

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第8期

Vol.35 No.8

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

2012年春季京津冀地区一次沙尘暴天气过程中颗粒物的污染特征分析	刘庆阳, 刘艳菊, 赵强, 张婷婷, 张美根, 王存美 (2843)
杭州灰霾天气超细颗粒浓度分布特征	陈秋方, 孙在, 谢小芳 (2851)
气象因素对广州市大气中二噁英污染特征的影响	杜国勇, 苏原, 任明忠, 张素坤, 青宪 (2857)
龙凤山本底站大气 CO ₂ 数据筛分及浓度特征研究	栾天, 周凌晔, 方双喜, 姚波, 王红阳, 刘钊 (2864)
区域传输对华东森林及高山背景点位大气污染物浓度的影响	苏彬彬, 许榕洋, 张若宇, 纪贤鑫 (2871)
天津市夏季蜂窝状溶蚀器涂层溶液浓度确定的实验研究	张诗建, 姬亚芹, 张雷波, 赵雪艳, 朱振宇, 杨文 (2878)
铅锌冶炼厂不同工艺铅元素粒径分布特征	梁俊宁, 李文慧, 葛毅, 陈洁, 宋丽娜, 刘杰 (2883)
KI 改性黏土脱除烟气中单质汞的研究	沈伯雄, 陈建宏, 蔡记, 何川, 李卓 (2890)
污泥直接干化产生的恶臭及挥发性有机物特征研究	陈文和, 邓明佳, 罗辉, 张婧赢, 丁文杰, 刘俊新, 李琳 (2897)
基于风险管理的区域(流域)地下水污染预警方法研究	白利平, 王业耀, 郭永丽, 周友亚, 刘俐, 颜增光, 李发生 (2903)
1980~2010年浙江某典型河流硝态氮通量对净人类活动氮输入的动态响应	张柏发, 陈丁江 (2911)
南京仙林新市区土地利用结构与格局对湿地水环境氮、磷影响研究	蔡春晓, 刘红玉, 李玉凤, 王聪, 侯明行 (2920)
三江平原典型沼泽湿地养分累积与沉积特征	李瑞利, 柴民伟, 邱国玉, 石福臣, Sasa Kaichiro (2928)
岩溶地下河流域表层土壤多环芳烃污染特征及来源分析	蓝家程, 孙玉川, 师阳, 徐昕, 袁道先, 胡宁 (2937)
亚热带典型岩溶区地表溪流水文地球化学昼夜变化及其影响因素研究	张陶, 蒲俊兵, 袁道先, 章程, 何师意, 于爽, 刘文, 莫雪, 周建超, 杨会, 唐伟 (2944)
藏南干旱区湖泊及地热水体氢氧同位素研究	肖可, 沈立成, 王鹏 (2952)
广西五里峡水库夏季溶解无机碳行为的初步研究	刘文, 蒲俊兵, 于爽, 章程, 区绎如, 袁道先, 杨会, 唐伟 (2959)
铜陵相思河流域重金属分布特征研究	陈莉薇, 徐晓春, 王军, 陈芳 (2967)
不同压力作用下太湖蓝藻气囊体积分数及上浮特性研究	王巍, 丛海兵, 徐亚军, 陈雯婧, 徐思涛, 吴军, 蒋新跃 (2974)
酸性条件下Ti(IV)催化 O ₃ /H ₂ O ₂ 降解邻苯二甲酸二甲酯	高燕, 沈佟栋, 陈尧, 周慧华, 童少平 (2980)
无机离子与胡敏酸对零价铁去除水中Pb(II)、Hg(II)的影响	施秋伶, 周欣, 张进忠, 邱昕凯 (2985)
羟基磷灰石-四氧化三铁-沸石复合材料制备及去除水中刚果红研究	方巧, 林建伟, 詹艳艳, 杨孟娟, 郑雯婧 (2992)
不锈钢 201、304 和 316L 在模拟污水管道反应器中的腐蚀	鲍国栋, 左剑恶, 王雅娟, 千里里 (3002)
微滤过程中腐殖酸与膜表面黏附特性的试验研究	王磊, 王磊, 黄丹曦, 王旭东 (3007)
不同类型 LDHs 对垂直流人工湿地无烟煤基质的覆膜改性及其脱氮效果研究	张翔凌, 郭露, 陈俊杰, 刘小婷, 徐璐, 陈巧珍, 王晓晓 (3012)
SPG 膜曝气-基因工程菌生物膜反应器处理阿特拉津废水研究	刘春, 龚鹏飞, 肖太民, 张明, 年永嘉, 杨景亮, 张晶 (3018)
SPG 膜微气泡曝气生物膜反应器运行性能影响因素研究	张磊, 张明, 刘春, 张静, 刘俊良 (3024)
曝气膜生物反应器运行过程中污泥活性特征变化及其对膜污染的影响	陈烜, 汤兵, 张姿, 宾丽英, 黄绍松, 付丰连, 邱兵 (3031)
限量曝气进水时间对硝化颗粒污泥的影响特性研究	刘文如, 阴芳芳, 王建芳, 沈耀良 (3038)
UASBB 厌氧氨氧化反应器处理污泥脱水液的影响因素研究	李亚峰, 马晨曦, 张驰 (3044)
开封周边地区地表灰尘中汞背景值及其应用	陈彦芳, 马建华, 董运武, 刘德新, 陈星 (3052)
北京市幼儿园地面尘中有毒金属浓度及其健康风险	段恒轶, 吴亚涛, 王珏, 刘兆荣 (3060)
珠三角电子垃圾和城市地区家庭灰尘中多氯联苯的来源及暴露风险	朱智成, 陈社军, 丁南, 王璟, 罗孝俊, 麦碧娴 (3066)
温带典型草原土壤总有机碳及溶解性有机碳对模拟氮沉降的响应	齐玉春, 彭琴, 董云社, 肖胜生, 孙良杰, 刘欣超, 何亚婷, 贾军强, 曹丛丛 (3073)
不同肥料种类对稻田红壤碳氮淋失的影响	刘希玉, 邹敬东, 徐丽丽, 张心昱, 杨风亭, 戴晓琴, 王忠强, 孙晓敏 (3083)
低分子有机酸对土壤中 Cu 化学形态的影响	黄国勇, 付庆灵, 朱俊, 万田英, 胡红青 (3091)
EDTA 与柠檬酸复配洗涤修复多重金属污染土壤效果研究	尹雪, 陈家军, 蔡文敏 (3096)
不同生态系统土壤生化特征及其与土壤呼吸和 N ₂ O 排放的关系	陈玲, 范会, 蒋静艳 (3102)
黄河口不同恢复阶段湿地土壤 N ₂ O 产生的不同过程及贡献	孙文广, 孙志高, 甘卓亭, 孙万龙, 王伟 (3110)
猪粪化肥配施对双季稻田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放及其全球增温潜势的影响	王聪, 沈健林, 郑亮, 刘杰云, 秦红灵, 李勇, 吴金水 (3120)
我国北方两地环境臭氧浓度对矮菜豆生长的影响	袁相洋, 张巍巍, 孙敬松, 胡恩柱, 张玉龙, 张红星, 田媛, 冯兆忠 (3128)
丛枝菌根影响纳米 ZnO 对玉米的生物效应	王卫中, 王发园, 李帅, 刘雪琴 (3135)
丛枝菌根对翅荚木生长及吸收累积重金属的影响	李霞, 彭霞薇, 伍松林, 李志茹, 冯红梅, 江泽平 (3142)
含磷物质对水稻吸收土壤砷的影响	雷鸣, 曾敏, 廖柏寒, 胡立琼, 周航, 龙水波 (3149)
重金属铬(VI)的生态毒性及其土壤环境基准	王晓南, 刘征涛, 王婉华, 张聪, 陈丽红 (3155)
维生素 B ₁₂ 对脱氮功能蓝藻降解 2,4,4'-三氯联苯的促进作用研究	刘嘉裕, 肖文丰, 鲁莉萍, 张杭君 (3162)
己烯雌酚降解菌株沙雷氏菌的分离鉴定及其降解特性	徐冉芳, 孙敏霞, 刘娟, 汪泓, 李欣, 朱雪竹, 凌婉婷 (3169)
多溴联苯醚在市場鲫鱼体内分布和食鱼暴露量	王俊霞, 王春艳, 刘莉莉, 周啸宇, 刘洋成, 林匡飞 (3175)
稀有鮐鲫 HMGR 基因全长克隆及雌鱼经五氯酚暴露基因表达的分析	邓川, 毛思予, 熊力, 张晓峰, 李伟, 高香, 刘秋萍, 陈韵, 刘堰 (3183)
藻细胞和高岭土的存在对病毒 MS2 存活的影响	何强, 吴庆庆, 马红芳, 周真明, 苑宝玲 (3192)
多胺功能化介孔炭对 Pb(II) 的吸附动力学与机制	李坤权, 王艳锦, 杨美蓉, 朱志强, 郑正 (3198)
生物活性炭投加量对垃圾渗滤液处理效果的影响	崔延瑞, 郭焱, 吴青, 马罗丹, 孙剑辉, 崔凤灵 (3206)
经济结构调整的污染减排效应: 以 COD 减排为例	李名升, 周磊, 陈远航, 李茜, 张建辉 (3212)
中国铅流改变原因分析	马兰, 毛建素 (3219)
放牧阉牦牛提前出栏甲烷排放强度减排潜力探讨	汪诗平, Andreas Wilkes, 汪亚运, 白玲 (3225)
中国水体硝酸盐氮氧双稳定同位素溯源研究进展	徐志伟, 张心昱, 于贵瑞, 孙晓敏, 温学发 (3230)
《环境科学》征稿简则 (2936) 《环境科学》征订启事 (3051) 信息 (2882, 2927, 3059, 3218)	

