

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第4期

Vol.37 No.4

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2013年12月上海市重度污染期间细颗粒物化学特征与输送轨迹影响 周敏, 乔利平, 朱书慧, 李莉, 楼晟荣, 王红丽, 陶士康, 黄成, 陈长虹 (1179)

利用 SPAMS 研究华北乡村站点(曲周)夏季大气单颗粒物老化与混合状态 黄子龙, 曾立民, 董华斌, 李梅, 朱彤 (1188)

南京大气气溶胶混合态与云凝结核活化特征研究 朱麟, 马嫣, 郑军, 李时政, 王利朋 (1199)

北京地区不同天气条件下气溶胶数浓度粒径分布特征研究 苏捷, 赵普生, 陈一娜 (1208)

重庆市主城区 PM_{2.5}时空分布特征 刘永林, 孙启民, 钟明洋, 钟部卿, 雒昆利 (1219)

大气细颗粒物中有机碳和元素碳监测方法对比 庞博, 吉东生, 刘子锐, 朱彬, 王跃思 (1230)

深圳市大气中全氟化合物的残留特征 何鹏飞, 张鸿, 李静, 何龙, 罗骥, 刘国卿, 沈金灿, 杨波, 崔晓宇 (1240)

北京上甸子站大气 CO₂ 及 δ¹³C(CO₂) 本底变化 夏玲君, 周凌晔, 刘立新, 张根 (1248)

梅雨期大学宿舍室内生物气溶胶浓度及粒径分布 刘婷, 李露, 张家泉, 占长林, 刘红霞, 郑敬茹, 姚瑞珍, 曹军骥 (1256)

城市黑臭水体空气微生物污染及健康风险 刘建福, 陈敬雄, 辜时有 (1264)

北京市典型室内外灰尘中重金属的粒径和季节变异特征及人体暴露评估 曹治国, 余刚, 吕香英, 王梦蕾, 李琦路, 冯精兰, 闫广轩, 余浩, 孙剑辉 (1272)

西安市地表灰尘中多环芳烃分布特征与来源解析 王丽, 王利军, 史兴民, 卢新卫 (1279)

PDMS 基涂层活性炭对甲苯、苯和丙酮吸附研究 刘寒冰, 姜鑫, 王新, 杨兵, 薛南冬, 张石磊 (1287)

海南东北部滨海湿地沉积物微量元素分布特征、来源及污染评价 张卫坤, 甘华阳, 闭向阳, 王家生 (1295)

曹妃甸围填海土壤重金属积累的磁化率指示研究 薛勇, 周倩, 李远, 章海波, 胡雪峰, 骆永明 (1306)

滇南蒙自地区降水稳定同位素特征及其水汽来源 李广, 章新平, 许有鹏, 宋松, 王跃峰, 季晓敏, 项捷, 杨洁 (1313)

江苏省浅水湖泊表层沉积物重金属 GIS 空间分布及生态风险评价 李莹杰, 张列宇, 吴易雯, 李曹乐, 杨天学, 唐军 (1321)

城市景观水体甲基汞的形成机制及微宇宙模拟研究 刘小红, 司友斌, 郭子薇, 杜成竹, 朱聪聪 (1330)

我国北方温带水库——周村水库季节性热分层现象及其水质响应特性 曾明正, 黄廷林, 邱晓鹏, 王亚平, 史建超, 周石磊, 刘飞 (1337)

额尔齐斯河源区融雪期积雪与河流的水化学特征 韦虹, 吴锦奎, 沈永平, 张伟, 刘世伟, 周嘉欣 (1345)

太原汾河景区浮游植物群落结构及其与环境因子关系分析 冯佳, 郭宇宁, 王飞, 吕俊平, 刘琪, 谢树莲, 程革, 张建民 (1353)

铜陵市河流沉积物中硝化和反硝化微生物分布特征 程建华, 窦智勇, 孙庆业 (1362)

基流对亚热带农业流域氮素输出的贡献研究 马秋梅, 李玮, 王毅, 刘新亮, 李勇, 吴金水 (1371)

重庆南山表层岩溶泉与地下河三氮运移及氮通量估算 张远瞩, 贺秋芳, 蒋勇军, 李勇 (1379)

山美水库沉积物氮磷和有机质污染特征及评价 邱祖凯, 胡小贞, 姚程, 张文慧, 许秋瑾, 黄天寅 (1389)

伊乐藻-固定化脱氮微生物技术对入贡湖河道脱氮机制的影响 韩华杨, 李正魁, 王浩, 朱倩 (1397)

环太湖不同性质河流水体磷的时空分布特征 高永霞, 宋玉芝, 于江华, 朱广伟 (1404)

藻类与扰动共存下水体中不同形态磷的数量分布规律 陈俊, 李勇, 李大鹏, 黄勇, 朱培颖 (1413)

扰动对悬浮颗粒物粒径及上覆水中磷形态分布的影响 郭俊锐, 李大鹏, 刘焱见 (1422)

锆改性高岭土覆盖对底泥与上覆水之间磷迁移转化的影响 章喆, 林建伟, 詹艳慧, 王虹 (1427)

电化学还原-氧化工艺降解 4-氯酚的毒性研究 王岩, 施钦, 王辉, 卞兆勇 (1437)

水合氧化铝负载的磁性核/壳结构 Fe₃O₄@SiO₂ 纳米颗粒对水中磷的去除及再利用 赖立, 谢强, 方文侃, 邢明超, 吴德意 (1444)

多环芳烃及其衍生物在北京典型污水处理厂中的存在及去除 乔梦, 齐维晓, 赵旭, 刘会娟, 曲久辉 (1451)

污水处理厂污泥水溶性有机物的光谱特性分析 牛天浩, 周振, 胡大龙, 魏海娟, 李晶, 窦微笑, 葛红花 (1460)

高含氟的光伏废水反硝化可行性及经济性分析 李祥, 朱亮, 黄勇, 杨朋兵, 崔剑虹, 马航 (1467)

连续流反应器短程硝化的快速启动与维持机制 吴鹏, 张诗颖, 宋吟吟, 徐乐中, 沈耀良 (1472)

反硝化颗粒污泥在纳米零价铁胁迫下的性能恢复 王翻翻, 钱飞跃, 沈耀良, 王建芳, 张月茹, 刘郭洵 (1478)

低浓度环丙沙星对曝气生物滤池生物膜硝化过程及硝化微生物的作用影响 何势, 顾超超, 魏欣, 黄圣琳, 刘振鸿, 薛罡, 高品 (1485)

低碳源条件下改良双污泥系统脱氮除磷优化研究 杨伟强, 王冬波, 李小明, 杨麒, 徐秋翔, 张志贝, 李志军, 向海弘, 王亚利, 孙剑 (1492)

短期保护性耕作措施对大豆-冬小麦轮作系统温室气体排放的影响 谢燕, 陈曦, 胡正华, 陈书涛, 张寒, 凌慧, 申双和 (1499)

不同封育年限荒漠草原土壤呼吸日、季动态变化及其影响因子 崔海, 张亚红 (1507)

塔里木盆地南缘典型绿洲土壤有机碳、无机碳与环境因子的相关性 贡璐, 朱美玲, 刘曾媛, 张雪妮, 解丽娜 (1516)

