

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第9期

Vol.37 No.9

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

1960~2013年我国霾污染的时空变化 符传博, 唐家翔, 丹利, 何媛 (3237)

太原大气颗粒物中水溶性无机离子质量浓度及粒径分布特征 王璐, 温天雪, 苗红妍, 高文康, 王跃思 (3249)

石家庄秋季一次典型霾污染过程水溶性离子粒径分布特征 刘景云, 刘子锐, 温天雪, 魏俊龙, 黄小娟, 乔宝文, 王莉莉, 杨洋, 徐仲均, 王跃思 (3258)

南京北郊大气颗粒物的粒径分布及其影响因素分析 吴丹, 曹双, 汤莉莉, 夏俊荣, 陆建刚, 刘刚, 杨孟, 李凤英, 盖鑫磊 (3268)

南京北郊黑碳气溶胶污染特征及影响因素分析 肖思晗, 于兴娜, 朱彬, 何稼祺 (3280)

上海崇明地区大气分形态汞污染特征 李舒, 高伟, 王书肖, 张磊, 李智坚, 王龙, 郝吉明 (3290)

三峡库区典型农田系统大气汞浓度及不同自然界面释汞通量 王永敏, 赵铮, 孙涛, 王娅, 薛金平, 张成, 王定勇 (3300)

长白山背景站大气 VOCs 浓度变化特征及来源分析 吴方堃, 孙杰, 余晔, 唐贵谦, 王跃思 (3308)

铅冶炼厂无组织排放源不同颗粒物中铅含量特征 刘大钧, 汪家权 (3315)

祁连山东段降水的水化学特征及离子来源研究 贾文雄, 李宗省 (3322)

三峡库区(重庆—宜昌段)沉积物中钒的污染特征及生态风险评价 郭威, 殷淑华, 徐建新, 徐东昱, 高丽, 郝红, 高博 (3333)

太湖不同富营养化水域磷的分布特征及其环境影响因素 车霏霏, 王大鹏, 甄卓, 颜昌宙, 王灶生 (3340)

太湖表层沉积物中 PPCPs 的时空分布特征及潜在风险 张盼伟, 周怀东, 赵高峰, 李昆, 刘巧娜, 任敏, 赵丹丹, 李东佼 (3348)

岩溶地下河系统中有机氯的分布特征与来源分析 张媚, 孙玉川, 谢正兰, 余琴, 徐昕 (3356)

西南典型岩溶地下河系统水文地球化学特征对比:以重庆市青木关、老龙洞为例 詹兆君, 陈峰, 杨平恒, 任娟, 张海月, 刘黛薇, 蓝家程, 张宇 (3365)

不同水源补给情形的溪流沟渠沉积物磷形态及释放风险分析 李如忠, 秦如彬, 黄青飞, 耿若楠 (3375)

滇池柱状沉积物磷形态垂向变化及对释放的贡献 李乐, 王圣瑞, 焦立新, 余佑金, 丁帅, 王跃杰 (3384)

荧光光谱结合平行因子分析研究夏季周村水库溶解性有机物的分布与来源 黄廷林, 方开凯, 张春华, 周石磊, 曾明正, 刘飞, 夏超, 丛海兵 (3394)

富营养化水体中黑水团的吸收及反射特性分析 张思敏, 李云梅, 王桥, 朱利, 王旭东, 温爽 (3402)

基于微生物完整性指数的地下水生态系统健康评价:以包钢稀土尾矿库周边地下水生态系统为例 安新丽, 陈廷廷, 赵晗, 张又弛, 侯艳伟, 蔡超 (3413)

于桥水库水源地水体沉积物重金属空间分异与景观格局的关系 王祖伟, 王玮玮, 侯迎迎, 包姗姗, 王子璐, 王倩倩 (3423)

人工湿地构型对水产养殖废水含氮污染物和抗生素去除影响 刘佳, 易乃康, 熊永娇, 黄翔峰 (3430)

共生细菌对盐生小球藻富集和转化硝酸盐的影响 许平平, 刘聪, 王亚, 郑燕恒, 张春华, 葛滢 (3438)

模拟水体硝态氮对黄菖蒲生长及其氮吸收的影响 王兵, 温春翔, 肖波 (3447)

对羟基联苯在黄河兰州段底泥上的吸附行为 周琦, 蒋煜峰, 孙航, 慕仲锋, 张振国, 展惠英 (3453)

多级 A/O 工艺强化处理城市污水的效果研究 尹子华, 盛晓琳, 刘锐, 陈吕军, 张永明 (3460)

某微污染源自来水厂的纳滤深度处理效果研究 吴玉超, 陈吕军, 兰亚琼, 刘锐 (3466)

Fe⁰-PRB 去除Cr(VI)反应动力学及影响机制 卢欣, 李森, 唐翠梅, 辛佳, 林朋飞, 刘翔 (3473)

EDTA-nSiO₂ 纳米颗粒对 Cd²⁺ 的吸附 蒋顺成, 秦睿, 李满林, 李荣华, 张增强, Amjad Ali, 梁文 (3480)

硝酸-PPy/AQDS 联合处理改善阳极性能的分析表征 沈伟航, 朱能武, 尹富华, 吴平霄, 张彦鸿 (3488)

人工合成水铁矿对含磷废水的吸附性能 崔蒙蒙, 王殿升, 黄天寅, 刘锋 (3498)

生物沸石人工湿地处理分散养猪冲洗水性能 牟锐, 沈志强, 周岳溪, 陈学民, 伏小勇, 谭蕾蕾, 瞿畏 (3508)

甘油基混合培养物合成 PHA 及其与 OUR 的关系 刘东, 张小婷, 张代钧, 曾善文, 卢培利 (3518)

光催化体系中噻虫胺降解动力学及机制 胡倩, 阳海, 石妮, 胡乐天, 易兵 (3524)

宁夏干旱地区工业区对农田土壤重金属累积的影响 王美娥, 彭驰, 陈卫平 (3532)

北方某大型钢铁企业表层土壤中多环芳烃污染特征与健康风险评价 董捷, 黄莹, 李永霞, 张厚勇, 高甫威 (3540)

红壤剖面重金属分布特征及对有机碳响应 贾广梅, 马玲玲, 徐殿斗, 成杭新, 周国华, 杨国胜, 罗敏, 路雨楠, 刘志明 (3547)

外源锌刺激水稻对土壤镉的累积效应 辜娇峰, 杨文骏, 周航, 张平, 彭佩钦, 廖柏寒 (3554)

改性生物炭材料对稻田原状和外源镉污染土钝化效应 杨兰, 李冰, 王昌全, 刘倾城, 张庆冲, 肖瑞, 李一丁 (3562)

生物淋滤联合类 Fenton 反应去除污染土壤中重金属的效果 周普雄, 严颀, 余震, 王跃强, 朱艺, 周顺桂 (3575)

长期石油污染对盐碱化土壤中微生物群落分子生态网络的影响 赵慧慧, 肖娴, 裴孟, 赵远, 梁玉婷 (3582)

应用 PLFA 法分析氮沉降对缙云山马尾松林土壤微生物群落结构的影响 曾清苹, 何丙辉 (3590)

三江平原不同退化阶段小叶章湿地土壤真菌群落结构组成变化 隋心, 张荣涛, 许楠, 刘赢男, 柴春荣, 王继丰, 付晓玲, 钟海秀, 倪红伟 (3598)

外源氮、硫添加对闽江河口湿地 CH₄、CO₂ 排放的短期影响 胡敏杰, 任鹏, 黄佳芳, 仝川 (3606)

模拟条件下侵蚀-沉积部位土壤 CO₂ 通量变化及其影响因素 杜兰兰, 王志齐, 王蕊, 李如剑, 吴得峰, 赵慢, 孙棋棋, 高鑫, 郭胜利 (3616)

太原晋祠地区果园土壤呼吸的年际变化及其温度敏感性 严俊霞, 郝忠, 荆雪镡, 李洪建 (3625)

生物炭对壤土土壤温室气体及土壤理化性质的影响 王月玲, 耿增超, 王强, 尚杰, 曹胜磊, 周凤, 李鑫, 刘福义, 张萍 (3634)

氮沉降对臭氧胁迫下青杨光合特性和生物量的影响 辛月, 尚博, 陈兴玲, 冯兆忠 (3642)

冠层辐射温度对冬小麦生态系统碳通量的影响 李洪建, 杨艳, 严俊霞 (3650)