维生素 B₁₂ 对脱氯功能蓝藻降解 2,4,4'-三氯联苯的促进作用研究

刘嘉裕, 肖文丰, 鲁莉萍, 张杭君*

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036)

摘要: 多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCBs) 是环境中典型的持久性氯代有机污染物。PCBs 污染的生物修复问题是当前环境科学领域的热点。以维生素 B₁₂ (VB₁₂) 为实验材料, 应用无氯培养体系, 研究了 VB₁₂ 对脱氯功能蓝藻 *Nostoc* PD-2 脱氯降解 2,4,4'-三氯联苯 (PCB28) 和降解过程基因表达的影响。结果表明, 添加不同浓度的 VB₁₂ 能够促进 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解, 添加浓度分别为 10、100 和 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的维生素 B₁₂ 时, 与未添加 VB₁₂ 组相比, 其 7 d 脱氯百分比分别提高了 11.0%、19.7% 和 21.9%; 添加 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下, PCB28 的降解半衰期从 5.53 d 缩短至 3.08 d。添加维生素 B₁₂ 后, 细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因和双加氧酶基因的表达量均与 PCB28 的降解效果呈现显著相关性, 铁硫蛋白基因表达量与 PCB28 降解效果的相关性更高。上述结果表明添加 VB₁₂ 能够有效促进脱氯功能藻种 PD-2 对 PCB28 的降解, 并在基因水平上影响功能藻种的降解活性, 这能够为开发高效生物降解 PCBs 的技术和脱氯功能藻种降解 PCBs 的机制提供科学依据。

关键词: 多氯联苯; 脱氯; 生物修复; 维生素 B₁₂; *Nostoc* PD-2

中图分类号: X131; X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)08-3162-07 DOI: 10.13227/j.hjkk.2014.08.046

Promotion Effects of Vitamin B₁₂ on the Degradation of 2, 4, 4'-Trichlorobiphenyl by *Nostoc* PD-2

LIU Jia-yu, XIAO Wen-feng, LU Li-ping, ZHANG Hang-jun

(College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Polychlorinated biphenyls are typical persistent chlorinated organic compounds in the environment. Bioremediation of PCB-contaminated environment has become one of the hot issues. In this study, vitamin B₁₂ (VB₁₂) and chlorine-free culture medium were applied to study the effects of VB₁₂ on the degradation of 2,4,4'-trichlorobiphenyl (PCB28) by *Nostoc* PD-2 and the gene expression during the PCB-degradation process. Results showed that addition of different concentrations of vitamin B₁₂ could improve the PCB-biodegradation rates by *Nostoc* PD-2. Compared with the control group, the 7-day degradation rate in 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ VB₁₂-treated groups increased by 11.0%, 19.7%, and 21.9%, respectively. The degradation half-time decreased from 5.53 days (treated with 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ VB₁₂) to 3.08 days (treated with 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ VB₁₂). The expression of cytochrome b₆f complex iron-sulfur protein gene and dioxygenase gene showed significant correlation with PCB28-degradation by *Nostoc* PD-2. While the expression of iron-sulfur protein gene showed more significant correlation with PCB28-degradation. Results in this study indicated that adding VB₁₂ could promote PCB28-degradation by *Nostoc* PD-2. Moreover, VB₁₂ addition improved the PCB-degradation activity of *Nostoc* PD-2 at the gene level. The above conclusions could provide a new choice for developing efficient bioremediation technology for PCB-contaminated environment and a new insight into the PCB-biodegradation mechanism by *Nostoc* PD-2.

Key words: polychlorinated biphenyls; dechlorination; bioremediation; vitamin B₁₂; *Nostoc* PD-2

多氯联苯 (PCBs) 是首批被列入《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》的 12 种持久性有机污染物之一。虽然 PCBs 的生产和使用已于 1979 年被禁止, 但是由于其半衰期在 40 年左右, 具有显著环境持久性, 并且 PCBs 的半挥发性也使其随大气干湿沉降在世界范围内迁移并最终沉积到地表。因此, 在全球污染性和非污染性土壤中普遍检出 PCBs 的存在^[1]。研究者对我国浙南台州 PCBs 污染区水稻土中的检测发现, 水稻土中 PCBs 总量为 260 ~ 930 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[2], 长江三角洲苏南地区

水稻田土中 PCBs 含量达 1 636.8 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[3], 贵州红枫湖周边水稻土中的 PCBs 总量为 8.9 ~ 55.9 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, 以 PCB28 和 PCB52 为代表的低氯代 PCBs 占总量的 89%^[4]。PCBs 具有明显的“三致”效

收稿日期: 2013-11-27; 修订日期: 2014-02-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21077030); 杭州师范大学优秀青年教师支持计划项目 (JTAS2011-01-012); 杭州市“131”人才计划支持项目; 杭州师范大学学生科研立项项目 (1283XXM09); 杭州师范大学本科生创新提升工程立项项目 (CX2013078)

作者简介: 刘嘉裕 (1993 ~), 男, 主要研究方向为污染生态修复, E-mail: 2320098048@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: zhanghangjun@gmail.com

应^[5]和较强的脂溶性,能够沿着食物链在生物体中富集积累,对生物体构成危害.环境中残留 PCBs 对其污染区域的人群健康存在严重的潜在风险.因此,PCBs 污染环境的修复问题已经成为国内外研究的热点之一.