小分子有机酸对紫色土及其溶液中 Pb 的赋存影响 刘江, 江韬, 黄容, 张进忠, 陈宏 (1523)

鸢尾对石油烃污染土壤的修复以及根系代谢分析 王亚男, 程立娟, 周启星 (1531)

水锰矿氧化水溶性硫化物过程及其影响因素 罗瑶, 李珊, 谭文峰, 刘凡, 蔡崇法, 邱国红 (1539)

高温纤维素降解菌群筛选及产酶特性 冯红梅, 秦永胜, 李筱帆, 周金星, 彭霞薇 (1546)

基于固相萃取及高效液相色谱-荧光检测分析的污泥中氟喹诺酮类抗生素研究方法的开发 戴晓虎, 薛勇刚, 刘华杰, 戴翎翎, 严寒, 李宁 (1553)

养殖场周边土壤-蔬菜系统磺胺类药物残留及风险评价 金彩霞, 司晓薇, 王子英, 张琴文 (1562)

4 种典型 PPCPs 对蚕豆和大蒜根尖细胞微核率的影响 王兰君, 王金凤, 朱鲁生, 王军, 赵祥 (1568)

新型污染物卤代吡啉的环境行为及生态毒理效应 林坤德, 陈艳秋, 袁东星 (1576)

水源地土壤环境保护优先区划分方法与实例研究 李蕾, 王铁宇, 王晓军, 肖荣波, 李奇峰, 彭驰, 韩存亮 (1584)

《环境科学》征订启事(1218) 《环境科学》征稿简则(1370) 信息(1352, 1412, 1498)

高温纤维素降解菌群筛选及产酶特性

冯红梅¹, 秦永胜², 李筱帆², 周金星³, 彭霞薇^{1*}

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 2. 北京林业工作总站, 北京 100029; 3. 北京林业大学水土保持学院, 北京 100083)

摘要: 从园林废弃物鸡粪混合堆肥的高温期堆肥样品中, 筛选出 6 株具有高效纤维素降解性的高温菌。通过 16S rRNA 基因序列比对和构建系统发育树分析, 初步鉴定这 6 种菌株为高温紫链霉菌 (*Streptomyces thermoiolaceus*)、嗜热淀粉酶链霉菌 (*S. thermodiastaticus*)、嗜热一氧化碳链霉菌 (*S. thermocarboxydus*)、黄白链霉菌 (*S. albidoflavus*)、热普通链霉菌 (*S. thermovulgaris*) 和波茨坦短芽孢杆菌 (*Brevibacillus borstelensis*)。目前为止, 国内外对纤维素降解菌群的研究较少, 本研究将 6 种菌株 1:1 等体积混合制成混合菌群 M-1, 利用 DNS 法比较混合菌群 M-1 和单一菌株的产羧甲基纤维素酶 (CMCase) 能力。结果表明, 混合菌群 M-1 比单一菌株产 CMCase 能力强。对混合菌群 M-1 产 CMCase 活力特性进行研究, 确定混合菌群 M-1 的最佳产酶条件。结果表明, 混合菌群 M-1 以体积分数 1% 接种量接种于初始 pH 为 4 的以麸皮 + 淀粉混合物为碳源, 玉米粉为有机氮源, KNO₃ 为无机氮源的培养基中, 45℃ 条件下培养, 能够有最大的酶活, 达 135.9 U·mL⁻¹。条件优化后, 产酶能力提高 1.8 倍。

关键词: 园林废弃物; 高温纤维素降解菌; 混合菌群; 羧甲基纤维素酶; 产酶特性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)04-1546-07 DOI: 10.13227/j.hjcx.2016.04.046

Screening and Enzyme Production Characteristics of Thermophilic Cellulase-producing Strains

FENG Hong-mei¹, QIN Yong-sheng², LI Xiao-fan², ZHOU Jin-xing³, PENG Xia-wei^{1*}

(1. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. General Forestry Administration of Beijing, Beijing 100029, China; 3. School of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: A total of 6 thermophilic cellulase-producing strains were isolated from organic garden waste mixed chicken composting at thermophilic period. These isolates were identified as *Streptomyces thermoiolaceus*, *S. thermodiastaticus*, *S. thermocarboxydus*, *S. albidoflavus*, *S. thermovulgaris* and *Brevibacillus borstelensis* through 16S rRNA gene sequence alignment and phylogenetic tree analysis. The cellulose-degrading microbial community has been investigated in few researches so far both at home and abroad. In this study, the mixed strains M-1 was made up of the 6 cellulose-decomposing microorganisms. The CMCase activity of the mixed strains M-1 was stronger than any of the 6 single strains. Production of CMCase from mixed strains M-1 was studied by optimizing different physico-chemical parameters. The Maximum CMCase production (135.9 U·mL⁻¹) of strains M-1 was achieved at 45℃ in a liquid medium (pH 4) inoculated with 1% (volume fraction), containing a mixture of wheat bran and starch, corn flour and KNO₃. After optimization of separation conditions, CMCase production capacity was improved by 1.8 times.

Key words: garden waste; thermophilic cellulase-producing strains; mixed strains; cellulases; enzyme production characteristics

园林废弃物 (garden waste) 指园林植物自然凋落或人工修剪所产生的枯枝、落叶、草屑、残花、树木与灌木剪枝及其它植物残体等^[1], 主要成分为难降解的纤维素和半纤维素。近年来, 我国园林废弃物以每年 8% ~ 10% 的速度递增, 给城市绿色化进程带来了巨大阻力^[2], 以北京市为例, 园林绿化剩余物总量超过 500 万 t, 而消纳处置能力不足 10%, 目前我国处理园林废弃物的方式主要为焚烧和填埋, 这两种处理方式不仅浪费了可再生资源, 还造成了严重的环境污染^[3]。大量研究表明^[4,5], 利用生物堆肥降解园林废弃物是目前最为绿色环保、无害的方法。废弃物堆肥后土地利用, 不但可以减少填埋场的面积、减少病原菌的繁殖场所, 还具有提高土

壤肥力, 减少城市粉尘飞扬、杂草丛生、土壤侵蚀和地表径流等功能, 而且还能美化城市绿化景观, 减少城市水分消耗, 降低城市绿地维护成本并带动循环经济发展, 促进园林绿化剩余物资源化利用。

但是堆肥化处理高纤维材料如园林废弃物、秸秆等, 实现资源再利用的过程中, 由于纤维素的难降解性, 阻碍了堆肥化的进程^[6]。堆肥化是指可控条件下利用微生物降解有机物质 (树叶、草坪修剪

收稿日期: 2015-10-08; 修订日期: 2015-11-09

基金项目: 北京市科技计划项目 (Z151100002115006); 北京市园林绿化局科技计划项目 (2014-5-1)

作者简介: 冯红梅 (1989 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为资源微生物, E-mail: hongmeifeng@126.com

* 通讯联系人, E-mail: pengxw@bjfu.edu.cn

物等)的过程^[7],降解的最终产品为堆肥,易碎、带有土味,外观与土壤相似。而堆肥高温期作为有机大分子分解的主要阶段,也是保障堆肥无害化的重要阶段^[8]。但是微生物在这个阶段受到高温因素的影响,其种群数量和活性会普遍降低,由此限制了有机物的快速分解,所以分筛选高温高效纤维素降解菌对解决园林废弃物、秸秆等资源利用具有实际意义^[9]。