堆肥过程水溶性有机物组成和结构演化研究 李丹, 何小松, 席北斗, 高如泰, 张慧, 黄彩虹, 党秋玲 (3660)

酸碱改性活性炭及其对甲苯吸附的影响 刘寒冰, 杨兵, 薛南冬 (3670)

《环境科学》征订启事 (3517) 《环境科学》征稿简则 (3561) 信息 (3289, 3321, 3422)

共生细菌对盐生小球藻富集和转化砷酸盐的影响

许平平¹, 刘聪¹, 王亚¹, 郑燕恒¹, 张春华^{2*}, 葛滢^{1*}

(1. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省海洋生物学重点实验室, 南京 210095; 2. 南京农业大学生命科学实验中心, 元素与生命科学示范实验室, 南京 210095)

摘要: 藻菌共生体系在污水处理和环境修复等方面具有良好的应用前景. 为探讨共生细菌对小球藻富集和转化砷酸盐 [As(V)] 的影响, 本研究采用批次培养实验, 设置 0 ~ 750 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V), 暴露 7 d 后测定无菌和带菌的盐生小球藻 (*Chlorella salina*) 对砷的吸收、吸附和形态转化. 小球藻的共生细菌经分离、培养与 16S rRNA 鉴定, 确定为盐单胞菌 (*Halomonas* sp.). 该菌存在时, 小球藻细胞对砷的吸附显著增加, 但对砷的吸收显著降低, 从而降低了 As(V) 对小球藻的毒性效应. 无菌和带菌小球藻胞内的砷形态均以 As(V) 为主; 前者 As(III) 的比例为 8.99% ~ 11.52%, 后者则检测到少量的一甲基砷 (MMA) 和二甲基砷 (DMA) (0.02% ~ 0.04%). 盐单胞菌单独培养时, 培养液中的砷以 As(III) 为主要形态, As(V) 所占比例为 7.59% ~ 26.80%, 表明该细菌具有较强的砷酸盐还原能力. 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后, 带菌小球藻对溶液中砷的去除率为 19.81% ~ 41.08%, 高于盐单胞菌 (5.14% ~ 14.62%) 和无菌小球藻 (14.98% ~ 21.08%) 的去除率. 共生的盐单胞菌促进了盐生小球藻对砷的富集, 表明藻菌共生可增强砷污染水体的生物修复效果.

关键词: 小球藻; 共生细菌; 砷酸盐; 吸收; 吸附; 形态

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)09-3438-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.2016.09.023

Effects of a Symbiotic Bacterium on the Accumulation and Transformation of Arsenate by *Chlorella salina*

XU Ping-ping¹, LIU Cong¹, WANG Ya¹, ZHENG Yan-heng¹, ZHANG Chun-hua^{2*}, GE Ying^{1*}

(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biology, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Laboratory Centre of Life Science, Demonstration Laboratory of Elements and Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Algae-bacteria consortia may be potentially applied in wastewater treatment and environment remediation. In this study, in order to investigate effects of a symbiotic bacterium on the accumulation and transformation of arsenate [As(V)] by *Chlorella salina*, we used batch cultures to determine the uptake, adsorption and transformation of As by axenic and non-axenic *C. salina* exposed to 0-750 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) for 7 d. The symbiotic bacterium of *C. salina* was confirmed to be *Halomonas* sp. after isolation, cultivation and 16S rRNA identification. The bacterial presence markedly increased the adsorption of As in *C. salina*, but it markedly reduced the absorption and the toxic effect of As(V). Arsenate was the major arsenic species in the cells of axenic and non-axenic *C. salina*. The proportion of arsenite [As(III)] was 8.99% - 11.52% in the axenic microalga whereas a small quantity of monomethylarsonous acid (MMA) and dimethylarsonous acid (DMA) (0.02% - 0.04%) were detected in the non-axenic counterpart. As(III) dominated the As speciation in the bacterial culture and the percentage of As(V) was 7.59% - 26.80%, indicating that this symbiotic bacterium had a strong As(V) reducing ability. The As removal rate (19.81% - 41.08%) by non-axenic *C. salina* was higher than the bacterium alone (5.14% - 14.62%) and axenic *C. salina* (14.98% - 21.08%) after 7 d As(V) exposure. The symbiotic *Halomonas* sp. promoted the accumulation of As by *C. salina*, indicating that algae-bacteria consortia might enhance the bioremediation of As contaminated water.

Key words: *Chlorella salina*; symbiotic bacteria; arsenate; uptake; adsorption; speciation

砷是一种有毒的类金属元素. 由于矿山开采、金属冶炼、农药施用等过程中的不合理排放, 大量含砷化合物进入环境, 造成水体砷污染, 印度、智利、阿根廷等 20 余个国家均报道过饮水砷中毒事件^[1,2]. 不仅如此, 环境中的砷还可通过食物链对人类健康造成危害, 砷污染已成为全球非常突出且急需解决的环境问题之一^[3].

微藻是广泛存在于环境中的一类单细胞生物. 微藻细胞比表面积大, 对砷的富集能力比较强, 在处

理砷污染废水方面具有较大潜力^[4,5]. 有研究表明, 砷酸盐 [As(V)] 是水环境中砷的主要形态, 微藻通过磷酸盐转运蛋白吸收 As(V), 然后在胞内还原为亚砷酸盐 [As(III)], As(III) 的代谢包括甲基化^[5~8]、外

收稿日期: 2016-03-02; 修订日期: 2016-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41371468, 31400450); 中央高校基本科研业务费项目 (KJQN201533)

作者简介: 许平平 (1991 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境污染控制及生物修复, E-mail: 2013103010@njau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: chunhua@njau.edu.cn; yingge711@njau.edu.cn

排^[9-11]、合成砷糖或砷脂^[12,13]及与巯基物质如谷胱甘肽(GSH)、植物螯合素(PCs)等的结合^[14]。

在自然环境中,微藻常与其他微生物共生^[15]。然而微藻对砷的富集和解毒过程如何受到共生微生物的影响还存在不同的结果。例如,王亚等^[16]发现,共生的芽孢杆菌(*Bacillus solisalci*)影响了盐藻(*Dunaliella salina*)对砷的代谢途径,1.875~7.5 mg·L⁻¹ As(Ⅲ)暴露 13 d 后,带菌盐藻以 As(Ⅲ)氧化和甲基化为主,无菌盐藻则只有 As(Ⅲ)氧化,不存在甲基砷。Duncan 等^[17]研究表明,2 μg·L⁻¹ As(V)暴露 3 d 后,添加外源细菌和无菌的盐藻(*Dunaliella tertiolecta*)细胞内砷形态差异不显著;细菌对盐藻砷代谢没有明显影响。这说明共生细菌影响微藻砷吸收和转化的具体机制还需要深入研究^[18]。

小球藻属于绿藻门、绿球藻目、小球藻科,在自然界分布极广,对环境适应能力强^[19]。国内外已对小球藻砷的毒性及代谢开展了不少研究,例如李妍丽等^[20]和 Levy 等^[21]研究了 As(Ⅲ)和 As(V)等不同形态的砷对小球藻的毒性。Murray 等^[12]、Maeda 等^[22]和 Knauer 等^[23]研究了小球藻对不同形态砷的吸收、外排等代谢过程。Murray 等^[12]和 Levy 等^[21]的研究表明,在不同浓度 As(V)暴露 3 d,淡水小球藻比如 *Chlorella vulgaris* 和 *Chlorella* sp. 细胞内的砷以 As(V)为主要形态,As(Ⅲ)所占比例为 1%~6%。Karadjova 等^[24]以盐生小球藻(*Chlorella salina*)为供试材料,发现在 750 μg·L⁻¹ As(V)暴露 3 d 后,藻细胞内的砷仍以 As(V)为主要形态,As(Ⅲ)约占胞内总砷含量的 30%。此外, Karadjova 等^[24]和 Bahar 等^[25]发现培养基中磷酸盐浓度的增加能够抑制小球藻细胞对 As(V)的吸收和还原,降低了 As(V)的毒性效应;而 Kobayashi^[26]等发现藻细胞内的磷含量对 As(V)的毒性有重要影响。但是,共生细菌是否影响小球藻对砷的吸收和代谢及磷含量的影响尚无报道。