目前,PCBs 污染修复的主要方法有物理化学方法^[6]和生物修复方法^[7].其中,生物修复方法具有效果持久、成本低、不会造成二次污染等优势,已成为 PCBs 污染修复的主流方法和发展趋势.1973 年 Ahmed 等^[8]首次报道两株无色杆菌 *Achvornobacter* 能够降解 PCBs,随后不断有 PCBs 降解功能细菌和真菌等见诸报道^[9~12].在此基础上,研究者进一步探索降解功能微生物高效降解 PCBs 等氯代芳香污染物的方法^[13].其中,有较多研究报道了添加电子供体能够有效促进降解包括 PCBs 在内的有机氯代污染物^[14~16].Fava 等^[17]发现以碳酸氢钠和硫化钠作为电子供体,能够有效促进威尼斯湖沉积物中的微生物对商业 PCBs 混标 Aroclor 1242 和 1254 的降解.

维生素 B₁₂属于 B 族维生素,是一类含钴化合物^[18].Croft 等^[19]对 326 种藻类的研究发现外加维生素 B₁₂对 171 种藻的生长和代谢有促进作用.另

一方面,Assaf-Anid 等^[20]报道维生素 B₁₂能够促进 PCBs 同系物及六氯苯的生物脱氯作用.由此,本研究探讨维生素 B12 能否促进脱氯功能藻种降解 PCBs.前期研究发现,分离自 PCBs 污染水稻土的脱氯功能蓝藻 *Nostoc* PD-2 能够有效降解 PCBs,其对 PCB28 的 7 d 降解效率为 64.7%.本研究以环境中典型的 PCB28 为目标污染物,通过向无氯培养体系添加外源物质维生素 B₁₂,研究维生素 B₁₂对脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解影响和降解过程的基因表达,以期开发脱氯功能蓝藻高效降解 PCBs 的新技术和探明功能藻种降解 PCBs 的分子机制提供重要科学依据.

1 材料与方法

1.1 供试蓝藻

前期研究中,从浙南 PCBs 污染水稻土中分离筛选获得 1 株念珠藻 *Nostoc* PD-2,该藻种可脱氯降解 PCBs.对传统的 BG11 培养基配方^[21]进行修正,采用无氯 BG11 培养基对藻种 *Nostoc* PD-2 进行培养,BG11 无氯培养基组成见表 1.念珠藻 PD-2 的常规培养条件为:温度 (25 ± 2)℃,光照度 998 lx,光暗比为 12 h:12 h,置于光照培养箱中培养.

表 1 BG11 无氯培养基组成成分

Table 1 Compositions of BG11 chlorine-free medium

组成物质	浓度/g·L ⁻¹	组成物质	浓度/g·L ⁻¹
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075	NaNO ₃	1.5
Citric acid	0.006	Ferrie ammonia citrate	0.006
Na-EDTA	0.001	Na ₂ CO ₃	0.02
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.04		

1.2 主要试剂

2,4,4'-trichlorobiphenyl (PCB28)购自百灵威公司,为色谱纯;TRIzol Reagent 和 RNase-Free DNase I (Qiagen)、1st-Strand cDNA Synthesis Kit, Power SYBR® Master Mix (Invitrogen)均购自杭州浩基公司;维生素 B₁₂、高氯酸、氯化钾、无水乙醇、硫酸铁铵等常规试剂均购自国药集团化学试剂有限公

司,均为分析纯.

1.3 引物

根据 GenBank 登录序列,用 Primer Premier 6.0 和 Beacon designer 7.8 软件设计定量 PCR 的引物,预期扩增长度和溶解温度,见表 2.引物合成由上海生工生物工程技术有限公司完成.

表 2 本研究中 RT-PCR 引物序列和条件

Table 2 Real-time PCR primers and conditions in this study

基因名称	基因序列号	引物序列(5'→3')	扩增长度/bp	溶解温度/℃
Ana dioxygenase gene ¹⁾	—	GCCCCAAATCAGAACTACCA CCATCACC GGGAATAACCAA	89	63
Ana iron-sulfurS gene	NC_007413	TTAAATGCCCTTGCCACGGTTCTC AGCGTGACTCAAAGCCAGAGACTT	89	62
Ana 16S(内参)	EU599109	GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA CGTCCTCAGTGTCACTTGC	84	63

1) 双加氧酶基因的引物根据文献[22]进行设计

1.4 实验方法

1.4.1 不同剂量维生素 B₁₂ 对降解影响的 PCB28 暴露方法

选用指数生长期的脱氯功能藻种(680 nm 波长下藻液吸光度为 0.38), 吸取 20 mL 蓝藻无氯培养物至 50 mL 洁净的锥形瓶中. 向锥形瓶中加入 100 mg·L⁻¹ 的 PCB28-甲醇工作液 400 μL, 使降解反应体系中的 PCB28 终浓度为 2 mg·L⁻¹. 设置不添加 PCB28 的空白对照组. 向上述空白对照组外的实验组中添加 VB₁₂, 调整反应体系中的 VB₁₂ 终浓度分别至 10、100 和 1 000 μg·L⁻¹, 设置不添加 VB₁₂ 的实验组, 并对不同情形均设置 3 个平行样. 置于 25℃, 998 lx, 光暗比 12 h: 12 h 的光照培养箱中静置培养 7 d, 待测.

1.4.2 维生素 B₁₂ 影响功能藻种降解 PCB28 动力学过程的暴露方法

选用指数生长期的脱氯功能藻种(680nm 波长下藻液吸光度为 0.38), 吸取 20 mL 蓝藻无氯培养物至 50 mL 洁净的锥形瓶中. 向锥形瓶中加入 100 mg·L⁻¹ 的 PCB28-甲醇工作液 400 μL, 使降解反应体系中的 PCB28 终浓度为 2 mg·L⁻¹. 设置不添加 PCB28 的空白对照组. 向上述空白对照组外的实验组中添加 VB₁₂, 调整反应体系中的 VB₁₂ 终浓度分别至 10 μg·L⁻¹ 和 100 μg·L⁻¹. 分别于 0.5、1、1.5、3、4.5、6 d 进行取样检测. 每个 VB₁₂ 浓度下的每个取样点均设置 3 个平行样. 降解反应体系置于 25℃, 998 lx, 光暗比 12 h: 12 h 的光照培养箱中静置培养.

1.4.3 脱氯效果的分析方法

取 5 mL 上清液测定氯离子含量. 吸取上清液补充去离子水至 10 mL, 再依次加入 2 mL 的硫酸铁铵溶液(60 g·L⁻¹)、1 mL 的硫氰酸汞-乙醇溶液(4.0 g·L⁻¹), 混匀, 室温下显色 20 min 后于波长 460 nm 处测量吸光度. 将测定的吸光度值代入氯化物标准曲线, 可算得降解反应体系中的氯离子含量. 氯离子含量与 PCB28 质量的换算公式如式(1)所示.

$$m_{(\text{PCB28})} = \frac{257.5m_{(\text{Cl})}}{106.5} \quad (1)$$

式中, $m_{(\text{PCB28})}$ 为脱氯功能藻种所降解的 PCB28 的质量(μg); $m_{(\text{Cl})}$ 为 PCB28 分子脱下的氯离子的质量(μg); 106.5 为一个 PCB28 分子中氯的相对原子量; 257.5 为一个 PCB28 分子的相对分子质量.