研究表明,混合菌株的纤维素酶活性要比单一菌株高^[10,11]。目前对于纤维素降解菌的研究大多为单一菌^[12],对于获得纤维素降解混合菌群的方法大多采用直接筛选法^[13,14],这种方法获得的混合菌群的菌落结构不稳定^[15],后期实验中不能保证菌群的稳定性。并且目前市场上很少有针对以园林废弃物为堆肥材料的成熟菌剂。本文以园林废弃物堆肥为原材料,筛选高效高温纤维素降解菌,将这些菌种混合,研究混合菌群的最优发酵条件,通过加快纤维素材料的降解,以期为废弃资源再利用和绿化环境做出贡献。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种来源

样品采自北京市昌平区某有机果园场地处于高温期的堆肥材料,堆肥原料主要为园林废弃物和动物粪便。

1.1.2 培养基

刚果红培养基(分离筛选): K_2HPO_4 0.5 g,微晶纤维素 1.88 g, $MgSO_4$ 0.25 g,明胶 2.0 g,刚果红 0.5 g,琼脂 14~17 g,蒸馏水 1 000 mL。

富集培养基(CMC-Na 培养基):CMC-Na 15.0 g, NH_4NO_3 1.0 g,酵母膏 1.0 g, $MgSO_4$ 0.5 g, KH_2PO_4 1.0 g,蒸馏水 1 000 mL,琼脂。

发酵产酶培养基:CMC-Na 5.0 g,麸皮 30 g,蛋白胨 10 g,NaCl 20 g, KH_2PO_4 1.0 g, $MgSO_4$ 0.2 g, $(NH_4)_2SO_4$ 3.0 g,蒸馏水 1 000 mL。

1.2 实验方法

1.2.1 纤维素降解菌的分离筛选

取 10 g 样品,放入含有 100 mL 富集培养基的锥形瓶中,50℃ 摇床培养 2~3 d 后,取 1 mL 上清液于含有 9 mL 无菌水的试管中,按照此方法依次稀释至 10^{-6} ,然后取每个稀释度的稀释液 200 μ L,涂布于筛选培养基上,每个稀释度 3 个重复,将平板置于 50℃ 恒温培养箱中培养 72 h,观察菌落生长情况,将

形成明显透明圈的单菌落,进一步分离纯化后接种于刚果红培养基上,经过 72 h、50℃ 高温培养,筛选出 D/d (透明圈直径/菌落直径)较大的菌株进行鉴定和后续实验。

1.2.2 菌株 16S rRNA 鉴定及系统发育分析

采用 16S rRNA 序列分析的方法鉴定筛选到的 D/d 值较大的 33 株菌株。采用菌落 PCR 的方法:菌株在 CMC-Na 培养基上培养 10~12 h 后,挑到灭菌 PCR 管中。选用扩增细菌 16S rRNA 通用引物对 27F(5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') 和 1492R(5'-AAG GAG GTG ATC CAG CCG CA-3') 进行 PCR 扩增(引物由北京睿博兴科生物技术有限公司提供)。PCR 体系为:2 \times GC Buffer one 25 μ L, dNTPs 1.25 μ L,10 pmol 引物各 2.5 μ L,5 U $\cdot\mu$ L⁻¹ *Tap* 酶 0.5 μ L,无菌水 17.25 μ L。

将测得的菌株序列上传到 NCBI 数据库中进行 BLAST 分析比对,从比对结果中挑选与该菌株相似性较高的菌株的 16S rDNA 序列,通过 Clustal X 进行多重序列比对,并用 MEGA6.0 软件,以 Neighbor-joining 法构建系统发育树。

1.2.3 混合菌群 M-1 的制备及其与单菌株产 CMCCase 能力的比较

混合菌群制备:将各个单菌株接种于 CMC-Na 的液体培养基中,将菌液置于 50℃ 恒温摇床中培养,每 6 h 测定各单菌株的 D_{600} ,进而确定各单菌株的生长曲线。当各菌株生长到对数期时,采用分光光度法检测各菌液的 D_{600} ,经过稀释处理后使各菌液 $D_{600} \approx 0.2$ ^[16],此时各个菌液 1:1 等体积混合,获得实验所用的混合菌群 M-1。

将混合菌群 M-1 和单一菌株以相同的接种量,在相同的发酵条件下进行发酵产酶培养,比较混合菌群和单一菌株的产酶能力。

1.2.4 混合菌群 M-1 产酶条件优化

(1) 发酵培养基的优化

在发酵产酶培养基中分别就碳源、有机氮源和无机氮源进行了研究,以确定最佳产酶培养基,每个处理 3 个重复,50℃ 培养 3 d 后,测定其产生的 CMCCase。

(2) 发酵条件的优化

在最佳培养基的条件下,分别研究了温度、初始 pH 和接种量对混合菌群 M-1 产酶的影响,每个处理 3 个重复,培养 3 d 后,测定其产生的 CMCCase 活力。

1.2.5 羧甲基纤维素酶(CMCCase)活力测定

菌株在发酵培养基中培养 3 d 后,8 000

$r \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 10 min, 上清液即为粗酶液. 本实验采用 DNS 法^[17]进行酶活力测定.

酶活定义: 在上述条件下, 每分钟由 1 mL 酶液水解底物产生 1 μmol 葡萄糖的酶量作为 1 个酶活力单位, 以 ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$) 表示.

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2007 软件对数据进行处理, 采用 Microsoft Excel 2007 软件和 Origin 8.5 软件进行绘图, 使用 MEGA 6.0 软件包构建系统发育树.

2 结果与分析

2.1 菌株筛选与鉴定

高温驯化后, 从园林废弃物堆肥中共筛选分离到 97 株高温纤维素降解菌株, 经过形态学观察发现大部分为放线菌, 极少数为细菌, 这与王亮^[18]的研究结果相似. 纤维素降解菌在刚果红平板上能形成透明圈, 且所形成透明圈大小与降解性强弱有一定的关系, 所以通过比较菌株透明圈直径 D 与菌株直径 d 的比值 D/d 来进行复筛, 将初筛得到的菌株, 接种到刚果红培养基上, 测其透明圈直径/菌落直径即 D/d . D/d 值大于 2 的有 33 株(表 1), 最大值为 14.

对复筛得到的 33 株菌株进行 PCR 扩增, 获得的 16S rDNA 序列提交到 NCBI 数据库进行序列比对, 选取同源性较高的菌株, 构建系统发育树如图 1. 结果表明, 33 株菌株初步鉴定为链霉菌属 (*Streptomyces*) 和短芽孢杆菌属 (*Brevibacillus*) 这 2 个属, 同源性均达 99% 以上, 其中链霉菌属有高温

紫链霉菌 (*S. thermoviolaceus*)、嗜热淀粉酶链霉菌 (*S. thermodiastaticus*)、嗜热一氧化碳链霉菌 (*S. thermocarboxydus*)、黄白链霉菌 (*S. albidoflavus*)、热普通链霉菌 (*S. thermovulgaris*) 这 5 个种, 这些菌种依次编码为 CA-1、CA-2、CA-3、CA-4 和 CA-5; 短芽孢杆菌属只有波茨坦短芽孢杆菌 (*Brevibacillus borstelensis*) 1 个种, 编码为 CB-1. 其中有研究报道在芦笋老茎堆肥中也发现了热普通链霉菌^[19], 且其对枝条有很好地降解作用^[20].

