium* sp. LAD9 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, **113** (5): 619-623.
- [24] 杨小龙, 李文明, 陈燕, 等. 一株好氧反硝化菌的分离鉴定及其除氮特性[J]. 微生物学报, 2011, **51** (8): 1062-1070.
- [25] 张苗, 黄少斌. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及其反硝化性能研究[J]. 环境科学, 2011, **32** (1): 259-265.
- [26] 于大禹, 张琳颖, 高波. 异养硝化-好氧反硝化菌异养硝化性能的影响因素[J]. 化工进展, 2012, **31** (12): 2797-2800.

CONTENTS

Comparative Analysis on Meteorological Condition for Persistent Haze Cases in Summer and Winter in Beijing	LIAO Xiao-nong, ZHANG Xiao-ling, WANG Ying-chun, <i>et al.</i> (2031)
Size Distributions of Water-Soluble Inorganic Ions in Atmospheric Aerosols in Fukang	MIAO Hong-yan, WEN Tian-xue, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (2045)
Study on Transition Metals in Airborne Particulate Matter in Shanghai City's Subway	BAO Liang-man, LEI Qian-tao, TAN Ming-guang, <i>et al.</i> (2052)
Heavy Metal Concentrations in Mosses from Qiyi Glacier Region	MA Juan-juan, LI Zhen (2060)
Distributions of Dimethylsulfide and Dimethylsulfoniopropionate and Influencing Factors in the East China Sea and the Southern Yellow Sea During the Winter	SONG Yi-zhu, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (2067)
Pollution by Heavy Metals in the Petrochemical Sewage Waters of the Sea Area of Daya Bay and Assessment on Potential Ecological Risks	XU Shan-nan, LI Chun-hou, XU Jiao-jiao, <i>et al.</i> (2075)
Distribution of Perfluorinated Compounds in Surface Water of Shenzhen Reservoir Groups	WANG Xin-xuan, ZHANG Hong, HE Long, <i>et al.</i> (2085)
Contamination and Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Epikarst Spring Water	SUN Yu-chuan, SHEN Li-cheng, YUAN Dao-xian (2091)
Biogeochemical Processes of the Major Ions and Dissolved Inorganic Carbon in the Guijiang River	TANG Wen-kui, TAO Zhen, GAO Quan-zhou, <i>et al.</i> (2099)
Hydrologic Processes of the Different Landscape Zones in Fenhe River Headwater Catchment	YANG Yong-gang, LI Cai-mei, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (2108)
Assessment of Groundwater Quality of Different Aquifers in Tongzhou Area in Beijing Plain and Its Chemical Characteristics Analysis	GUO Gao-xuan, JU Yi-wen, ZHAI Hang, <i>et al.</i> (2114)
Models for Quantification of Fluid Saturation in Two-Phase Flow System by Light Transmission Method and Its Application	ZHANG Yan-hong, YE Shu-jun, WU Ji-chun (2120)
Nitrogen Leaching and Associated Environmental Health Effect in Sloping Cropland of Purple Soil	CHEN Wei-liang, GAO Yang, LIN Yong-ming, <i>et al.</i> (2129)
Research on Land Use Structure Optimization Based on Nonpoint Source Dissolved Nitrogen Load Estimation in Shuashui Watershed	LU Yu-chao, BI Meng-fei, LI Ze-li, <i>et al.</i> (2139)
Nitrogen and Organic Matter Vertical Distribution Characteristics and Evaluation in Ancient Canal Sediments of Zhenjiang Old Town	ZHOU Xiao-hong, LI Yi-min, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (2148)
Effects of Two Submerged Macrophytes on Dissolved Inorganic Nitrogen in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, LI Yang, SUN Gong-xian (2156)
Bioavailable Phosphorus on Suspended Solids of Lake Under Short-term and Repeated Sediment Disturbance	WU Xiao-fei, LI Da-peng (2164)
Influence of Different Disturbance Intensity on the Phosphorus Adsorption and Immobilization by the Sediments from an Inner City Heavily Polluted Canal	WANG Shang, LI Da-peng (2171)
Effect of Feed Residues on the Release of Nitrogen and Phosphorus of Pond Sediment	LÜ Yuan-jiao, LI Rui-jiao, ZHANG Nian, <i>et al.</i> (2178)
Delivery and Release of Sediment PAHs During Resuspension	WANG Xiao-hui, BI Chun-juan, HAN Jing-chao (2185)
Effects of Low Molecular Weight Organic Acids on Redox Reactions of Mercury	ZHAO Shi-bo, SUN Rong-guo, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (2193)
Removal of Fluorescent Whitening Agent by Hydrogen Peroxide Oxidation Catalyzed by Activated Carbon	LIU Hai-long, ZHANG Zhong-min, ZHAO Xia, <i>et al.</i> (2201)
Kinetics of Alkylphenols Degradation in Aqueous Phase with Excilamp Irradiation	LIU Yu-hai, YE Zhao-lian, WEN Ying-pin, <i>et al.</i> (2209)
AF + BAF for Treating Effluent in the Sewage Plant of the Resin and Chemical Industry Park	TU Yong, LIU Wei-jing, ZHANG Yao-hui, <i>et al.</i> (2216)
Synthesis and Adsorption Property of Cd(II)-8-hydroxyquinoline Molecularly Imprinted Polymer Microspheres	YANG Chun-yan, CHEN Fu-bin, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (2223)
Simultaneous Nitrification and Denitrification in a Microbubble-aerated Biofilm Reactor	LIU Chun, NIAN Yong-jia, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2230)
Effect of PLA/Starch Slow-Release Carbon Source on Biological Denitrification	TANG Dan-qi, WANG Juan, ZHENG Tian-long, <i>et al.</i> (2236)