脱氯功能念珠藻 *Nostoc* PD-2 降解 PCB28 的过程用一级反应动力学方程描述, 半衰期计算公式如下:

$$c_t = c_0 e^{-kt} \quad (2)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

式中, c_t 为 t 时刻培养基中多氯联苯的残留浓度(mg·L⁻¹); c_0 为多氯联苯的初始浓度(mg·L⁻¹); k 为降解速率常数(d⁻¹); t 为降解时间(d); $t_{1/2}$ 为多氯联苯降解 50% 所需要的时间(d).

1.4.4 维生素 B₁₂ 对 PCB28 降解过程基因表达影响的分析方法

采用 TRIzol 法抽提 10 μg·L⁻¹ 和 100 μg·L⁻¹ 的 VB₁₂ 添加后 PCB28 暴露不同天数后的藻种 PD-2^[19] 细胞中的总 RNA. 用液氮充分研磨藻样, 取 50 ~ 80 mg 粉末加入 1 mL TRIzol, 剧烈振荡, 然后加入 0.2 mL 氯仿; 盖上离心管盖子, 剧烈地振荡 15 s, 室温放置 5 min. 室温下, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min; 转移不多于 80.0% 上层水相至新的离心管中, 加入等体积的异丙醇, 上下充分混匀, 冰上放置 10 min, 4℃, 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 弃去上清; 加入 1 mL 预冷的 75% 乙醇, 上下混匀, 4℃, 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 弃去上清, 空气干燥; 加入 30 ~ 50 μL RNase-Free Water, 充分溶解后, 加入 DNase I 进行消化, 去除基因组 DNA 污染, 分光光度计测定含量和纯度. 按照一步法 cDNA 合成试剂盒操作步骤合成 cDNA. 取逆转录反应产物 1 μL 作为模板, 扩增目的基因片段和内参 16S rRNA. PCR 反应条件为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 10 s, 40 个循环; 62℃ 退火 25 s. 扩增产物在 1% (质量浓度) 琼脂糖凝胶中电泳, 在凝胶成像系统中分析. 每个样品重复 3 次, 各个基因的相对表达水平计算公式如下式所示:

$$\text{基因相对表达量} = 2^{(C_t^{\text{内参基因}} - C_t^{\text{目的基因}})} \quad (4)$$

式中, $C_t^{\text{内参基因}}$ 为内参基因的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数; $C_t^{\text{目的基因}}$ 为目的基因的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数.

1.5 数据分析

采用 OriginPro 8.0 分析软件进行统计. 组间差异用 One-way ANOVA 分析, $P < 0.05$ 被认为有显著性差异, $P < 0.01$ 被认为有极显著性差异. 相关性用 SPSS 19.0 分析, $R > 0.8$ 被认为是相关性显著, $R < 0.8$ 则被认为相关性不显著.

2 结果与分析

2.1 不同浓度维生素 B₁₂ 对 *Nostoc* PD-2 降解 PCB28 效率的影响

图 1 表示在培养基中添加维生素 B₁₂ 后藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的 7 d 降解效应. 从中可知,

与未添加 VB₁₂组相比,加入维生素 B₁₂后 PCBs 的脱氯百分比明显增加. 随着维生素 B₁₂浓度的增加, PCB28 的降解百分比由 64.7% 增大到 79.6%.

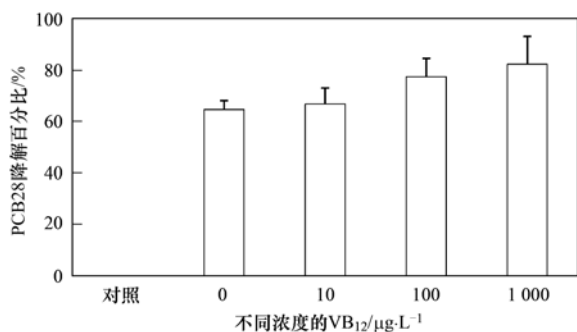


图1 维生素 B₁₂对脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 降解 PCB28 的影响

Fig. 1 Effects of vitamin B₁₂ on PCB28 degradation by dechlorination functional *Nostoc* PD-2

2.2 维生素 B₁₂对 PCB28 脱氯影响的动力学过程

图2显示了脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 降解动力学过程的影响. 从中可知,添加浓度为 100 μg·L⁻¹ 的维生素 B₁₂明显比所加浓度为 10 μg·L⁻¹ 的降解效果好,且随着暴露时间的增加, PCB28 的降解效率均显著增加,7 d 后 PCB28 的降解百分比分别为 66.8%、75.3%.

不同浓度维生素 B₁₂存在条件下脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 降解 PCB28 反应过程可用一级反应动力学方程描述. 对于浓度分别为 10 μg·L⁻¹ 和 100 μg·L⁻¹ 的维生素 B₁₂的两个降解组,其降解反应动力学方程分别为: $c = 1.8795 \times e^{-0.1253t}$ ($R^2 = 0.9605$) 和 $c = 1.7457 \times e^{-0.2254t}$ ($R^2 = 0.9148$). 根据两者的降解动力学曲线计算可得,维生素 B₁₂浓度为 10 μg·L⁻¹ 和 100 μg·L⁻¹ 条件下念珠藻 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解半衰期分别为 5.53 d 和

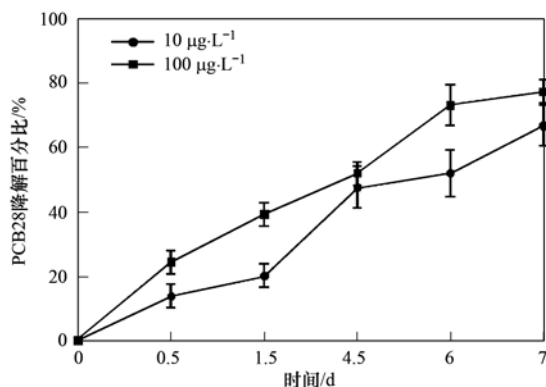


图2 维生素 B₁₂对 PCB28 降解动力学过程的影响

Fig. 2 Effects of vitamin B₁₂ on PCB28-degradation kinetics

3.08 d.

2.3 维生素 B₁₂对细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因表达的影响

图3显示了脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因相对表达量随时间的变化情况. 从中可知,添加浓度为 100 μg·L⁻¹ 的维生素 B₁₂明显比所加浓度为 10 μg·L⁻¹ 时更能促进细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因的表达,且随着暴露时间的增加,细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因相对表达量均显著增加,7 d 后细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因相对表达量分别为初始量的 12.9、31.2 倍.