表 1 菌株透明圈直径 D 与菌株直径 d 的比值

Table 1 Ratio between transparent circle diameter and colony diameter of mixed strains

菌株	D/d	菌株	D/d	菌株	D/d
1	14.00	12	3.00	23	2.44
2	12.50	13	3.00	24	2.44
3	11.00	14	2.91	25	2.40
4	11.00	15	2.90	26	2.33
5	10.00	16	2.86	27	2.29
6	7.30	17	2.82	28	2.29
7	7.06	18	2.74	29	2.22
8	3.71	19	2.67	30	2.18
9	3.68	20	2.63	31	2.14
10	3.66	21	2.60	32	2.09
11	3.00	22	2.55	33	2.04

2.2 混合菌群 M-1 和单一菌株产酶能力比较

在相同的发酵条件下, 接种混合菌群 M-1 和单菌株 CA-1、CA-2、CA-3、CA-4、CA-5、CB-1, 对混合菌群 M-1 与单一菌株的产 CMCase 能力进行比

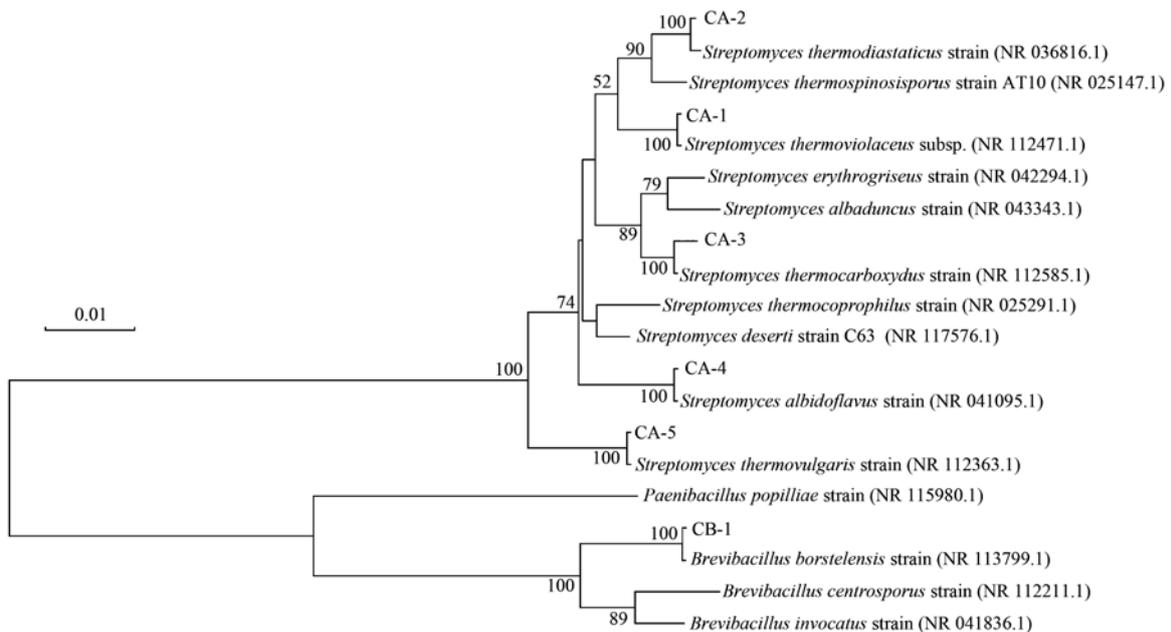


图 1 混合菌群 M-1 的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of the strains M-1

较,结果如图 2. 单一菌株产酶能力大小顺序为 CA-2 > CA-1 > CA-3 > CA-5 > CA-4 > CB-1, CA-2 产 CMCase 活力相对最高,高达 $60 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$; 混合菌群 M-1 产 CMCase 活力为 $76 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$, 是 CA-2 菌株产 CMCase 活力的 1.3 倍. 所以混合菌群 M-1 的产酶能力比组成它的任何单一菌株产酶能力都强,这与李波等^[21]的研究结果一致.

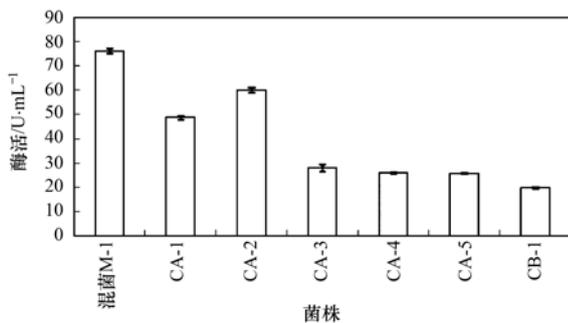


图 2 混合菌群 M-1 与单一菌株产酶能力比较
Fig. 2 Comparing enzyme producing capabilities of mixed strains M-1 and single strains

2.3 混合菌群 M-1 发酵培养基优化

2.3.1 不同碳源对混合菌群 M-1 产酶的影响

发酵培养基选取麸皮、淀粉、微晶纤维素、乳糖、麦芽糖、葡萄糖、CMC、果糖和蔗糖这 9 种碳源,研究不同碳源对混合菌群 M-1 产酶的影响,结果如图 3. 首先,以麸皮或者淀粉为唯一碳源时,混合菌群 M-1 产 CMCase 活力比其他碳源条件下相对较高. 葡萄糖、果糖、乳糖等作为唯一碳源时菌群产酶能力低,原因可能是因为 CMC 酶合成不仅受诱导物和菌体生长速度的影响,还容易被葡萄糖等易利用碳源所阻遏^[22]. 其次,以麸皮 + CMC (本底培养基中含有的两种碳源)或者麸皮 + 淀粉(单一碳源中产酶最强的两种碳源)为碳源时,菌群 M-1 产酶能力比单一碳源条件下产酶能力强. 以麸皮 + CMC 为碳源时,菌群产 CMCase 活力为 $30 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,

而以麸皮 + 淀粉为碳源时,混合菌群 M-1 产酶能力是以麸皮或淀粉为唯一碳源时的 3.3 倍左右,是以麸皮 + CMC 为碳源时的 2.1 倍. 由此可见,混合菌群 M-1 的最佳碳源为麸皮 + 淀粉.