因此,本研究从盐生小球藻中分离鉴定得到 1 株盐单胞菌(*Halomonas* sp.),通过批次培养实验,在不同浓度的 As(V)暴露 7 d 条件下,测定无菌和带菌小球藻对砷的吸收、吸附、形态转化及细胞内的磷含量,分析共生细菌对小球藻吸收、吸附和转化 As(V)的影响,探讨可能的影响机制,通过明确藻菌共生在砷的生物地球化学循环中的作用,以期对砷污染的生物修复提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 藻种和培养条件

盐生小球藻(*Chlorella salina*)购自山东青岛中国科学院海洋生物种质库。培养条件为:f/2 培养基^[27],使用 20 mmol·L⁻¹的 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)控制 pH 为 8.0±0.2^[28],121℃ 高压蒸汽灭菌 30 min;培养温度(25±1)℃,光照强度为 3 500~4 000 lx,光照明暗比 12 h:12 h;小球藻初始细胞密度为 5×10⁶ cells·mL⁻¹,培养期间每天定时摇动 3 次。

1.2 共生细菌的分离、培养与 16S rRNA 鉴定

通过平板划线法分离小球藻培养液中的共生细菌,30℃ 条件下避光倒置培养,72 h 后只观察到一种菌落形态。挑取单菌落于 LB 液体培养基中摇床培养。

共生细菌通过 16S rRNA 序列测定进行鉴定。使用试剂盒(TIANamp Bacteria DNA Kit)提取细菌基因组 DNA,按照说明书操作步骤进行。PCR 扩增所用引物为:27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3')^[29]。扩增条件为:94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 30 s,58℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 90 s,30 个循环后 72℃ 延伸 5 min。对扩增产物进行电泳,结果显示产物全长约为 1.5 kbp,说明扩增产物符合要求。将 PCR 扩增产物回收后进行 DNA 片段测序。将获得序列与 NCBI 上已有序列进行 Blastn 比对,获得相似性高的细菌种属。选取有代表性的菌株,根据 16S rRNA 基因序列进行序列比对,使用 MEGA6.0 软件的邻接法(Neighbor Joining Method)构建共生细菌的系统发育树(步长值为 1 000)。

1.3 无菌小球藻的获取和检验

为获得无菌小球藻,向带菌小球藻中分别添加氨苄青霉素、硫酸卡那霉素和庆大霉素母液,终浓度分别为 300、300 和 100 μg·mL⁻¹,相同浓度连续混合处理 3 次,每次处理间隔 2 d,培养 1~2 代以消除抗生素对小球藻的不良影响。使用 LB 平板划线法检验除菌效果,若平板上无菌落形成,则可认为小球藻培养液中不存在可培养的细菌。收集处于对数生长中期的无菌和带菌小球藻样品,进行扫描电镜(Scanning Electron Microscopy, SEM, LEO1530VP)的观察。

1.4 小球藻对 As(V)的富集和形态转化

将生长至对数中期的无菌和带菌小球藻分别接

种至新的培养基,于 250 mL 锥形瓶分装 100 mL 藻液,分别加入 1000 mg·L⁻¹ 的 As(V) 母液(以 Na₃AsO₄·12H₂O 配制) 7.5、15、30 和 75 μL, As(V) 浓度分别为 1、2、4、10 μmol·L⁻¹(即 75、150、300、750 μg·L⁻¹),设置空白对照(不加 As(V) 处理),每个 As(V) 浓度设置 3 个平行. 培养 7 d 后取藻液 7500 g·min⁻¹ 离心 10 min,收集藻细胞,冷冻干燥后以测定小球藻细胞砷富集量和磷含量. 再次收集藻液,离心后舍弃上清液,加入 5 mL 1 mmol·L⁻¹ 的磷酸盐缓冲液(PBS,含 1 mmol·L⁻¹ K₂HPO₄、5 mmol·L⁻¹ MES 和 0.5 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)₂,35‰的盐度以保持渗透压平衡和细胞完整),浸泡 10 min,以去除藻细胞表面吸附的砷^[24,30]. 清洗 2 次后,离心收集藻细胞,冷冻干燥后以测定小球藻细胞砷吸收量和砷形态. 小球藻砷吸附量计算公式为:砷吸附量 = 砷富集量 - 砷吸收量.

为检测培养过程中非生物因素对 As(V) 形态的影响,以不加无菌和带菌小球藻,加入 1、2、4、10 μmol·L⁻¹ As(V) 的 f/2 培养基为试剂空白,放置于同等培养条件下,7 d 后收集培养液检测砷形态. 结果表明,As(III) 含量低于检出限,说明整个培养期内 As(V) 形态稳定.

1.5 小球藻生物量的测定

选取若干塑料离心管,编号后称重并记录. 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,离心收集无菌和带菌小球藻,冷冻干燥至恒重(24 h)后称重. 使用差减法计算无菌和带菌小球藻的生物量. 同时将未收集藻液的离心管同批次冷冻干燥,以避免离心管水分造成的误差.

1.6 小球藻总砷和总磷含量的测定

称取约 0.01 g 冷冻干燥的藻样,加入 2 mL 混酸(HNO₃ 与 HClO₄,4:1 体积比),静置过夜. 使用重金属消解仪(Hanon SH230N) 120℃ 电热消解. 采用氢化物发生-双道原子荧光光度计(HG-AFS,北京吉天 AFS-9130)测定总砷含量^[31]. 总磷含量使用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, Perkin Elmer Optima 8000)测定.

总砷和总磷的测定以标准物质米粉(NIST-SRM 1568b)进行方法检验,并以同批次不加砷的藻样为空白进行加标回收实验. 米粉总砷和总磷测定结果分别为(0.258 ± 0.024) mg·kg⁻¹、(1646 ± 15) mg·kg⁻¹,标准值分别为(0.285 ± 0.014) mg·kg⁻¹、(1530 ± 40) mg·kg⁻¹,回收率分别为 90.53% 和

107.58%;空白样品加砷 10.0 μg·L⁻¹,测得值为 10.3 μg·L⁻¹. 说明消解方法可靠,不存在明显的系统误差.

1.7 砷形态的测定

为分析藻细胞中砷形态,向藻样中加入 2 mL 0.28 mol·L⁻¹ HNO₃,90℃ 超声 10 min 后 14000 g·min⁻¹ 离心 10 min,重复提取 3 次,上清液合并后定容至 10 mL. 定容后的样品及培养液样品用 0.22 μm 滤膜过滤,同时配制不同形态砷[As(V)、As(III)、一甲基砷(MMA)、二甲基砷(DMA)]的混合标准溶液. 样品及标准溶液过阴离子交换柱(Hamilton PRP-X100),采用高效液相色谱-氢化物发生-原子荧光光度计(HPLC-HG-AFS,北京吉天 SA-10)测定. 检测条件如下^[31]:流动相为 17.5 mmol·L⁻¹ 磷酸氢二铵(pH = 6.1),等度洗脱;进样体积 100 μL;载流:5% 盐酸;还原剂:1.5% 硼氢化钾 + 0.5% 氢氧化钾;屏蔽气:700 mL·min⁻¹;载气:Ar,600 mL·min⁻¹;光电倍增管电压:270 V;灯电流:100 mA.

分析小球藻细胞总砷和各砷形态总和的数据可算出砷形态提取效率,无菌小球藻为 92.9% ~ 108.0%,带菌小球藻为 87.2% ~ 104.9%,说明提取方法可靠.

1.8 共生细菌对 As(V) 的形态转化

挑取共生菌单菌落接种于 f/2 培养基(含 10 g·L⁻¹ 葡萄糖,下同),摇床 150 r·min⁻¹、30℃ 培养 2 d. 将细菌悬液离心后接种至新的 f/2 培养基,细菌细胞初始 D₆₀₀(600 nm 处吸光值)为 0.01,As(V) 暴露浓度分别为 1、2、4、10 μmol·L⁻¹,每个 As(V) 浓度下设 3 个平行. 培养条件同小球藻,7 d 后 9000 g·min⁻¹ 离心 5 min,收集上清液,采用前述 HPLC-HG-AFS 的条件测定培养液砷形态及含量.

1.9 数据处理

实验数据均以 3 次重复的平均值 ± 标准偏差来表示,采用 Microsoft Excel 2010 和 Sigma Plot 12.5 进行数据分析与绘图,使用 SPSS 20.0 进行方差分析(LSD, P < 0.05).