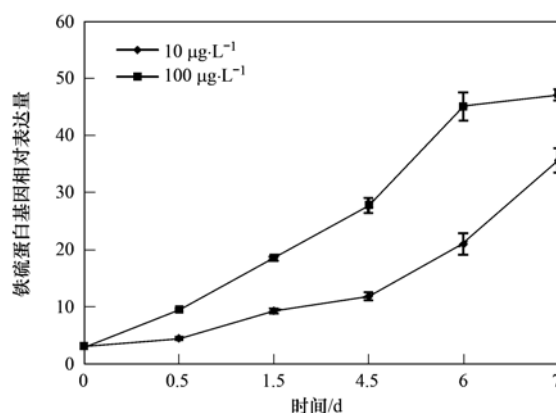


图3 维生素 B₁₂对细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因表达水平的影响

Fig. 3 Effects of vitamin B₁₂ on cytochrome b₆f complex Fe-S protein gene expression

2.4 维生素 B₁₂对双加氧酶的基因表达影响

图4显示了脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 双加氧酶基因相对表达量随时间的变化情况. 从中可知,添加浓度为 100 μg·L⁻¹ 的维生素 B₁₂明显比所加浓度为 10 μg·L⁻¹ 时更能促进双加氧酶基因的表达,

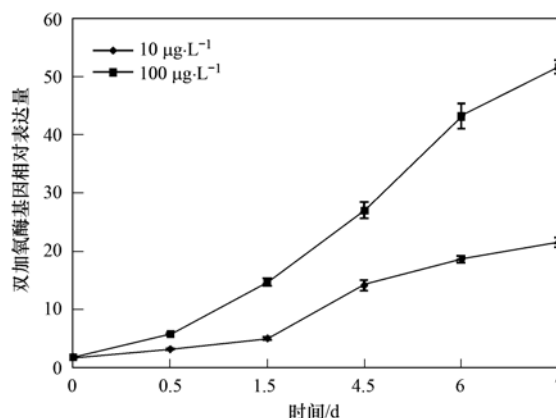


图4 维生素 B₁₂对双加氧酶基因表达水平的影响

Fig. 4 Effects of vitamin B₁₂ on dioxygenase gene expression

且随着暴露时间的增加,双加氧酶基因相对表达量均显著增加,7 d 后双加氧酶基因相对表达量分别为初始量的 11.8、15.3 倍。

2.5 基因表达水平和 PCB28 降解相关性结果

不同浓度 VB₁₂ 添加后,铁硫蛋白基因,双加氧酶基因表达水平和脱氯功能藻种对 PCB28 的降解百分比之间的相关性见表 3。从中可明显看出,两种浓度 VB₁₂ 存在条件下,铁硫蛋白基因相对表达量和 PCB28 降解效果之间的相关性均高于双加氧酶基因和 PCB28 降解之间的相关性。

表 3 VB₁₂ 添加后基因表达水平与 PCB28 降解百分比的相关性

Table 3 Correlation between gene expression level and PCB28 degradation rate

VB ₁₂ 浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	铁硫蛋白基因相对表达量 $R_1 (n=18)$	双加氧酶基因相对表达量 $R_2 (n=18)$
10	0.882	0.849
100	0.965	0.941

3 讨论

脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解效果明显。表 4 列出了本研究中脱氯功能藻种对 PCB28 的降解效果和其他 PCBs 降解微生物对 PCB28 的降解效果对比信息。表 4 文献中所用的

表 4 不同 PCBs 降解微生物对 PCB28 降解效果的比较

Table 4 Comparison of degradation rate of PCB28 by different PCB-degraders

降解功能微生物	PCBs 含量	PCB28 降解百分比/%	降解时间/d	文献
<i>Nostoc</i> PD-2	$2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	64.7	7	本研究
土壤细菌群落	$60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	53.0	28	[23]
PCBs 污染区土著微生物	$187.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	14.0	14	[24]
<i>Stenotrophomonas</i> sp. JSG1	$5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	50.3	7	[25]
<i>Hydrogenophaga taeniospiralis</i> IA3-A	$10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	58.0	2	[26]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> strains F113L::1180	$5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0	— ¹⁾	[27]

1) 文献中未给出相关数据

为进一步探究 VB₁₂ 促脱氯功能藻种 PD-2 降解 PCB28 的机制,笔者对降解过程中功能藻种细胞内的细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因和双加氧酶基因表达情况进行了分析。结果显示,添加 VB₁₂,上述两种基因的表达量均有明显上调,并且呈现时间-效应关系。研究发现,维生素 B₁₂ 能够作为电子传递介质促进环境中残留 PCBs 的降解^[28]。Molde 等^[29]在对 PCBs 同类物和六氯苯的降解研究时也得到了类似的实验结果。此外,有研究者发现 VB₁₂ 是一类微生物促生长因子,它能够作为辅酶或酶的辅基影响微生物的生长、代谢、繁殖和活力^[30]。因此,笔者认为添加 VB₁₂ 后,脱氯功能藻种 PD-2 对 PCB28 降解反应所需的电子供应量得到了充足保证。另外,

PCBs 为各 PCBs 单标的混合物(即 PCBs 混标),PCB28 在 PCBs 混标中所占的比例很低。如文献[26]中 PCB28 在 PCBs 商业混标 Aroclor 1221 中的质量分数仅为 0.61%,故而该研究中实际所降解的 PCB28 的量比脱氯功能藻种所降解的 PCB28 的量少。由此可知,本研究中所用的脱氯功能蓝藻对 PCB28 的降解效果优于其他 PCBs 降解功能微生物。此外,与土壤中土著 PCBs 降解微生物群落^[24,25]相比,*Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解具有降解半衰期短、降解效率高等特点。在此基础上,笔者添加维生素 B₁₂ 能够明显促进脱氯功能藻种 PD-2 对 PCB28 的降解作用(图 1)。添加不同浓度(10、100 和 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 的维生素 B₁₂ 条件下暴露 7d,脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解百分比,分别提高 11.0%、19.7% 和 21.9%。向 PCB28 降解反应体系添加 VB₁₂ 可进一步促进功能藻种 PD-2 对 PCB28 的降解作用。因此,笔者认为脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 有望作为先锋物种应用于 PCBs 污染水稻土的原位生物修复,而添加 VB₁₂ 则可能成为促脱氯功能藻种降解 PCBs 的新技术,这对于降低 PCBs 的生态风险具有重要现实意义。

VB₁₂ 可能还起到了维持 PCB28 胁迫下的脱氯功能藻种细胞的正常生长和生命活动,这为功能藻种实现对 PCB28 的降解提供了必要条件。

VB₁₂ 作为电子传递介质投加至脱氯功能藻种降解 PCB28 的体系中,势必会影响藻细胞内执行电子传递功能蛋白和基因。细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白位于蓝藻的类囊体膜上,在光合作用电子传输链过程中占据重要位置^[31]。有实验表明细胞色素 b₆f 复合体会调节 LHCH 的磷酸化氧化还原状态^[32,33]。另外,蓝藻的类囊体直接悬浮于细胞质中,这就使得外加的电子传递介质能够和细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白一起,既参与光合作用的电子传递,又参与呼吸作用的电子传递^[34,35]。本研究中,维生素 B₁₂ 作

为一种常见的电子传递介质添加到念珠藻 *Nostoc* PD-2 的无氯培养体系中,很可能参与到藻胆体蛋白磷酸化调节机制中,从而促进功能藻种的光合作用,提高产能效率,促进 PCB28 脱氯降解反应的正向进行. 图 3 中,两个浓度下细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因相对表达量一直在呈倍数增长,其中 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下 PCB28 暴露 7 d 后的细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因表达与对照组相比上调了 11.8 倍,100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下 PCBs 暴露 7 d 后上调了 15.7 倍. 由该实验结果,笔者推测添加 VB₁₂ 的条件下,脱氯功能藻种上调表达铁硫蛋白基因,进而促进铁硫蛋白的表达,一方面使得藻细胞产能提高,另一方面,使得藻细胞中的 PCBs 降解反应和光合呼吸作用的电子传递加速发生. 从而实现对 PCB28 的高效快速降解.