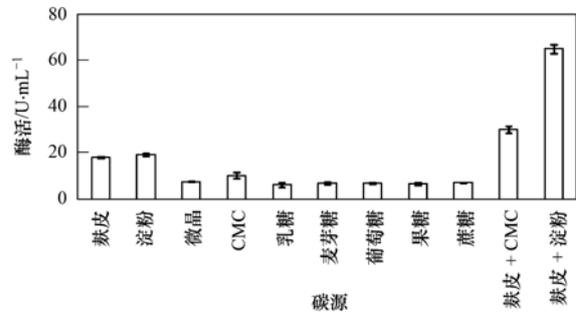


图 3 不同碳源对混合菌群 M-1 产酶的影响
Fig. 3 Effect of different carbon sources on enzyme activity of mixed strains M-1

2.3.2 不同有机氮源对混合菌群 M-1 产酶的影响

在最佳碳源的情况下,在培养基中添加牛肉膏、酵母膏、尿素、蛋白胨和玉米粉为唯一的有机氮来源,添加量为 1%,研究不同有机氮来源对混合菌群 M-1 产 CMCase 活力的影响,结果如图 4(a). 以玉米粉为有机氮的供给来源时,混合菌群 M-1 产 CMCase 活力最高,高达 $83.5 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,比以其他有机氮源为唯一氮源时所产酶能力要强,其中以尿素为唯一有机氮源时所产生的 CMCase 活力最低,仅为以玉米粉为有机氮源时的 18.7%. 由此可见,玉米粉是混合菌群 M-1 产酶的最佳有机氮源.

2.3.3 不同无机氮源对混合菌群 M-1 产酶的影响

在发酵培养基中分别加入 KNO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4Cl 和 NH_4NO_3 这 4 种无机氮源,添加量分别为 4.6 、 3 、 2.4 和 $1.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,使无机氮素含量相等,研究不同无机氮源对菌群 M-1 产 CMCase 的影响,结果如图 4(b). 以 KNO_3 为无机氮源时,菌群 M-1 产 CMCase 活力最大,最大值为 $103 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,以

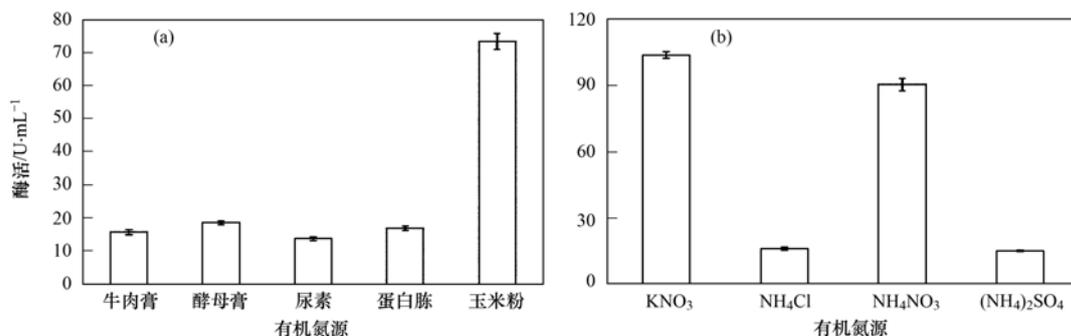


图 4 不同氮源对混合菌群 M-1 产酶的影响

Fig. 4 Effect of different nitrogen sources on enzyme activity of mixed strains M-1

NH_4NO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NH_4Cl 为无机氮源时所产 CMCase 活力保持在最大酶活时的 87%、15% 和 14%。由此可见, KNO_3 是混合菌群 M-1 产酶的最佳无机氮源。

2.4 发酵条件对混合菌群 M-1 产酶的影响

2.4.1 温度对混合菌群 M-1 产酶的影响

在最佳发酵培养基的条件下,将混合菌群 M-1 置于不同温度(30、37、45、50 和 60℃)下发酵培养,研究温度对混菌 M-1 产 CMCase 活力的影响,结果如图 5(a)。混合菌群 M-1 随着温度的升高,产酶能力呈现先升高后降低的趋势。当温度为 45℃ 时,混合菌群 M-1 产酶能力最强,最大值为 135.9 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$;之后,菌群 M-1 产酶能力随着温度的升高而降低。由此可以确定混合菌群 M-1 的最佳培养温度为 45℃。

2.4.2 初始 pH 对混合菌群 M-1 产酶的影响

在最佳发酵培养基和最佳温度条件下,调整初始 pH 值(3、4、5、6、7、8、9 和 10),其他条件相同,研究初始 pH 对菌群 M-1 产 CMCase 活力的影响,结果如图 5(b)所示。菌群 M-1 在偏酸性环境中产酶较高,当初始 pH 为 4 时,菌群 M-1 产酶活力最高,最大值达 106.5 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$,在 pH 为 3 时,菌群 M-1 产酶能力保持着最大酶活力的 90%; pH 在 5~10 之间时,酶活基本在最大酶活力的 50% 左右上下浮动。

2.4.3 接种量对混合菌群 M-1 产酶的影响

在最佳发酵培养基条件下,选取最佳温度和最佳 pH,接种量(0.5%、1%、2%、4%、6%、8% 和 10%)为唯一变量,研究不同接种量对混合菌群 M-1 产 CMCase 活力的影响,结果如图 5(c)。随着菌群 M-1 接种量的增加,菌系产酶能力呈现先升后降的趋势。接种量在 0.5%~1% 之间,菌群 M-1 所产 CMCase 随着接种量的增大而增大到最高,高达 123 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$;接种量大于 1% 时,菌群 M-1 产 CMCase 能力随着接种量的增大而减小。

3 讨论

3.1 混合菌群 M-1 和单一菌株产酶能力比较

现有的研究中筛选纤维素分解菌的材料来源大多是从沙地、污泥等环境中得到的,还有以动物粪便为唯一样品来源筛选到的纤维素分解菌,如 Joynson 等^[23]从蛞蝓的肠道中分离出 *Citrobacter*、*Serratia*、*Pectobacterium*、*Acinetobacter*、*Mycoplasma*、*Pantoea* 和 *Erwinia* 等细菌^[23]。一方面以园林废弃