2 结果与分析

2.1 小球藻共生菌的分离与鉴定

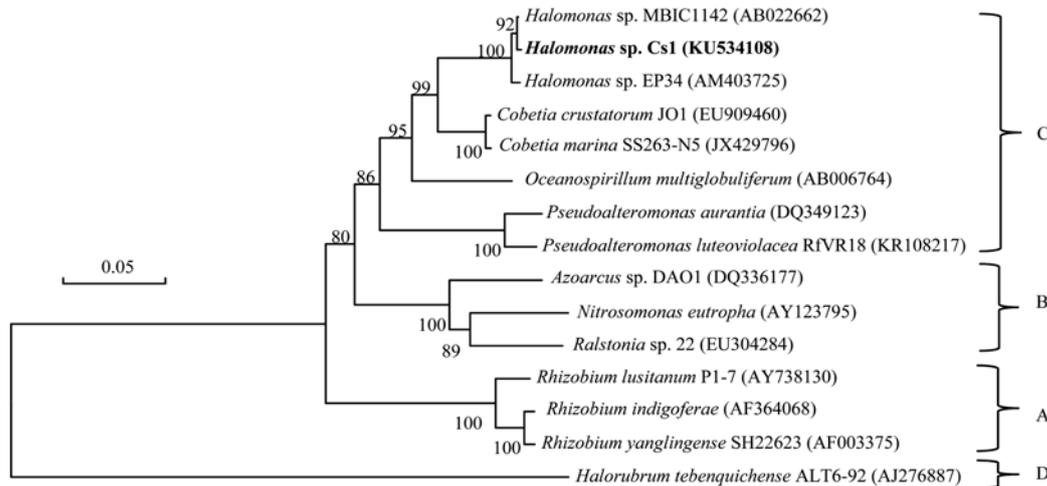
从盐生小球藻中分离得到 1 株共生细菌,通过 16S rRNA 序列测定,将得到 16S rRNA 基因序列与 NCBI 核苷酸序列 Blast 比对后,结果显示该菌株与 *Halomonas* sp. 相似性为 99%,属于盐单胞菌属细

菌,命名为 *Halomonas* sp. Cs1. 基于 16S rRNA 基因序列,对菌株 *Halomonas* sp. Cs1 构建的系统进化树如图 1,说明该细菌属于 γ -变形菌.

2.2 无菌和带菌小球藻的 SEM 图像

从电镜图片(图 2)可以看出,无菌小球藻中

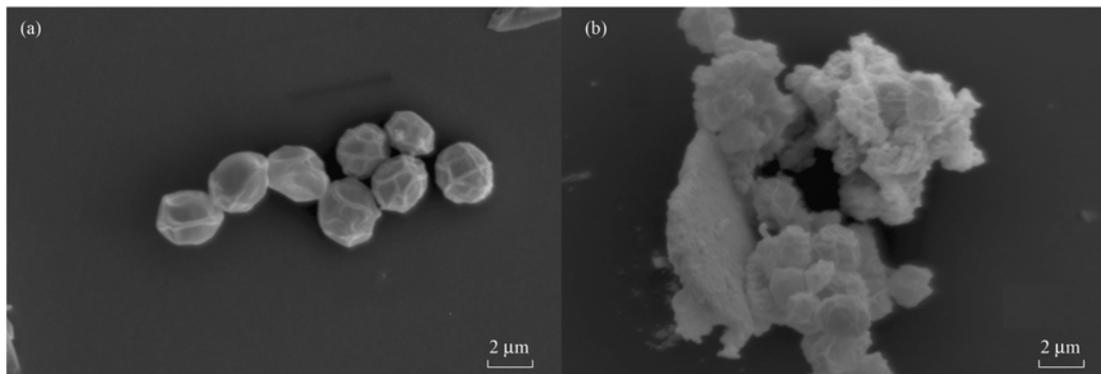
观察不到细菌,小球藻呈单细胞、胞外聚合物(EPS)很少;而带菌小球藻中,藻细胞分泌大量 EPS,形成密集的团聚体. 两者差异说明,共生细菌改变了小球藻的表面性质,增加了藻细胞的絮凝程度.



节点处数字表示邻接数据集基于1 000次重复的步长值,标尺表示 16S rRNA 序列 5% 的差异; A: α -变形菌,B: β -变形菌,C: γ -变形菌,D:古菌

图 1 基于 16S rRNA 基因序列,菌株 *Halomonas* sp. Cs1 (Accession number: KU534108) 的系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain *Halomonas* sp. Cs1 (Accession number: KU534108) based on the 16S rRNA gene sequence



(a) 无菌和(b)带菌

图 2 无菌和带菌小球藻的 SEM 图像

Fig. 2 SEM images of axenic and non-axenic *C. salina*

2.3 As(V) 暴露下无菌和带菌小球藻的生物量差异

从小球藻生物量结果(表 1)可知,未加 As(V) 培养 7 d 后,无菌小球藻生物量为 26.0 mg,带菌小球藻为 26.7 mg,两者之间差异不显著($P > 0.05$). 与未加 As(V) 的小球藻相比,4 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露显著降低了无菌小球藻生物量($P < 0.05$). 表明此时无菌小球藻的生长受到抑制,As(V) 产生毒性.

与空白对照相比,1 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露未对带菌小球藻生物量产生显著影响($P > 0.05$). 在 2 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露下,带菌小球藻生物

表 1 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后无菌和带菌小球藻的生物量¹⁾

Table 1 Biomass of axenic and non-axenic <i>C. salina</i> after 7 d exposure to different concentrations of As(V)		
As(V) 暴露浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	无菌小球藻生物量 /mg	带菌小球藻生物量 /mg
0	26.0 \pm 2.6aB	26.7 \pm 0.5aA
1	33.2 \pm 1.6aA	26.5 \pm 2.4bA
2	23.9 \pm 4.1bBC	31.8 \pm 1.8aA
4	20.6 \pm 1.5bC	30.6 \pm 6.2aA
10	21.2 \pm 2.1bC	30.1 \pm 1.1aA

1) 生物量均以 100 mL 藻液干重计; 不同字母表示处理之间差异显著($P < 0.05$, LSD); 小写字母表示无菌小球藻和带菌小球藻的比较,大写字母表示不同 As(V) 浓度之间的比较

量显著高于无菌小球藻 ($P < 0.05$). 表明带菌有利于小球藻的生长繁殖,且降低了 $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 的毒性.

2.4 无菌和带菌小球藻对 As(V) 的吸收和吸附

表 2 为在不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,无菌和带菌小球藻对砷的吸收、吸附和富集情况. 随着 As(V) 暴露浓度的增加,无菌和带菌小球藻对砷的吸收量、吸附量及富集量均显著增加 ($P < 0.05$). 在相同浓度 As(V) 暴露下,与无菌小球藻相比,藻菌共生体富集砷的含量显著增加 ($P < 0.05$).

不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,无菌小球藻吸附的砷为 $10.49 \sim 80.59 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,占砷总富集量的比例较低 ($27.2\% \sim 40.2\%$). $1 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露下,带菌小球藻吸附砷的含量为 $29.52 \sim 166.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,明显高于无菌小球藻 ($P < 0.05$). 表明小球藻与细菌共生显著增加对砷的吸附. 在 $2 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露 7 d,带菌小球藻胞内砷含量为 $38.24 \sim 86.16 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,显著低于无菌小球藻 ($P < 0.05$),表明共生细菌降低了小球藻对砷的吸收,从而缓解了 As(V) 的毒性和小球藻的生长抑制.