此外,有研究报道是降功能微生物所表达的双加氧酶,也能够使微生物实现对 PCBs 的降解^[36,37]. 本研究中,添加不同浓度的 VB₁₂ 时,脱氯功能藻种细胞内双加氧酶的基因相对表达量一直在呈现出明显的增长趋势(图 4). 其中 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下 PCB28 暴露 7 d 后的双加氧酶基因表达与对照组相比分别上调了 12.9 倍,100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下 PCB28 暴露 7 d 后上调至对照组中该基因表达量的 31.2 倍,上调倍数是 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 维生素 B₁₂ 条件下的 2.4 倍. 从表 3 的相关系数分析结果可明显看出,功能藻种 PD-2 降解 PCB28 的效果与双加氧酶基因的表达呈现显著相关性. 因此,笔者推测双加氧酶基因很可能与细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白共同参与了脱氯功能藻种 PD-2 降解 PCB28 的过程,其在降解过程中扮演的具体角色有待进一步研究.

综上所述,笔者对 VB₁₂ 添加时,脱氯功能藻种 PD-2 对 PCB28 降解的机制进行了假设,结果见图 5. 笔者认为 VB₁₂ 存在下,脱氯功能藻种的细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因发生上调表达,其所编码的

细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白表达量上升,使得功能藻种的光合作用得到增强,进而为 PCB28 的降解这一耗能过程提供更多的能量. 此外,VB₁₂ 还可为 PCB28 发生降解的氧化还原反应提供大量电子,促进反应正向进行. 双加氧酶基因的上调则可能引起双加氧酶的表达量增加,从而起到辅助 PCB28 降解的作用.

4 结论

(1) 添加不同浓度电子供体维生素 B₁₂ 能够有效促进脱氯功能蓝藻 *Nostoc* PD-2 降解多氯联苯, 10、100 和 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 这 3 个维生素 B₁₂ 浓度下暴露 7 d,脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 对 PCB28 的降解百分比,分别提高 11.0%、19.7% 和 21.9%.

(2) 动力学结果显示添加电子供体维生素 B₁₂ 能够有效促进脱氯功能蓝藻 *Nostoc* PD-2 降解多氯联苯,对于起始浓度均为 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 多氯联苯,9 d 后降解率最高为 71.1% 和 83.8%. 其降解反应符合一级动力学过程,其降解半衰期分别为 5.53 d 和 3.08 d.

(3) 添加不同浓度的维生素 B₁₂ 能够有效促进脱氯功能藻种 *Nostoc* PD-2 中细胞色素 b₆f 复合体铁硫蛋白基因和双加氧酶基因的表达,并且铁硫蛋白基因的表达量与 PCB28 降解的相关性更高,该基因可能是 VB₁₂ 存在时,脱氯功能藻种的降解关键基因.

参考文献:

- [1] Moeckel C, Nizzetto L, Di Guardo A, et al. Persistent organic pollutants in Boreal and Montane soil profiles: distribution, evidence of processes and implications for global cycling [J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(22): 8374-8380.
- [2] 毕新慧, 储少刚, 徐晓白. 多氯联苯在水稻田中的迁移行为 [J]. 环境科学学报, 2001, 21(4): 454-458.
- [3] 安琼, 董元华, 王辉, 等. 长江三角洲典型地区农田土壤中多氯联苯残留状况 [J]. 环境科学, 2006, 27(3): 528-532.
- [4] 魏中青, 刘丛强, 梁小兵, 等. 贵州红枫湖地区水稻土多氯联苯和有机氯农药的残留 [J]. 环境科学, 2007, 28(2): 255-260.
- [5] Zani C, Gelatti U, Donato F, et al. Polychlorinated biphenyls in serum, liver and adipose tissue of subjects with hepatocellular carcinoma living in a highly polluted area [J]. Chemosphere, 2013, 91(2): 194-199.
- [6] Seok J, Seok J, Hwang K Y. Thermo-chemical destruction of polychlorinated biphenyls (PCBs) in waste insulating oil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2005, 124(1-3): 133-138.
- [7] Field J A, Sierra-Alvarez R. Microbial transformation and