Impacts of Filamentous Bulking on Treatment Effect and Fouling Characteristics of Nonwoven Bioreactor	SHI Kuan, XUE Gang, GAO Pin, <i>et al.</i> (2241)
Optimization for Phosphorous Removal in Thickening and Dewatering Sludge Water by Polyaluminum Chloride	ZHOU Zhen, HU Da-long, QIAO Wei-min, <i>et al.</i> (2249)
Simulation of Long-Range Transport Potential of POPs in Poyang Lake	GONG Xiao-feng, XIANG Hong-rui, CHEN Chun-li, <i>et al.</i> (2256)
Uncertainty Analysis of Ecological Risk Assessment Caused by Heavy-metals Deposition from MSWI Emission	LIAO Zhi-heng, SUN Jia-ren, WU Dui, <i>et al.</i> (2264)
Risk Assessment and Countermeasures of BTEX Contamination in Soils of Typical Pesticide Factory	TAN Bing, WANG Tie-yu, LI Qi-feng, <i>et al.</i> (2272)
Levels Distribution and Risk Assessment of the Indicator and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls in Ten Different Species of Marine Fish of Bohai Bay, China	WANG Sha-sha, GAO Li-rong, TIAN Yi-ling, <i>et al.</i> (2281)
Detection of Biohazardous Materials in Water upon the Characteristics of Fluorescent Sensor Flex	ZHAO Wei, WANG Zhao, CAI Qiang, <i>et al.</i> (2287)
Generation and Release of Microcystin-LR by <i>Microcystis aeruginosa</i> Under Hydroquinone Inhibition	ZHANG Yuan-chun, LIANG Wen-yan, ZHAO Yuan, <i>et al.</i> (2294)
Culture Medium Based on Biogas Slurry and Breeding of Oil Chlorella	ZHAO Feng-min, MEI Shuai, CAO You-fu, <i>et al.</i> (2300)
Microbial Diversity and Ammonia-Oxidizing Microorganism of a Soil Sample Near an Acid Mine Drainage Lake	LIU Ying, WANG Li-hua, HAO Chun-bo, <i>et al.</i> (2305)
Effects of <i>Corbicula fluminea</i> Bioturbation on the Community Composition and Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Surface Sediments	WANG Xue, ZHAO Da-yong, ZENG Jin, <i>et al.</i> (2314)
Methanogenic Activity and Methanogen Diversity in Marine Gas Field Sediments	TIAN Qi, WANG Jia, FAN Xiao-lei, <i>et al.</i> (2322)
Effect of the Potential on Bacterial Community Under Illumination by DGGE and T-RFLP	WU Yi-cheng, DENG Huan, XIAO Yong, <i>et al.</i> (2328)
Isolation and Characterization of Two Bacteria with Heavy Metal Resistance and Phosphate Solubilizing Capability	TIAN Jiang, PENG Xia-wei, LI Xia, <i>et al.</i> (2334)
Identification and Denitrification Characteristics of a Psychrotolerant Facultative Basophilic Aerobic Denitrifier	WANG Zhao-yang, CHEN Guo-yao, JIANG Ke, <i>et al.</i> (2341)
Effects of Ryegrass and Arbuscular Mycorrhiza on Activities of Antioxidant Enzymes, Accumulation and Chemical Forms of Cadmium in Different Varieties of Tomato	JIANG Ling, YANG Yun, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (2349)
Response of Active Nitrogen to Salinity in a Soil from the Yellow River Delta	LI Ling, QIU Shao-jun, CHEN Yin-ping, <i>et al.</i> (2358)
Variation of Soil Nitrogen During <i>in situ</i> Mineralization Process Under Different Grasslands in the Mountainous Area of Southern Ningxia, Northwest China	JIANG Yue-li, ZHAO Tong, YAN Hao, <i>et al.</i> (2365)
Effects of Long-Term Application of Pig Manure Containing Residual Tetracycline on the Formation of Drug-Resistant Bacteria and Resistance Genes	ZHANG Jun, YANG Xiao-hong, GE Feng, <i>et al.</i> (2374)
Long-Term Effects of Tillage Methods on Heavy Metal Accumulation and Availability in Purple Paddy Soil	CHANG Tong-ju, CUI Xiao-qiang, RUAN Zhen, <i>et al.</i> (2381)
Environmental Geochemical Baseline of Heavy Metals in Soils of the Ili River Basin and Pollution Evaluation	ZHAO Xin-ru, Telajin Nasier, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2392)
Distribution Patterns and Pollution Assessments of Heavy Metals in the <i>Spartina alterniflora</i> Salt-Marsh Wetland of Rudong, Jiangsu Province	ZHANG Long-hui, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (2401)
Temporal-Spatial Distribution of Agricultural Diffuse Nitrogen Pollution and Relationship with Soil Respiration and Nitrification	OUYANG Wei, CAI Guan-qing, HUANG Hao-bo, <i>et al.</i> (2411)
Soil Respiration and Carbon Balance in Wheat Field Under Conservation Tillage	ZHANG Sai, WANG Long-chang, HUANG Zhao-cun, <i>et al.</i> (2419)
Comparison of Soil Respiration in Natural <i>Castanopsis carlesii</i> Forest and Plantation Forest	WU Jun-jun, YANG Zhi-jie, WENG Fa-jin, <i>et al.</i> (2426)
Influences of Hydraulic Retention Time on the Ethanol Type Fermentation Hydrogen Production System in a Hybrid Anaerobic Baffled Reactor	LIU Xiao-ye, ZHANG Hong, LI Yong-feng (2433)

《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)

2014年6月15日 第35卷 第6期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 6 Jun. 15, 2014

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行