表 2 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后无菌和带菌小球藻吸收、吸附和富集砷的含量及比例¹⁾

Table 2 Amounts and proportions of absorbed, adsorbed and accumulated As by axenic and non-axenic *C. salina* after 7 d treatment to different As(V) concentrations

As(V) 暴露浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	处理	吸收/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (比例/%)	吸附/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (比例/%)	富集/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
0	无菌	nd	nd	nd
	带菌	nd	nd	nd
1	无菌	$21.99 \pm 0.25\text{bD}$ (72.8)	$10.49 \pm 3.93\text{bD}$ (27.2)	$32.48 \pm 3.69\text{bD}$
	带菌	$31.82 \pm 1.40\text{aD}$ (51.9)	$29.52 \pm 5.96\text{aD}$ (48.1)	$61.35 \pm 6.79\text{aD}$
2	无菌	$44.13 \pm 4.99\text{aC}$ (59.9)	$29.61 \pm 5.29\text{bC}$ (40.2)	$73.74 \pm 9.81\text{bC}$
	带菌	$38.24 \pm 5.91\text{bC}$ (40.2)	$56.86 \pm 15.05\text{aC}$ (59.8)	$95.11 \pm 9.67\text{aC}$
4	无菌	$96.16 \pm 6.50\text{aB}$ (66.9)	$47.56 \pm 6.25\text{bB}$ (33.1)	$143.72 \pm 12.01\text{bB}$
	带菌	$67.42 \pm 18.94\text{bB}$ (38.9)	$106.27 \pm 20.90\text{aB}$ (61.2)	$173.69 \pm 13.00\text{aB}$
10	无菌	$136.21 \pm 10.36\text{aA}$ (62.8)	$80.59 \pm 15.79\text{bA}$ (37.2)	$216.80 \pm 25.64\text{bA}$
	带菌	$86.16 \pm 6.94\text{bA}$ (34.2)	$166.01 \pm 25.76\text{aA}$ (65.8)	$251.17 \pm 29.16\text{aA}$

1) nd 表示未检出或低于方法检出限; 小写字母表示无菌小球藻和带菌小球藻的比较,大写字母表示不同 As(V) 浓度之间的比较

2.5 无菌和带菌小球藻胞内砷形态及含量

由图 3 (a) 可知,不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,无菌小球藻细胞内的砷以 As(V) 为主要形态, As(III) 占砷含量的 $8.99\% \sim 11.52\%$,并没有检测到 DMA 和 MMA 等甲基砷形态. 而带菌小球藻细胞未检测到 As(III) ,但检测到了少量的 DMA 和 MMA ($0.36 \sim 0.81 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),约占胞内砷含量的 $0.02\% \sim 0.04\%$, As(V) 所占比例约为 99.90% [图 3 (b)]. 这说明共生细菌影响了小球藻胞内砷的还原和甲基化.

2.6 无菌和带菌小球藻培养液砷形态及含量

由表 3 可知,不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,无菌和带菌小球藻对溶液中砷的去除率随 As(V) 暴露浓度的增加呈降低趋势. 无菌小球藻对砷的去除率为 $14.98\% \sim 21.08\%$,低于带菌小球藻的去除率 ($19.81\% \sim 41.03\%$). 这与小球藻富集砷的规律相对应(表 2),表明小球藻与细菌共生能够增强溶液中砷的去除.

由图 4 (a) 可知,在不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后,无菌小球藻培养液中的砷仍以 As(V) 为主要

表 3 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后无菌和带菌小球藻培养液砷浓度及去除率¹⁾

Table 3 Arsenic concentrations and removal rates in the cultures of axenic and non-axenic *C. salina* after 7 d treatment with different As(V) concentrations

As(V) 暴露浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	无菌小球藻		带菌小球藻	
	砷浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	去除率/%	砷浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	去除率/%
1	$0.79 \pm 0.01\text{a}$	21.08	$0.62 \pm 0.04\text{b}$	37.98
2	$1.68 \pm 0.04\text{a}$	16.11	$1.18 \pm 0.05\text{b}$	41.03
4	$3.27 \pm 0.05\text{a}$	18.34	$2.73 \pm 0.27\text{b}$	31.74
10	$8.50 \pm 0.19\text{a}$	14.98	$8.02 \pm 0.67\text{a}$	19.81

1) 不同字母表示处理之间差异显著 ($P < 0.05$, LSD); 小写字母表示无菌小球藻和带菌小球藻的比较

形态, 占总砷含量的 81.29% ~ 89.35%; 此外有少量的 As(III). 由于试剂空白中 As(V) 无形态改变, 表明 As(V) 的还原是由于藻细胞作用产生的, 随后被外排到培养液中, 以降低 As(III) 对细胞的毒性.

带菌小球藻在不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后, 培养液中 As(V) 为主要的砷形态, 占培养液总砷含量的 80% 以上. 除 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露外, 培养

液中均检测到 As(III) 和 DMA [图 4(b)]. 在 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 暴露下, As(III) 和 DMA 占培养液总砷含量比例最高, 分别达到 8.85% 和 9.63%. 随着 As(V) 浓度的增加, As(III) 和 DMA 含量呈增加趋势, 但占总砷含量的比例逐渐下降. 由于带菌条件细胞和培养液中均检测到 DMA [图 3(b)、图 4(b)], 推测 DMA 来源于带菌小球藻的甲基化作用, 随后被外排到培养液中.

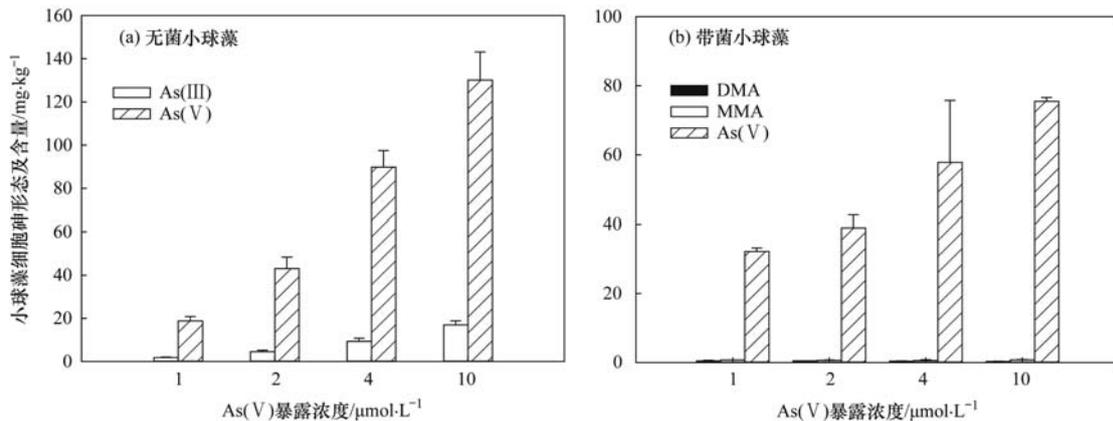


图 3 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后无菌和带菌小球藻的砷形态及含量

Fig. 3 Arsenic species and their contents in the cells of axenic and non-axenic *C. salina* after 7 d treatment with different As(V) concentrations

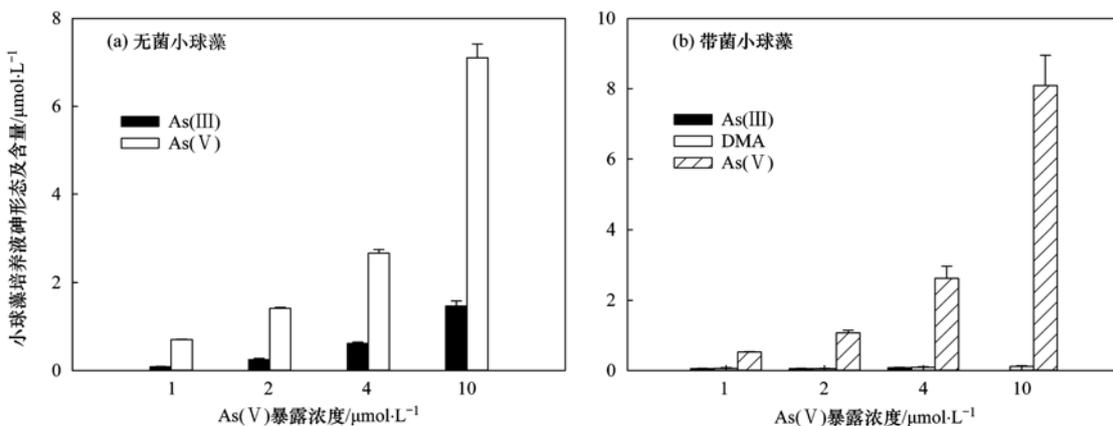


图 4 不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后无菌和带菌小球藻培养液砷形态及含量

Fig. 4 Arsenic species and concentrations in the cultures of axenic and non-axenic *C. salina* after 7 d treatment with different As(V) concentrations

2.7 共生细菌对 As(V) 的形态转化

不同浓度 As(V) 暴露 7 d 后, 共生细菌 *Halomonas* sp. Cs1 培养液 As 总量及形态 (图 5) 表明, 细菌单独培养时, 对砷的去除率较低 (5.14% ~ 14.62%), 低于带菌小球藻的去除率. 各浓度 As(V) 暴露下, 细菌培养液的砷以 As(III) 为主要形态 (73.20% ~ 92.41%), 其余为 As(V), 未检测到 DMA 等甲基砷形态. 表明 7 d 内细菌以 As(V) 还原为 As(III) 为主要解毒方式, 不存在砷甲基化

过程.