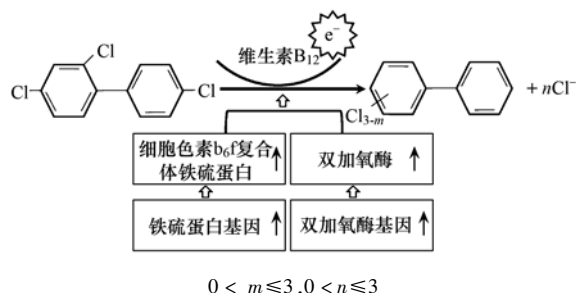


图 5 VB₁₂促进脱氯功能蓝藻 *Nostoc* PD-2 降解

PCB28 的假定过程

Fig. 5 Putative PCB28-degradation process facilitated by VB₁₂

- degradation of polychlorinated biphenyls [J]. Environmental Pollution, 2008, **155**(1): 1-12.
- [8] Ahmed M, Focht D D. Degradation of polychlorinated biphenyls by two species of *Achromobacter* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1973, **19**(1): 47-52.
- [9] Harkness M R, McDermott J B, Abramowicz D A, *et al.* In situ stimulation of aerobic PCB biodegradation in Hudson River sediments[J]. Science, 1993, **259**(5094): 503-507.
- [10] Rodrigues J L M, Kachel C A, Aiello M R, *et al.* Degradation of Aroclor 1242 dechlorination products in sediments by *Burkholderia xenovorans* LB400 (*ohb*) and *Rhodococcus* sp. strain RHA1 (*pcb*) [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(4): 2476-2482.
- [11] Tu C, Teng Y, Luo Y M, *et al.* Potential for biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Sinorhizobium meliloti* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, **186**(2-3): 1438-1444.
- [12] Cvancarova M, Kresinova Z, Filipova A, *et al.* Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products [J]. Chemosphere, 2012, **88**(11): 1317-1323.
- [13] Field J A, Stams A J M, Kato M, *et al.* Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1995, **67**(1): 47-77.
- [14] 万金泉, 胡梦蝶, 马邕文, 等. 不同电子供体下三氯苯酚的还原脱氯机制研究[J]. 环境科学, 2013, **34**(5): 1808-1814.
- [15] 李惠娣, 杨琦, 尚海涛. 不同基质作为电子供体时四氯乙烯的降解研究[J]. 安全与环境工程, 2006, **13**(4): 45-49.
- [16] Nies L, Vogel T M. Effects of organic substrates on dechlorination of Aroclor 1242 in anaerobic sediments [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, **56**(9): 2612-2617.
- [17] Fava F, Gentilucci S, Zanaroli G. Anaerobic biodegradation of weathered polychlorinated biphenyls (PCBs) in contaminated sediments of Porto Marghera (Venice Lagoon, Italy) [J]. Chemosphere, 2003, **53**(2): 101-109.
- [18] Rodionov D A, Vitreschak A G, Mironov A A, *et al.* Comparative genomics of the vitamin B₁₂ metabolism and regulation in prokaryotes [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, **278**(42): 41148-41159.
- [19] Croft M T, Lawrence A D, Raux-Deery E, *et al.* Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria [J]. Nature, 2005, **438**(7064): 90-93.
- [20] Assaf-Anid N, Nies L, Vogel T M. Reductive dechlorination of a polychlorinated biphenyl congener and hexachlorobenzene by vitamin B₁₂ [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, **58**(3): 1057-1060.
- [21] Rippka R, Deruelles J, Waterbury J B, *et al.* Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [J]. Journal of General Microbiology, 1979, **111**(1): 1-61.
- [22] Kaneko T, Nakamura Y, Wolk C P, *et al.* Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120 [J]. DNA Research, 2001, **8**(5): 205-213.
- [23] Correa P A, Lin L S, Just C L, *et al.* The effects of individual PCB congeners on the soil bacterial community structure and the abundance of biphenyl dioxygenase genes [J]. Environment International, 2010, **36**(8): 901-906.
- [24] Dercová K, Čičmanová J, Lovecká P, *et al.* Isolation and identification of PCB-degrading microorganisms from contaminated sediments [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, **62**(3): 219-225.
- [25] Ganesh-Kumar S, Kalimuthu K, Jebakumar S R. A novel bacterium that degrades Aroclor-1254 and its *bphc* gene encodes an extradiol aromatic ring cleavage dioxygenase (EARCD) [J]. Water Air and Soil Pollution, 2013, **224**(6): 1587.
- [26] Lambo A J, Patel T R. Isolation and characterization of a biphenyl-utilizing psychrotrophic bacterium, *Hydrogenophaga taeniospiralis* IA3-A, that cometabolize dichlorobiphenyls and polychlorinated biphenyl congeners in Aroclor 1221 [J]. Journal of Basic Microbiology, 2006, **46**(2): 94-107.
- [27] Rein A, Fernqvist M M, Mayer P, *et al.* Degradation of PCB congeners by bacterial strains [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **77**(2): 469-481.
- [28] Abramowicz D A. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation in the environment[J]. Environmental Health Perspectives, 1995, **103**(Suppl 5): 97-99.
- [29] Molde K, Ciesielski T M, Fisk A T, *et al.* Associations between vitamins A and E and legacy POP levels in highly contaminated Greenland sharks (*Somniosus microcephalus*) [J]. Science of the Total Environment, 2013, **442**: 445-454.
- [30] Woods S L, Trobaugh D J, Carter K J. Polychlorinated biphenyl reductive dechlorination by vitamin B₁₂s: Thermodynamics and regiospecificity [J]. Environmental Science & Technology, 1999, **33**(6): 857-863.
- [31] Anderson J M. Cytochrome b₆f complex: Dynamic molecular organization, function and acclimation [J]. Photosynthesis Research, 1992, **34**(3): 341-357.
- [32] Allen J F. Protein phosphorylation in regulation of photosynthesis [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1992, **1098**(3): 275-335.
- [33] Zhang H B, Xu D Q. Photosystem II protein phosphorylation and its physiological significance [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2003, **29**(6): 487-493.
- [34] Hirano M, Satoh K, Katoh S. Plastoquinone as a common link between photosynthesis and respiration in a blue-green alga [J]. Photosynthesis Research, 1980, **1**(3): 149-162.
- [35] Scherer S, Böger P. Respiration of blue-green algae in the light [J]. Archives of Microbiology, 1982, **132**(4): 329-332.
- [36] Kumamaru T, Suenaga H, Mitsuoka M, *et al.* Enhanced degradation of polychlorinated biphenyls by directed evolution of biphenyl dioxygenase [J]. Nature Biotechnology, 1998, **16**(7): 663-666.
- [37] Brühlmann F, Chen W. Tuning biphenyl dioxygenase for extended substrate specificity [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1999, **63**(5): 544-551.