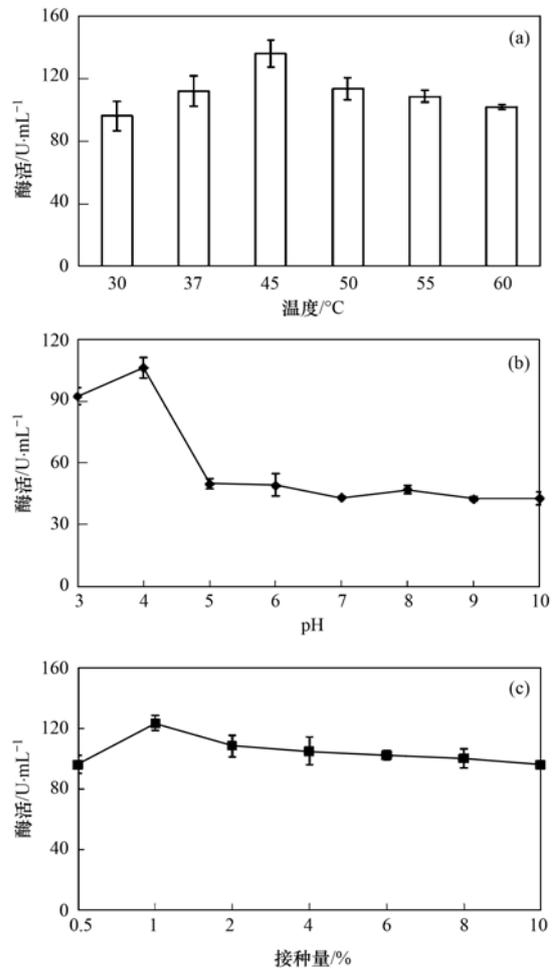


图 5 不同条件对混合菌群 M-1 产酶的影响

Fig. 5 Effect of different conditions on enzyme activity of mixed strains M-1

物和动物粪便为菌种来源的材料少有研究,另一方面目前对于纤维素降解的研究主要集中在单一菌株^[12,13]和常温菌^[14,15],如 Wang 等^[24]研究了堆肥过程中嗜热菌和低温菌,对每个菌种单独进行了研究;Ma 等^[25]从家蚕的肠中分离出毛霉属菌,并对其酶活性进行了简单研究;Qaisar 等^[26]对纤维素降解菌花斑曲霉进行了酶学性质研究;而研究高温纤维素降解混合菌群酶活性性质的较少。基于以上两点,本研究从园林废弃物和鸡粪混合堆肥中筛选出 6 株高温纤维素降解菌,经鉴定分别为高温紫链霉菌 (*S. thermoviolaceus*)、嗜热淀粉酶链霉菌 (*S. thermodiastaticus*)、嗜热一氧化碳链霉菌 (*S. thermocarboxydus*)、黄白链霉菌 (*S. albidoflavus*)、热普通链霉菌 (*S. thermovulgaris*) 和波茨坦短芽孢杆菌 (*Brevibacillus borstelensis*),将 6 株高温纤维素降解菌制成混合菌群 M-1,经验证,混合菌群 M-1 的产酶能力比组成混合菌群的各单一菌株中产酶能力

强. 由于菌株 CA-1、CA-2、CA-3、CA-4、CA-5 和 CB-1 是通过分离纯化得到的, 其混合菌群的菌株组合方式和菌株混合后各个菌株之间的关系, 还有待于进一步研究.

3.2 混合菌群 M-1 产酶条件的研究

堆肥中纤维素类物质的降解是在微生物代谢过程中产生的一系列酶的共同作用下完成的. 接种外源高效降解纤维素的微生物后^[27], 堆肥中纤维素酶活力提高, 缩短堆肥周期, 促进了堆肥中微生物降解, 难分解的纤维素类有机物从而加速堆肥腐熟^[28], 纤维素酶活性与堆肥腐熟密切相关^[29], CMC 酶为纤维素酶中的一种, 所以确定混合菌群最佳产酶条件对后期进行堆肥实验提供理论依据.

有报道显示, 发酵培养基中的碳源为麸皮 + CMC 复合碳源^[30], 原因可能是 CMC 易被纤维素酶利用, 在纤维素酶大量产生之前, 必须保证菌体生长所需要的同化碳源, 麸皮中含有丰富的易同化碳源和有机氮源, 能够满足菌体生长所需要的营养物质, 故常用作同化碳源^[31]. 所以本文选取了麸皮 + CMC 和所选碳源中产酶最高两种碳源(即麸皮 + 淀粉)作为混合碳源来进行研究. 这与很多研究^[26]中所说的 CMC 为菌株产 CMCase 活力的最佳碳源不相符.

温度和 pH 是影响微生物生长产酶的主要因素. 本研究中, 混合菌群 M-1 随着温度的升高, 产酶能力呈现先升高后降低的趋势, 混合菌群最适生长产酶温度为 45℃, 为高温条件, 高于和低于这个温度都阻碍了微生物生长繁殖. 这与李波等^[21]研究的农业废弃物秸秆降解菌在液体培养过程中温度变化趋势一致, 都经历了先升后降的趋势, 区别为李波等研究的是常温菌; 混合菌群 M-1 在 pH 为 4 时产酶能力最强, 说明菌群 M-1 有很强的酸适应能力. 这与 Qaisar 等^[26]研究的曲霉的最佳 pH 为 4 的结论相同. 接种量对菌群 M-1 产酶也有很重要的影响, 接种量过高可能因为菌群密度过大引发营养物质竞争, 出现营养匮乏, 菌体相互抑制导致菌体生长受限, 产酶能力下降.

综上所述, 混合菌群 M-1 以 1% 的接种量接种于在初始 pH 为 4 的含有以麸皮 + 淀粉为混合碳源, 以玉米粉为有机氮源, 以 KNO₃ 为无机氮源的培养基中, 在 45℃ 条件下发酵培养, 混合菌群 M-1 产 CMCase 活力最大, 为 135.9 U·mL⁻¹, 是优化条件前 76 U·mL⁻¹ 的 1.8 倍.

4 结论

(1) 本研究从园林废弃物鸡粪混合堆肥高温期堆肥中, 筛选出 6 株具有较强降解纤维素能力的菌株, 其中 5 株为链霉菌属 (*Streptomyces*) 菌种, 1 株为波茨坦短芽孢杆菌 (*Brevibacillus borstelensis*). 目前高温放线菌对于纤维素降解的研究相对较少, 所以本研究为园林废弃物降解菌剂扩大了菌种资源库.

(2) 相同发酵条件下, 比较混合菌群 M-1 和单一菌株降解纤维素的能力. 结果表明, 混合菌群产 CMCase 活力比任何组成它的单一菌株都要高, 为菌剂开发利用提供了理论依据.

(3) 混合菌群 M-1 在最优条件下(即: 以 1% 接种量接种于初始 pH 为 4 的以麸皮 + 淀粉混合物为碳源, 玉米粉为有机氮源, KNO₃ 为无机氮源的培养基中, 45℃) 培养, 产酶能力是优化培养条件之前的 1.8 倍, 为应用于生产提供了数据基础.

参考文献:

- [1] 吕子文, 方海兰, 黄彩娣. 美国园林废弃物的处置及对我国的启示[J]. 中国园林, 2007, 23(8): 90-94.
- [2] 于鑫, 孙向阳, 徐佳, 等. 北京市园林绿化废弃物现状调查及再利用对策探讨[J]. 山东林业科技, 2009, 39(4): 5-7, 11.
- [3] 张英民, 尚晓博, 李开明, 等. 城市生活垃圾处理技术现状与管理对策[J]. 生态环境学报, 2011, 20(2): 385-396.
- [4] Beyea J, Cannon C, Diddy S, et al. Composting of yard trimmings and municipal solid waste[R]. U. S.: Environmental Protection Agency, 1994.
- [5] 吕子文. 日本绿化植物废弃物处置场见闻[J]. 园林, 2012, (2): 32-34.
- [6] Bernabé G A, Kobelnik M, Almeida S, et al. Thermal behavior of lignin and cellulose from waste composting process[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2013, 111(1): 589-595.
- [7] Demain A L, Newcomb M, Wu J H D. Cellulase, clostridia and ethanol[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2005, 69(1): 124-154.
- [8] 程旭艳, 霍培书, 尚晓瑛, 等. 堆肥中高温降解菌的筛选、鉴定及堆肥效果[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(5): 105-111.
- [9] Prasetyo J, Zhu J, Kato T, et al. Efficient production of cellulase in the culture of *Acremonium cellulolyticus* using untreated waste paper sludge[J]. Biotechnology Progress, 2011, 27(1): 104-110.
- [10] 刘晓梅, 邹亚杰, 胡清秀, 等. 菌渣纤维素降解菌的筛选与鉴定[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(7): 1384-1391.
- [11] 王得武, 姚拓, 杨巧丽, 等. 高效稳定纤维素分解菌群筛选及其分解特性研究[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 253-259.
- [12] Gaur R, Tiwari S. Isolation, production, purification and

- characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07 [J]. *BMC Biotechnology*, 2015, **15**: 19.
- [13] Guo P, Wang X F, Zhu W B, *et al.* Degradation of corn stalk by the composite microbial system of MC1 [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, **20**(1): 109-114.
- [14] 崔宗均, 李美丹, 朴哲, 等. 一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的筛选及功能[J]. *环境科学*, 2002, **23**(3): 36-39.
- [15] 崔诗法, 廖银章, 黎云祥, 等. 纤维素分解复合菌系 St-13 的筛选及产酶条件的研究[J]. *现代农业科学*, 2009, **16**(1): 8-11.
- [16] Woo H L, Hazen T C, Simmons B A, *et al.* Enzyme activities of aerobic lignocellulolytic bacteria isolated from wet tropical forest soils[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2014, **37**(1): 60-67.
- [17] 赵亚华. 生物化学实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000.
- [18] 王亮. 牛粪好氧堆肥中微生物多样性及生产应用研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012.
- [19] 陈婷婷, 王丽芳, 王琪, 等. 芦笋老茎堆肥中嗜热放线菌的分离和鉴定[J]. *山西农业科学*, 2013, **41**(1): 70-74.
- [20] Vargas-García M C, Suárez-Estrella F, Moreno J, *et al.* Effect of inoculation in composting processes: modifications in lignocellulosic fraction[J]. *Waste Management*, 2007, **27**(9): 1099-1107.
- [21] 李波, 魏成熙, 文庭池, 等. 农业废弃物秸秆降解菌的筛选及产酶特性研究[J]. *环境科学学报*, 2012, **32**(12): 3095-3100.
- [22] 杨静, 张晓萍, 勇强, 等. 几种纤维素酶蛋白的双向电泳分析[J]. *林产化学与工业*, 2011, **31**(2): 48-52.
- [23] Joynson R, Swamy A, Bou P A, *et al.* Characterization of cellulolytic activity in the gut of the terrestrial land slug *Arion ater*: biochemical identification of targets for intensive study[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 2014, **177-178**: 29-35.
- [24] Wang L, Wang L Y, Wang D M, *et al.* Isolation and application of thermophilic and psychrophilic microorganisms in the composting process[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2014, **5**(3): 433-440.
- [25] Ma R J, Wang C Y, Liu Y W, *et al.* Identification and characterization of a novel endoglucanase (CMCase) isolated from the larval gut of *Bombyx mori*[J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2014, **17**(1): 67-71.
- [26] Qaisar S, Zohra R R, Aman A, *et al.* Enhanced production of cellulose degrading CMCase by newly isolated strain of *Aspergillus versicolor*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, **104**: 199-203.
- [27] Wang H Y, Fan B Q, Hu Q X, *et al.* Effect of inoculation with *Penicillium expansum* on the microbial community and maturity of compost[J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(24): 11189-11193.
- [28] 李琬, 许修宏. 外源微生物对堆肥理化性质及酶活影响的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, **29**(3): 592-596.
- [29] 梁东丽, 谷洁, 秦清军, 等. 农业废弃物静态高温堆肥过程中纤维素酶活性的变化[J]. *环境科学学报*, 2009, **29**(2): 323-329.
- [30] 国辉. 异位发酵床技术在奶牛养殖废水污染控制中的研究及应用[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [31] 徐静静. 奶牛粪便纤维素降解菌的筛选及产酶条件研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