2.8 小球藻细胞磷含量

与无 As(V) 培养相比, 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) 显著增加了无菌藻细胞的磷含量 ($P < 0.05$, 表 4), 但此后随着 As(V) 浓度的增加, 细胞磷含量增加不显著 ($P > 0.05$). 不同 As(V) 浓度暴露 7 d, 带菌小球藻细胞磷含量没有显著差异 ($P > 0.05$), 但无论是否加 As(V) 处理, 带菌小球藻细胞磷含量均显著高于同浓度 As(V) 暴露下的无菌小球藻 ($P < 0.05$). 表

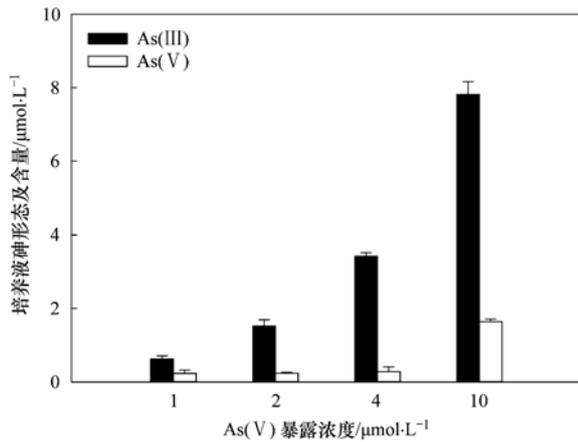


图5 不同浓度As(V)暴露7 d后共生细菌 *Halomonas sp. Cs1* 培养液砷形态及含量

Fig. 5 Arsenic species and concentrations in the cultures of the symbiotic bacterium *Halomonas sp. Cs1* after 7 d exposure with different As(V) concentrations

表4 不同浓度As(V)暴露7 d后无菌和带菌小球藻细胞磷含量¹⁾
Table 4 Phosphorus (P) content in the cells of axenic and non-axenic *C. salina* after 7 d exposure to different concentrations of As(V)

As(V) 暴露浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	无菌小球藻磷含量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	带菌小球藻磷含量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
0	5.72 ± 0.92bB	9.57 ± 0.11aA
1	5.08 ± 0.57bB	10.16 ± 0.53aA
2	7.78 ± 0.85bA	9.81 ± 0.20aA
4	8.49 ± 0.58bA	9.99 ± 0.24aA
10	7.94 ± 0.88bA	10.00 ± 0.09aA

1) 不同字母表示处理之间差异显著 ($P < 0.05$, LSD); 小写字母表示无菌小球藻和带菌小球藻的比较, 大写字母表示不同As(V)浓度之间的比较

明细菌的存在影响了小球藻对磷的代谢。

3 讨论

目前藻菌共生在城市污水脱氮除磷和有机物降解上已有较多研究^[15,32],但共生细菌对小球藻富集和转化砷的影响研究尚未见报道。本研究结果表明,1~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)暴露7 d,藻菌共生体生物量显著高于无菌小球藻(表1; $P < 0.05$)。表明共生细菌能够降低As(V)的毒性,有利于小球藻的生长繁殖。这与Levy等^[33]研究结果相似。他们的研究表明,在室内72 h毒性试验中,与无菌条件相比,培养液中细菌的存在,可明显降低Cu对小球藻的毒性。Ma等^[34]的研究也表明,细菌显著促进了藻类的生长,提高了对废水中营养物质的去除率。

本研究表明,细菌显著增加了小球藻对砷的富集($P < 0.05$),提高了对水体As(V)的去除率。

As(V)暴露7 d后,共生细菌的存在会影响小球藻对砷的吸收和吸附。在2~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)暴露7 d,无菌小球藻胞内砷含量为44.13~136.21 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表2),带菌小球藻胞内砷含量为38.24~86.16 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,显著低于无菌小球藻。而带菌增加了小球藻胞外聚合物的分泌(图2),增加了细胞表面对砷的结合位点^[35],因此导致带菌小球藻吸附的砷含量显著高于无菌小球藻(表2)。

本研究发现,As(V)对藻细胞的毒性效应与藻细胞砷含量和磷含量密切相关。王静^[36]研究表明,在培养基磷存在时,重金属胁迫会促进细胞多磷酸体合成;细胞多磷酸体可结合重金属,发挥解毒作用。本实验中2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)暴露7 d可能导致细胞多磷酸体的合成增加,细胞磷含量显著高于无As(V)处理(表4)。而细胞多磷酸体的耐受阈值和增加存在一定范围^[36],4~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)暴露时无菌小球藻细胞磷含量不再显著增加(表4),细胞砷含量显著增加(表2),As(V)表现出毒性。Wang等^[5]研究表明,As(V)的毒性与细胞砷磷比(As/P)有重要关系,带菌降低As(V)对小球藻细胞的毒性,可能与带菌小球藻细胞更低的砷含量(表2)和更高的磷含量(表4)有关。随着细胞砷含量的降低和磷含量的增加,As/P降低,藻细胞受到的生长抑制缓解,As(V)毒性降低。

砷形态检测结果表明,无菌和带菌小球藻对As(V)的代谢产物存在差异。在不同浓度As(V)暴露7 d后,无菌和带菌小球藻细胞内的砷均以As(V)为主要形态。此外,无菌小球藻细胞内As(III)比例为8.99%~11.52%,带菌小球藻细胞内则检测到少量MMA和DMA。表明共生细菌影响小球藻胞内砷的还原和甲基化。研究发现,藻细胞对As(V)的还原受到磷的显著影响。Wang等^[5]研究表明,不同浓度As(V)暴露下,无磷培养条件下莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)细胞As(III)所占比例7.85%~15.30%,显著高于正常磷时的1.00%~2.43%。Duncan等^[37]研究表明,当培养基磷为0.12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,盐藻受As(V)胁迫下细胞As(III)所占比例为26%;但3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 高磷条件下,藻细胞As(V)所占比例为99.7%。这均表明磷浓度的增加可抑制细胞内As(V)的还原。因此推测在带菌小球藻中,尽管共生细菌具有较强的砷酸盐还原能力,但由于细胞中磷含量显著高于无菌藻细胞(表4),抑制了细胞对As(V)的还原,使得带菌小球藻细胞仍以As(V)为主要形态,而甲基砷产

生的原因还需进行进一步研究.

4 结论

(1) 共生细菌显著增加了盐生小球藻细胞对砷的吸附和胞内磷含量, 显著降低了对砷的吸收, 从而降低As(V)的毒性效应, 促进了小球藻的生长.

(2) 无论是否存在细菌, 盐生小球藻胞内砷形态均以As(V)为主. 但共生细菌影响了小球藻胞内As(V)的还原和甲基化, 无菌小球藻细胞As(III)比例约为10%, 而带菌小球藻细胞内检测到少量MMA和DMA.

(3) 带菌小球藻砷去除率为19.81%~41.08%, 高于无菌小球藻(14.98%~21.08%) 和盐单胞菌(5.14%~14.62%), 表明藻菌共生提高了溶液中砷的去除率.

参考文献:

- [1] Xie W Y, Su J Q, Zhu Y G. Arsenite oxidation by the phyllosphere bacterial community associated with *Wolffia australiana* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48** (16): 9668-9674.
- [2] Mandal B K, Suzuki K T. Arsenic round the world; a review [J]. *Talanta*, 2002, **58**(1): 201-235.
- [3] 张兵, 王利红, 徐玉新, 等. 集胞藻 (*Synechocystis* sp. PCC6803) 对砷吸收转化特性的初步研究 [J]. *生态毒理学学报*, 2011, **6**(6): 629-633.
- [4] Vithanage M, Dabrowska B B, Mukherjee A B, *et al.* Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2012, **10** (3): 217-224.
- [5] Wang N X, Li Y, Deng X H, *et al.* Toxicity and bioaccumulation kinetics of arsenate in two freshwater green algae under different phosphate regimes [J]. *Water Research*, 2013, **47**(7): 2497-2506.
- [6] Wang Z H, Luo Z X, Yan C Z. Accumulation, transformation, and release of inorganic arsenic by the freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, **20**(10): 7286-7295.
- [7] Zhang S Y, Sun G X, Yin X X, *et al.* Biomethylation and volatilization of arsenic by the marine microalgae *Ostreococcus tauri* [J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(1): 47-53.
- [8] Yin X X, Wang L H, Duan G L, *et al.* Characterization of arsenate transformation and identification of arsenate reductase in a green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, **23**(7): 1186-1193.
- [9] 张思宇, 孙国新, 贾炎. 海洋真核微藻 *Ostreococcus tauri* 对砷的解毒机制研究 [J]. *环境科学学报*, 2013, **33**(10): 2879-2884.
- [10] Zhang S, Rensing C, Zhu Y G. Cyanobacteria-mediated arsenic redox dynamics is regulated by phosphate in aquatic environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **48**(2): 994-1000.
- [11] Rahman M A, Hassler C. Is arsenic biotransformation a detoxification mechanism for microorganisms? [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, **146**: 212-219.
- [12] Murray L A, Raab A, Marr I L, *et al.* Biotransformation of arsenate to arsenosugars by *Chlorella vulgaris* [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 2003, **17**(9): 669-674.
- [13] Duncan E G, Maher W A, Foster S D, *et al.* Influence of culture regime on arsenic cycling by the marine phytoplankton *Dunaliella tertiolecta* and *Thalassiosira pseudonana* [J]. *Environmental Chemistry*, 2013, **10**(2): 91-101.
- [14] Jiang Y, Purchase D, Jones H, *et al.* Technical note: effects of arsenate (As⁵⁺) on growth and production of Glutathione (GSH) and Phytochelatins (PCs) in *Chlorella Vulgaris* [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2011, **13**(8): 834-844.
- [15] Borde X, Guieysse B, Delgado O, *et al.* Synergistic relationships in algal-bacterial microcosms for the treatment of aromatic pollutants [J]. *Bioresource Technology*, 2003, **86**(3): 293-300.
- [16] 王亚, 张春华, 王淑, 等. 带菌盐藻对不同形态砷的富集和转化研究 [J]. *环境科学*, 2013, **34**(11): 4257-4265.
- [17] Duncan E G, Maher W A, Foster S D, *et al.* The influence of bacteria on the arsenic species produced by laboratory cultures of the marine phytoplankton *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2014, **26**(5): 2129-2134.
- [18] Duncan E G, Maher W A, Foster S D. Contribution of arsenic species in unicellular algae to the cycling of arsenic in marine ecosystems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49** (1): 33-50.
- [19] 陈峰, 姜悦. 微藻生物技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 52.
- [20] 李妍丽, 柯林. As(III)和As(V)对小球藻 (*Chlorella* sp.) 的生长影响研究 [J]. *环境科学与技术*, 2012, **35**(12): 61-64, 70.
- [21] Levy J L, Stauber J L, Adams M S, *et al.* Toxicity, biotransformation, and mode of action of arsenic in two freshwater microalgae (*Chlorella* sp. and *Monoraphidium arcuatum*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, **24**(10): 2630-2639.
- [22] Maeda S, Kusadome K, Arima H, *et al.* Uptake and excretion of total inorganic arsenic by the freshwater alga *Chlorella vulgaris* [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 1992, **6**(4): 399-405.
- [23] Knauer K, Hemond H. Accumulation and reduction of arsenate by the freshwater green alga *Chlorella* sp. (Chlorophyta) [J]. *Journal of Phycology*, 2000, **36**(3): 506-509.
- [24] Karadjova I B, Slaveykova V I, Tsalev D L. The biouptake and toxicity of arsenic species on the green microalga *Chlorella salina* in seawater [J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, **87**(4): 264-271.
- [25] Bahar M M, Megharaj M, Naidu R. Influence of phosphate on toxicity and bioaccumulation of arsenic in a soil isolate of microalga *Chlorella* sp. [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**(3): 2663-2668.
- [26] Kobayashi I, Fujiwara S, Shimogawara K, *et al.* High intracellular phosphorus contents exhibit a correlation with arsenate resistance in *Chlamydomonas mutants* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2005, **46**(3): 489-496.
- [27] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic

- diatoms: i. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, **8** (2): 229-239.
- [28] Bai X, Lant P, Pratt S. The contribution of bacteria to algal growth by carbon cycling [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2015, **112**(4): 688-695.
- [29] Weisburg W G, Barns S M, Pelletier D A, *et al.* 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study [J]. *Journal of Bacteriology*, 1991, **173**(2): 697-703.
- [30] Abedin M J, Feldmann J, Meharg A A. Uptake kinetics of arsenic species in rice plants [J]. *Plant Physiology*, 2002, **128** (3): 1120-1128.
- [31] 王亚, 张春华, 申连玉, 等. 高效液相色谱/氢化物发生-原子荧光光谱法检测微藻中的砷形态 [J]. *分析科学学报*, 2014, **30**(1): 21-25.
- [32] Lee C S, Lee S A, Ko S R, *et al.* Effects of photoperiod on nutrient removal, biomass production, and algal-bacterial population dynamics in lab-scale photobioreactors treating municipal wastewater [J]. *Water Research*, 2015, **68**: 680-691.
- [33] Levy J L, Stauber J L, Wakelin S A, *et al.* The effect of bacteria on the sensitivity of microalgae to copper in laboratory bioassays [J]. *Chemosphere*, 2009, **74**(9): 1266-1274.
- [34] Ma X C, Zhou W G, Fu Z Q, *et al.* Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system [J]. *Bioresource Technology*, 2014, **167**: 8-13.
- [35] Levy J L, Stauber J L, Wakelin S A, *et al.* The effect of field-collected biofilms on the toxicity of copper to a marine microalga (*Tetraselmis* sp.) in laboratory bioassays [J]. *Marine and Freshwater Research*, 2011, **62**(12): 1362-1372.
- [36] 王静. 铜绿微囊藻中砷的代谢与生物效应 [D]. 天津: 天津大学, 2012. 46-54.
- [37] Duncan E G, Maher W A, Foster S D, *et al.* The influence of arsenate and phosphate exposure on arsenic uptake, metabolism and species formation in the marine phytoplankton *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Marine Chemistry*, 2013, **157**: 78-85.