CONTENTS

Chemical Characteristics in Airborne Particulate Matter (PM ₁₀) During a High Pollution Spring Dust Storm Episode in Beijing, Tianjin and Zhangjiakou, China	LIU Qing-yang, LIU Yan-ju, ZHAO Qiang, <i>et al.</i> (2843)
Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles During Haze Weather in Hangzhou	CHEN Qiu-fang, SUN Zai, XIE Xiao-fang (2851)
Effect of Meteorological Factors on Characteristics of PCDD/F Pollution in Guangzhou	DU Guo-yong, SU Yuan, REN Ming-zhong, <i>et al.</i> (2857)
Atmospheric CO ₂ Data Filtering Method and Characteristics of the Molar Fractions at the Longfengshan WMO/GAW Regional Station in China	LUAN Tian, ZHOU Ling-xi, FANG Shuang-xi, <i>et al.</i> (2864)
Influence of Atmospheric Transport on Air Pollutant Levels at a Mountain Background Site of East China	SU Bin-bin, XU Ju-yang, ZHANG Ruo-yu, <i>et al.</i> (2871)
Determining the Concentration of Coating Solution Attaching to Honeycomb Denuder in Summer in Tianjin	ZHANG Shi-jian, JI Ya-qin, ZHANG Lei-bo, <i>et al.</i> (2878)
Characterization of Lead Size Distributions with Different Process in Lead-Zinc Smelter	LIANG Jun-ning, LI Wen-hui, GE Yi, <i>et al.</i> (2883)
Effect of KI Modified Clay on Elemental Mercury Removal Efficiency	SHEN Bo-xiong, CHEN Jian-hong, CAI Ji, <i>et al.</i> (2890)
Characteristics of Odors and VOCs from Sludge Direct Drying Process	CHEN Wen-he, DENG Ming-jia, LUO Hui, <i>et al.</i> (2897)
Research of Early-warning Method for Regional Groundwater Pollution Based on Risk Management	BAI Li-ping, WANG Ye-yao, GUO Yong-li, <i>et al.</i> (2903)
Dynamic Response of Riverine Nitrate Flux to Net Anthropogenic Nitrogen Inputs in A Typical River in Zhejiang Province over the 1980-2010 Period	ZHANG Bai-fa, CHEN Ding-jiang (2911)
Research on the Influence of Urban Land Use Structure and Pattern on Nitrogen, Phosphorus of Wetland Water Environment in Xianlin New Town of Nanjing	CAI Chun-xiao, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i> (2920)
Profile Nutrient Distribution and Sedimentary Characteristics in Typical Marshes of Sanjiang Plain	LI Rui-li, CHAI Min-wei, QIU Guo-yu, <i>et al.</i> (2928)
Source and Contamination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soil in Karst Underground River Basin	LAN Jia-cheng, SUN Yu-chuan, SHI Yang, <i>et al.</i> (2937)
Diel Variations of Hydrochemistry and Influencing Factors in a Surface Stream in Subtropical Karst Area, SW China	ZHANG Tao, PU Jun-bing, YUAN Dao-xian, <i>et al.</i> (2944)
Hydrogen and Oxygen Isotopes of Lake Water and Geothermal Spring Water in Arid Area of South Tibet	XIAO Ke, SHEN Li-cheng, WANG Peng (2952)
Preliminary Research on the Feature of Dissolved Inorganic Carbon in Wulixia Reservoir in Summer, Guangxi, China	LIU Wen, PU Jun-bing, YU Shi, <i>et al.</i> (2959)
Distribution of Heavy Metals in Xiangsi River Valley of Tongling, China	CHEN Li-wei, XU Xiao-chun, WANG Jun, <i>et al.</i> (2967)
Volume Fraction of Gas Vesicle and Floating Characteristics of Cyanobacteria in Taihu Lake Under Different Pressures	WANG Wei, CONG Hai-bing, XU Ya-jun, <i>et al.</i> (2974)
Degradation of Dimethyl Phthalate by Ti(IV)-catalyzed O ₃ /H ₂ O ₂ Under Acidic Conditions	GAO Yan, SHEN Tong-dong, CHEN Yao, <i>et al.</i> (2980)
Influence of Inorganic Ions and Humic Acid on the Removal of Pb(II) and Hg(II) in Water by Zero-Valent Iron	SHI Qiu-ling, ZHOU Xin, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (2985)
Synthesis of Hydroxyapatite/Magnetite/Zeolite Composite for Congo Red Removal from Aqueous Solution	FANG Qiao, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (2992)
Corrosion of Stainless Steel 201, 304 and 316L in the Simulated Sewage Pipes Reactor	BAO Guo-dong, ZUO Jian-e, WANG Ya-jiao, <i>et al.</i> (3002)
Experimental Study of Adhesion Properties Between Membrane Surface and Humic Acid During Microfiltration	WANG Lei, WANG Lei, HUANG Dan-xi, <i>et al.</i> (3007)
Coating Modification of Anthracite Substrates in Vertical-flow Constructed Wetlands by LDHs Synthesized from Different Metal Compounds and the Nitrogen Removal Efficiencies	ZHANG Xiang-ling, GUO Lu, CHEN Jun-jie, <i>et al.</i> (3012)
Atrazine Wastewater Treatment in a SPC Membrane-Aerated Genetically Engineered Microorganism Biofilm Reactor	LIU Chun, GONG Peng-fei, XIAO Tai-min, <i>et al.</i> (3018)
Influencing Factors for Operational Performance of a Biofilm Reactor with Microbubble Aeration Using SPG Membrane	ZHANG Lei, ZHANG Ming, LIU Chun, <i>et al.</i> (3024)
Variations in the Active Characteristics of Sludge During the Operation of an Aerobic Membrane Bioreactor and Their Effects on Membrane Fouling	CHEN Xuan, TANG Bing, ZHANG Zi, <i>et al.</i> (3031)
Effects of Anaerobic Feeding Period on Nitrifying Granular	LIU Wen-ru, YIN Fang-fang, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (3038)
Influencing Factors of Sludge Liquor Treatment in UASBB	LI Ya-feng, MA Chen-xi, ZHANG Chi (3044)
Background Values of As and Hg in Surface Dusts in the Vicinity of Kaifeng City and Their Application	CHEN Yan-fang, MA Jian-hua, DONG Yun-wu, <i>et al.</i> (3052)
Concentrations and Health Risks of Toxic Metals in Surface Dust in Kindergartens of Beijing	DUAN Heng-yi, WU Ya-tao, WANG Jue, <i>et al.</i> (3060)
Polychlorinated Biphenyls in House Dust at an E-waste Site and Urban Site in the Pearl River Delta, Southern China; Sources and Human Exposure and Health Risks	ZHU Zhi-cheng, CHEN She-jun, DING Nan, <i>et al.</i> (3066)
Responses of Soil Total Organic Carbon and Dissolved Organic Carbon to Simulated Nitrogen Deposition in Temperate Typical Steppe in Inner Mongolia, China	QI Yu-chun, PENG Qin, DONG Yun-she, <i>et al.</i> (3073)
Effects of Different Fertilizer Species on Carbon and Nitrogen Leaching in a Reddish Paddy Soil	LIU Xi-yu, ZOU Jing-dong, XU Li-li, <i>et al.</i> (3083)
Effects of Low Molecular Weight Organic Acids on Speciation of Exogenous Cu in an Acid Soil	HUANG Guo-yong, FU Qing-ling, ZHU Jun, <i>et al.</i> (3091)
Evaluation of Compounding EDTA and Citric Acid on Remediation of Heavy Metals Contaminated Soil	YIN Xue, CHEN Jia-jun, CAI Wen-min (3096)
Soil Biochemical Characteristics in Different Ecological Systems and Their Relationships with Soil Respiration and N ₂ O Emission	CHEN Ling, FAN Hui, JIANG Jing-yang (3102)
Contribution of Different Processes in Wetland Soil N ₂ O Production in Different Restoration Phases of the Yellow River Estuary, China	SUN Wen-guang, SUN Zhi-gao, GAN Zhuo-ting, <i>et al.</i> (3110)
Effects of Combined Applications of Pig Manure and Chemical Fertilizers on CH ₄ and N ₂ O Emissions and Their Global Warming Potentials in Paddy Fields with Double-Rice Cropping	WANG Cong, SHEN Jian-lin, ZHENG Liang, <i>et al.</i> (3120)
Influence of Ozone on Snap Bean Under Ambient Air in Two Sites of Northern China	YUAN Xiang-yang, ZHANG Wei-wei, SUN Jing-song, <i>et al.</i> (3128)
Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Influences the Biological Effects of Nano-ZnO on Maize	WANG Wei-zhong, WANG Fa-yuan, LI Shuai, <i>et al.</i> (3135)
Effect of Arbuscular Mycorrhizae on Growth, Heavy Metal Uptake and Accumulation of <i>Zenia insignis</i> Chun Seedlings	LI Xia, PENG Xia-wei, WU Song-lin, <i>et al.</i> (3142)
Effects of Phosphorus-containing Substances on Arsenic Uptake by Rice	LEI Ming, ZENG min, LIAO Bo-han, <i>et al.</i> (3149)
Ecotoxicological Effect and Soil Environmental Criteria of the Heavy Metal Chromium(VI)	WANG Xiao-nan, LIU Zheng-tao, WANG Wan-hua, <i>et al.</i> (3155)
Promotion Effects of Vitamin B ₁₂ on the Degradation of 2,4,4'-Trichlorobiphenyl by <i>Nostoc</i> PD-2	LIU Jia-yu, XIAO Wen-feng, LU Li-ping, <i>et al.</i> (3162)
Isolation, Identification and Characterization of a Diethylstilbestrol-degrading Bacterial Strain <i>Serratia</i> sp.	XU Ran-fang, SUN Min-xia, LIU Juan, <i>et al.</i> (3169)
Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in Wild Crucian Carp and Exposure Estimation of Dietary Intake	WANG Jun-xia, WANG Chun-yan, LIU Li-li, <i>et al.</i> (3175)
Cloning of Full-length cDNA of HMGR from <i>Gobiocypris rarus</i> and Analysis of Its Expression Profiles in Male Exposed to Pentachlorophenol	DENG Chuan, MAO Si-yu, XIONG Li, <i>et al.</i> (3183)
Effects of Algae and Kaolinite Particles on the Survival of Bacteriophage MS2	HE Qiang, WU Qing-qing, MA Hong-fang, <i>et al.</i> (3192)
Adsorption Kinetics and Mechanism of Lead(II) on Polyamine-Functionalized Mesoporous Activated Carbon	LI Kun-quan, WANG Yan-jin, YANG Mei-rong, <i>et al.</i> (3198)
Influence of Biological Activated Carbon Dosage on Landfill Leachate Treatment	CUI Yan-rui, GUO Yan, WU Qing, <i>et al.</i> (3206)
Effect of Economic Structure Adjustment on Pollution Emission: A Case Study of COD	LI Ming-sheng, ZHOU Lei, CHEN Yuan-hang, <i>et al.</i> (3212)
Reasons for the Changes in Anthropogenic Lead Flows of China	MA Lan, MAO Jian-su (3219)
Discussion on Reduction Potential of CH ₄ Emission Intensity for Early Off-take Practice of Grazing Yak	WANG Shi-ping, Andreas Wilkes, WANG Ya-yun, <i>et al.</i> (3225)
Review of Dual Stable Isotope Technique for Nitrate Source Identification in Surface- and Groundwater in China	XU Zhi-wei, ZHANG Xin-yu, YU Gui-rui, <i>et al.</i> (3230)

《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8月15日 第35卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 8 Aug. 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