CONTENTS

Chemical Characteristics of Particulate Matters and Trajectory Influence on Air Quality in Shanghai During the Heavy Haze Episode in December, 2013	ZHOU Min, QIAO Li-ping, ZHU Shu-hui, <i>et al.</i> (1179)
Analysis of Single Particle Aging and Mixing State at an Agriculture Site (Quzhou) in the North China Plain in Summer Using a Single Particle Aerosol Mass Spectrometer	HUANG Zi-long, ZENG Li-min, DONG Hua-bin, <i>et al.</i> (1188)
Investigation of Aerosol Mixed State and CCN Activity in Nanjing	ZHU Lin, MA Yan, ZHENG Jun, <i>et al.</i> (1199)
Characteristics of Number Concentration Size Distributions of Aerosols Under Different Weather Processes in Beijing	SU Jie, ZHAO Pu-sheng, CHEN Yi-na (1208)
Temporal and Spatial Distribution Characteristics of PM _{2.5} in Chongqing Urban Areas	LIU Yong-lin, SUN Qi-min, ZHONG Ming-yang, <i>et al.</i> (1219)
Comparison of Monitoring Methods of Organic Carbon and Element Carbon in Atmospheric Fine Particles	PANG Bo, JI Dong-sheng, LIU Zi-rui, <i>et al.</i> (1230)
Residue Characteristics of Perfluorinated Compounds in the Atmosphere of Shenzhen	HE Peng-fei, ZHANG Hong, LI Jing, <i>et al.</i> (1240)
Monitoring Atmospheric CO ₂ and δ ¹³ C(CO ₂) Background Levels at Shangdianzi Station in Beijing, China	XIA Ling-jun, ZHOU Ling-xi, LIU Li-xin, <i>et al.</i> (1248)
Concentration and Size Distribution of Bioaerosols in Indoor Environment of University Dormitory During the Plum Rain Period	LIU Ting, LI Lu, ZHANG Jia-quan, <i>et al.</i> (1256)
Air Microbial Pollution and Health Risk of Urban Black Odorous Water	LIU Jian-fu, CHEN Jing-xiong, GU Shi-you (1264)
Particle Size Distribution, Seasonal Variation Characteristics and Human Exposure Assessment of Heavy Metals in Typical Settled Dust from Beijing	CAO Zhi-guo, YU Gang, LÜ Xiang-ying, <i>et al.</i> (1272)
Distribution Characteristics and Source Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Surface Dust of Xi'an City, China	WANG Li, WANG Li-jun, SHI Xing-min, <i>et al.</i> (1279)
Toluene, Benzene and Acetone Adsorption by Activated Carbon Coated with PDMS	LIU Han-bing, JIANG Xin, WANG Xin, <i>et al.</i> (1287)
Distribution Characteristics, Sources and Pollution Assessment of Trace Elements in Surficial Sediments of the Coastal Wetlands, Northeastern Hainan Island	ZHANG Wei-kun, GAN Hua-yang, BI Xiang-yang, <i>et al.</i> (1295)
Heavy Metals Accumulation in the Caofeidian Reclamation Soils: Indicated by Soil Magnetic Susceptibility	XUE Yong, ZHOU Qian, LI Yuan, <i>et al.</i> (1306)
Characteristics of Stable Isotopes in Precipitation and Their Moisture Sources in Mengzi Region, Southern Yunnan	LI Guang, ZHANG Xin-ping, XU You-peng, <i>et al.</i> (1313)
GIS Spatial Distribution and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Sediments of Shallow Lakes in Jiangsu Province	LI Ying-jie, ZHANG Lie-yu, WU Yi-wen, <i>et al.</i> (1321)
Microcosm Simulation Study and Methylmercury Forming Mechanism at Landscape Water of City	LIU Xiao-hong, SI You-bin, GUO Zi-wei, <i>et al.</i> (1330)
Seasonal Stratification and the Response of Water Quality of a Temperate Reservoir—Zhoucun Reservoir in North of China	ZENG Ming-zheng, HUANG Ting-lin, QIU Xiao-peng, <i>et al.</i> (1337)
Hydrochemical Characteristics of Snow Meltwater and River Water During Snow-melting Period in the Headwaters of the Ertis River, Xinjiang	WEI Hong, WU Jin-kui, SHEN Yong-ping, <i>et al.</i> (1345)
Relationship Between the Phytoplankton Distribution and Environmental Factors in Fenhe Scenic Spot of Taiyuan	FENG Jia, GUO Yu-ning, WANG Fei, <i>et al.</i> (1353)
Distribution Characteristics of Nitrifiers and Denitrifiers in the River Sediments of Tongling City	CHENG Jian-hua, DOU Zhi-yong, SUN Qing-ye (1362)
Contribution of Base Flow to Total Nitrogen Loading in Subtropical Agricultural Catchments	MA Qiu-mei, LI Wei, WANG Yi, <i>et al.</i> (1371)
Characteristics and Transport Patterns of Ammonia, Nitrites, Nitrates and Inorganic Nitrogen Flux at Epikarst Springs and a Subterranean Stream in Nanshan, Chongqing	ZHANG Yuan-zhu, HE Qiu-fang, JIANG Yong-jun, <i>et al.</i> (1379)
Pollution Characteristics and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Sediments of Shanmei Reservoir in Fujian, China	QIU Zu-kai, HU Xiao-zhen, YAO Cheng, <i>et al.</i> (1389)
Effect of <i>Elodea natallii</i> -immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on Nitrogen Removal Mechanism in an Inflow River, Gonghu Bay	HAN Hua-yang, LI Zheng-kui, WANG Hao, <i>et al.</i> (1397)
Spatial and Temporal Distribution Characteristics of Different Forms of Phosphorus in Three Sorts of Rivers around Lake Taihu	GAO Yong-xia, SONG Yu-zhi, YU Jiang-hua, <i>et al.</i> (1404)
Distribution of Phosphorus Forms in the Overlying Water Under Disturbance with the Addition of Algae	CHEN Jun, LI Yong, LI Da-peng, <i>et al.</i> (1413)
Impacts of Sediment Disturbance on the Distribution of Suspended Particle Size and Phosphorus	GUO Jun-rui, LI Da-peng, LIU Yan-jian (1422)
Effect of Zirconium Modified Kaolin-Based Cap on Migration and Transformation of Phosphorus Between Sediment and Overlying Water	ZHANG Zhe, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (1427)
Toxicity of 4-Chlorophenol Solution Under Electrochemical Reduction-oxidation Process	WANG Yan, SHI Qin, WANG Hui, <i>et al.</i> (1437)
Removal and Recycle of Phosphor from Water Using Magnetic Core/Shell Structured Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ Nanoparticles Functionalized with Hydrrous Aluminum Oxide	LAI Li, XIE Qiang, FANG Wen-kan, <i>et al.</i> (1444)
Occurrence and Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Derivatives in Typical Wastewater Treatment Plants in Beijing	QIAO Meng, QI Wei-xiao, ZHAO Xu, <i>et al.</i> (1451)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matters in Reject Water from Wastewater Treatment Plants	NIU Tian-hao, ZHOU Zhen, HU Da-long, <i>et al.</i> (1460)
Feasibility and Economic Analysis of Denitrification of Photovoltaic Wastewater Containing High Fluorine	LI Xiang, ZHU Liang, HUANG Yong, <i>et al.</i> (1467)
Quick Start-up and Sustaining of Shortcut Nitrification in Continuous Flow Reactor	WU Peng, ZHANG Shi-ying, SONG Yin-ling, <i>et al.</i> (1472)
Performance Recoverability of Denitrifying Granular Sludge Under the Stressing Effect of Nanoscale Zero-valent Iron	WANG Fan-fan, QIAN Fei-yue, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (1478)
Effect of Low-concentration Ciprofloxacin on the Nitrification and Nitrifying Microorganisms of Biofilms in Biological Aerated Filter	HE Shi, GU Chao-chao, WEI Xin, <i>et al.</i> (1485)
Optimization Study on the Nitrogen and Phosphorus Removal of Modified Two-sludge System Under the Condition of Low Carbon Source	YANG Wei-qiang, WANG Dong-bo, LI Xiao-ming, <i>et al.</i> (1492)
Effects of Short-time Conservation Tillage Managements on Greenhouse Gases Emissions from Soybean-Winter Wheat Rotation System	XIE Yan, CHEN Xi, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (1499)
Diurnal and Seasonal Dynamic Variation of Soil Respiration and Its Influencing Factors of Different Fenced Enclosure Years in Desert Steppes	CUI Hai, ZHANG Ya-hong (1507)
Correlation Among Soil Organic Carbon, Soil Inorganic Carbon and the Environmental Factors in a Typical Oasis in the Southern Edge of the Tarim Basin	GONG Lu, ZHU Mei-ling, LIU Zeng-yuan, <i>et al.</i> (1516)
Effects of Low-Molecular-Weight Organic Acids on the Speciation of Pb in Purple Soil and Soil Solution	LIU Jiang, JIANG Tao, HUANG Rong, <i>et al.</i> (1523)
Phytoremediation of Petroleum Contaminated Soils with <i>Iris pseudacorus</i> L. and the Metabolic Analysis in Roots	WANG Ya-nan, CHENG Li-juan, ZHOU Qi-xing (1531)
Oxidation Process of Dissolvable Sulfide by Manganite and Its Influencing Factors	LUO Yao, LI Shan, TAN Wen-feng, <i>et al.</i> (1539)
Screening and Enzyme Production Characteristics of Thermophilic Cellulase-producing Strains	FENG Hong-mei, QIN Yong-sheng, LI Xiao-fan, <i>et al.</i> (1546)
Development of Determination Method of Fluoroquinolone Antibiotics in Sludge Based on Solid Phase Extraction and HPLC-Fluorescence Detection Analysis	DAI Xiao-hu, XUE Yong-gang, LIU Hua-jie, <i>et al.</i> (1553)
Distribution and Risk Assessment of Sulfonamides Antibiotics in Soil and Vegetables from Feedlot Livestock	JIN Cai-xia, SI Xiao-wei, WANG Zi-ying, <i>et al.</i> (1562)
Influence of Four Kinds of PPCPs on Micronucleus Rate of the Root-Tip Cells of <i>Vicia-faba</i> and Garlic	WANG Lan-jun, WANG Jin-hua, ZHU Lu-sheng, <i>et al.</i> (1568)
Environmental Behaviors and Ecotoxicology of the Emerging Contaminants Polyhalogenated Carbazoles	LIN Kun-de, CHEN Yan-qiu, YUAN Dong-xing (1576)
Classification of Priority Area for Soil Environmental Protection Around Water Sources; Method Proposed and Case Demonstration	LI Lei, WANG Tie-yu, WANG Xiao-jun, <i>et al.</i> (1584)

《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 刘 毅 汤鸿霄 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)

2016年4月15日 第37卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 4 Apr. 15, 2016

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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行