CONTENTS

Temporal and Spatial Variation of Haze Pollution over China from 1960 to 2013	FU Chuan-bo, TANG Jia-xiang, DAN Li, <i>et al.</i>	(3237)
Concentrations and Size Distributions of Water-soluble Inorganic Ions in Aerosol Particles in Taiyuan, Shanxi	WANG Lu, WEN Tian-xue, MIAO Hong-yan, <i>et al.</i>	(3249)
Characteristics of the Size Distribution of Water Soluble Inorganic Ions During a Typical Haze Pollution in the Autumn in Shijiazhuang	LIU Jing-yun, LIU Zi-rui, WEN Tian-xue, <i>et al.</i>	(3258)
Variation of Size Distribution and the Influencing Factors of Aerosol in Northern Suburbs of Nanjing	WU Dan, CAO Shuang, TANG Li-li, <i>et al.</i>	(3268)
Characteristics of Black Carbon Aerosol and Influencing Factors in Northern Suburbs of Nanjing	XIAO Si-han, YU Xing-na, ZHU Bin, <i>et al.</i>	(3280)
Characteristics of Speciated Atmospheric Mercury in Chongming Island, Shanghai	LI Shu, GAO Wei, WANG Shu-xiao, <i>et al.</i>	(3290)
Total Gaseous Mercury and Mercury Emission from Natural Surface at One Typical Agricultural Region in Three Gorges Reservoir	WANG Yong-min, ZHAO Zheng, SUN Tao, <i>et al.</i>	(3300)
Variation Characteristics and Sources Analysis of Atmospheric Volatile Organic Compounds in Changbai Mountain Station	WU Fang-kun, SUN Jie, YU Ye, <i>et al.</i>	(3308)
Characterization of Particle Size Distributions of the No-organized Lead Emission for a Lead and Zinc Smelter	LIU Da-jun, WANG Jia-quan	(3315)
Hydrochemical Characteristics and Sources of Ions in Precipitation at the East Qilian Mountains	JIA Wen-xiong, LI Zong-xing	(3322)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Vanadium in Sediments of the Three Gorges Reservoir (Chongqing-Yichang Section)	GUO Wei, YIN Shu-hua, XU Jian-xin, <i>et al.</i>	(3333)
Distributions of Arsenic Species in Different Eutrophic Waters of Lake Taihu and Their Relations to Environmental Factors	CHE Fei-fei, WANG Da-peng, ZHEN Zhuo, <i>et al.</i>	(3340)
Spatial, Temporal Distribution Characteristics and Potential Risk of PPCPs in Surface Sediments from Taihu Lake	ZHANG Pan-wei, ZHOU Huai-dong, ZHAO Gao-feng, <i>et al.</i>	(3348)
Distribution Characteristics and Source Identification of Organochlorine Pesticides in the Karst Groundwater System	ZHANG Mei, SUN Yu-chuan, XIE Zheng-lan, <i>et al.</i>	(3356)
Comparison on the Hydrogeochemical Characteristics of Typical Karst Groundwater System in Southwest China, a Case of Qingmuguan and Laolongdong in Chongqing	ZHAN Zhao-jun, CHEN Feng, YANG Ping-heng, <i>et al.</i>	(3365)
Fractions and Release Risk of Phosphorus in Surface Sediments of Three Headwater Streams with Different Styles of Water Supply	LI Ru-zhong, QIN Ru-bin, HUANG Qing-fei, <i>et al.</i>	(3375)
Vertical Variation of Phosphorus Forms in Lake Dianchi and Contribution to Release	LI Le, WANG Sheng-rui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i>	(3384)
Analysis of Distribution Characteristics and Source of Dissolved Organic Matter from Zhoucun Reservoir in Summer Based on Fluorescence Spectroscopy and PARAFAC	HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, ZHANG Chun-hua, <i>et al.</i>	(3394)
Absorption and Reflection Characteristics of Black Water Blooms in the Eutrophic Water	ZHANG Si-min, LI Yun-mei, WANG Qiao, <i>et al.</i>	(3402)
Assessment of Ecosystem Health of Baogang Tailings Groundwater Based on Microbiome Index of Biotic Integrity (M-IBI)	AN Xin-li, CHEN Ting-ting, ZHAO Han, <i>et al.</i>	(3413)
Relationship Between Landscape Pattern and Spatial Variation of Heavy Metals in Aquatic Sediments in Headwaters Area of Yuqiao Reservoir	WANG Zu-wei, WANG Yi-wei, HOU Ying-ying, <i>et al.</i>	(3423)
Effect of Constructed Wetland Configuration on the Removal of Nitrogen Pollutants and Antibiotics in Aquaculture Wastewater	LIU Jia, YI Nai-kang, XIONG Yong-jiao, <i>et al.</i>	(3430)
Effects of a Symbiotic Bacterium on the Accumulation and Transformation of Arsenate by <i>Chlorella salina</i>	XU Ping-ping, LIU Cong, WANG Ya, <i>et al.</i>	(3438)
Effects of Nitrate in Water on the Growth of <i>Iris pseudacorus</i> L. and Its Adsorption Capacity of Nitrogen in a Simulated Experiment	WANG Bing, WEN Fen-xiang, XIAO Bo	(3447)
Adsorption Behavior of <i>p</i> -hydroxy Biphenyl onto Sediment of the Yellow River in Lanzhou	ZHOU Qi, JIANG Yu-feng, SUN Hang, <i>et al.</i>	(3453)
Enhanced Pollutants Removal in a Municipal Wastewater Treatment Plant with Multistage A/O Process	YIN Zi-hua, SHENG Xiao-lin, LIU Rui, <i>et al.</i>	(3460)
Performance of Nanofiltration for Improving the Drinking Water Quality in a Water Supply Plant with Micropolluted Water Resource	WU Yu-chao, CHEN Li-jun, LAN Ya-qiong, <i>et al.</i>	(3466)
Reaction Kinetics and Impacting Mechanism of Cr(VI) Removal in Fe ⁰ -PRB Systems	LU Xin, LI Miao, TANG Cui-mei, <i>et al.</i>	(3473)
Adsorption Cd ²⁺ from Solution by EDTA-modified Silicate Nanoparticles	JIANG Shun-cheng, QIN Rui, LI Man-lin, <i>et al.</i>	(3480)
Analysis and Characterization of Multi-modified Anodes via Nitric Acid and PPy/AQDS in Microbial Fuel Cells	SHEN Wei-hang, ZHU Neng-wu, YIN Fu-hua, <i>et al.</i>	(3488)
Adsorption Characteristics of Phosphorus Wastewater on the Synthetic Ferrhydrite	CUI Meng-meng, WANG Dian-sheng, HUANG Tian-yin, <i>et al.</i>	(3498)
Performance of Bio-zeolite Constructed Wetland in Dispersed Swine Wastewater Treatment	MOU Rui, SHEN Zhi-qiang, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i>	(3508)
Polyhydroxyalkanoate (PHA) Synthesis by Glycerol-based Mixed Culture and Its Relation with Oxygen Uptake Rate (OUR)	LIU Dong, ZHANG Xiao-ting, ZHANG Dai-jun, <i>et al.</i>	(3518)
Kinetics and Mechanistic Investigation of the Photocatalytic Degradation of Clothianidin	HU Qian, YANG Hai, SHI Ni, <i>et al.</i>	(3524)
Impacts of Industrial Zone in Arid Area in Ningxia Province on the Accumulation of Heavy Metals in Agricultural Soils	WANG Mei-e, PENG Chi, CHEN Wei-ping	(3532)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Surface Soils of a Large Steel enterprise in the North of China	DONG Jie, HUANG Ying, LI Yong-xia, <i>et al.</i>	(3540)
Vertical Distribution of Heavy Metals and Its Response to Organic Carbon in Red Soil Profile	JIA Guang-mei, MA Ling-ling, XU Dian-dou, <i>et al.</i>	(3547)
Provoking Effects of Exogenous Zn on Cadmium Accumulation in Rice	GU Jiao-feng, YANG Wen-tao, ZHOU Hang, <i>et al.</i>	(3554)
Effect of Modified Biochars on Soil Cadmium Stabilization in Paddy Soil Suffered from Original or Exogenous Contamination	YANG Lan, LI Bing, WANG Chang-quan, <i>et al.</i>	(3562)
Performance of Bioleaching Combined with Fenton-like Reaction in Heavy Metals Removal from Contaminated Soil	ZHOU Pu-xiong, YAN Xie, YU Zhen, <i>et al.</i>	(3575)
Effect of Long-term Oil Contamination on the Microbial Molecular Ecological Networks in Saline-alkali soils	ZHAO Hui-hui, XIAO Xian, PEI Meng, <i>et al.</i>	(3582)
Effect of Nitrogen Deposition on Soil Microbial Community Structure Determined with the PLFA Method Under the Masson Pine Forest from Mt. Jinyun, Chongqing	ZENG Qing-ping, HE Bing-hui	(3590)
Fungal Community Structure of Different Degeneration <i>Deyeuxia angustifolia</i> Wetlands in Sanjiang Plain	SUI Xin, ZHANG Rong-tao, XU Nan, <i>et al.</i>	(3598)
Short-term Effects of Nitrogen and Sulfate Addition on CH ₄ and CO ₂ Emissions in the Tidal Marsh of Min River Estuary	HU Min-jie, REN Peng, HUANG Jia-fang, <i>et al.</i>	(3606)
Variation of Soil CO ₂ Flux and Environmental Factors Across Erosion-Deposition Sites Under Simulation Experiment	DU Lan-lan, WANG Zhi-qi, WANG Rui, <i>et al.</i>	(3616)
Interannual Variations of Soil Respiration and Its Temperature Sensitivity in an Orchard in Jimci Region of Taiyuan City	YAN Jun-xia, HAO Zhong, JING Xue-kai, <i>et al.</i>	(3625)
Influence of Biochar on Greenhouse Gases Emissions and Physico-chemical Properties of Loess Soil	WANG Yue-ling, GENG Zeng-chao, WANG Qiang, <i>et al.</i>	(3634)
Effects of Elevated Ozone and Nitrogen Deposition on Photosynthetic Characteristics and biomass of <i>Populus cathayana</i>	XIN Yue, SHANG Bo, CHEN Xing-ling, <i>et al.</i>	(3642)
Effects of Canopy Temperature on Carbon Dioxide Exchange of Winter Wheat in Taiyuan Basin	LI Hong-juan, YANG Yan, YAN Jun-xia	(3650)
Composition and Evolution Characteristics of Dissolved Organic Matter During Composting Process	LI Dan, HE Xiao-song, XI Bei-dou, <i>et al.</i>	(3660)
Effects of Acidic and Basic Modification on Activated Carbon for Adsorption of Toluene	LIU Han-bing, YANG Bing, XUE Nan-dong	(3670)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

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
赵进才 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9月15日 第37卷 第9期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 9 Sep. 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	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
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	中国国际图书贸易集团有限公司 (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