

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第11期

Vol.37 No.11

**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

承德市大气污染源排放清单及典型行业对 PM<sub>2.5</sub> 的影响 ..... 陈国磊,周颖,程水源,杨孝文,王晓琦(4069)

浙江省木制品行业挥发性有机物排放特征及排放系数 ..... 姚轶,王浙明,何志桥,徐志荣,顾震宇(4080)

山西省人为源 VOCs 排放清单及其对臭氧生成贡献 ..... 闫雨龙,彭林(4086)

某化工区典型高污染过程 VOCs 污染特征及来源解析 ..... 高松,崔虎雄,伏晴艳,高爽,田新愿,方方,衣学文(4094)

加油 VOCs 排放因子测试方法研究与应用 ..... 黄玉虎,常耀卿,任碧琪,秦建平,胡玮,刘明宇(4103)

北京市生活垃圾填埋场氨排放特征研究 ..... 崔彤,李金香,杨妍研,程刚(4110)

西安市人为源大气氨排放清单及特征 ..... 苏航,闫东杰,黄学敏,宋文斌,王惠琴,宋雪娟(4117)

佛山市冬夏季非甲烷烃污染特征研究 ..... 周雪明,项萍,段菁春,贺克斌,马永亮,邓思欣,司徒淑婷,谭吉华(4124)

天津市道路环境大气颗粒物水溶性无机离子分析 ..... 赵梦雪,吴琳,方小珍,杨志文,李凤华,毛洪钧(4133)

戴云山国家级自然保护区大气氮沉降特点 ..... 袁磊,李文周,陈文伟,张金波,蔡祖聪(4142)

青岛近海冬季大气生物气溶胶中微生物活性研究 ..... 孟祥斌,李孟哲,李鸿涛,高冬梅,祁建华(4147)

玉米秸秆烟尘中正构脂肪酸的分子与碳同位素组成 ..... 刘刚,孙丽娜,徐慧,李久海,李中平,李立武(4156)

极低风速条件下水-气界面甲烷气体传输速率分析 ..... 张成,吕新彪,龙丽,张军伟,穆晓辉,李迎晨,王圣瑞,张文丽,肖尚斌(4162)

典型水库型湖泊中 CDOM 吸收及荧光光谱变化特征:基于沿岸生态系统分析 ..... 陈雪霜,江韬,卢松,白薇扬,张成,王定勇,魏世强(4168)

西苕溪支流河口水体营养盐的特征及源贡献分析 ..... 陈诗文,袁旭音,金晶,李正阳,许海燕(4179)

周村水库主库区热分层初期氮素降低的驱动因子分析 ..... 张春华,黄廷林,方开凯,周石磊,夏超(4187)

太湖湖泛易发区沉积物中有机磷形态分布特征 ..... 董丹萍,章婷曦,张丁予,王巧云,李德芳,王国祥(4194)

多重扰动对湖泊内源磷迁移转化的影响 ..... 蔡顺智,李大鹏,王忍,刘焱见,徐垚,于胜楠,黄勇(4203)

丹江口库区覆膜耕作土壤氮素淋失随夏玉米生长期的变化 ..... 王伟,于兴修,汉强,刘航,徐苗苗,任瑞,张家鹏(4212)

营养盐恢复对氮磷饥饿铜绿微囊藻生长的影响 ..... 岳冬梅,李洁,肖琳(4220)

氯灭活地下水源中3种优势真菌的效能与机制 ..... 文刚,朱红,黄廷林,赵建超,任崑,徐向前(4228)

净水工艺对饮用水中微生物多重耐药性的影响与分析 ..... 马晓琳,陆洋,王钰,侯誉,白晓慧(4235)

单过硫酸氢钾复合粉在饮用水消毒过程中的副产物生成特性及遗传毒性变化 ..... 敖秀玮,李豪杰,刘文君,余京儒(4241)

三维有序介孔 Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 非均相活化单过硫酸氢钾降解罗丹明 B ..... 冯善方,邓思萍,杜嘉雯,马晓雁,卢遇安,高乃云,邓靖(4247)

调控絮体形态强化电絮凝减缓膜污染 ..... 赵凯,杨春风,孙境求,李静,胡承志(4255)

初始 pH 值对序批式 CANON 工艺脱氮效果和 N<sub>2</sub>O 释放的影响 ..... 付昆明,王会芳,苏雪莹,周厚田(4261)

3DBER-S-Fe 同步脱氮除磷及去除邻苯二甲酸酯的工艺特性 ..... 张娅,郝瑞霞,徐鹏程,徐忠强(4268)

基于反硝化脱氮的硫铁复合填料除磷机制 ..... 范军辉,郝瑞霞,李萌,朱晚霞,万京京(4275)

基于 ABR-MBR 组合工艺优化反硝化除磷性能的研究 ..... 程朝阳,赵诗惠,吕亮,吴鹏,沈耀良(4282)

中温变化对 PN-ANAMMOX 联合工艺脱氮效果的影响 ..... 袁砚,朱亮(4289)

生物活性炭对不同 C/N 比废水同步硝化反硝化脱氮效果的影响 ..... 崔延瑞,邱鑫,张庆荣,王琦,吴青,孙剑辉(4296)

ANAMMOX 菌利用零价铁还原硝酸盐脱氮研究 ..... 周健,完颜德卿,黄勇,刘忻,袁怡,李祥,姚鹏程,杨朋兵,薛鹏程(4302)

间歇曝气 SBR 与传统 SBR 处理养猪沼液的比较研究 ..... 董宝刚,宋小燕,刘锐,川岸朋树,张永明,陈吕军(4309)

应用解蛋白菌生物预水解剩余污泥 ..... 何晶晶,王颖,胡洁,吕凡,邵立明(4317)

应用环境多介质逸度模型研究废旧电器拆解区多溴联苯醚的迁移及归趋 ..... 薛南冬,陈宣宇,杨兵,秦普丰,龙雨(4326)

南宁市多环境介质中多环芳烃分布特征 ..... 苗迎,孔祥胜(4333)

杭州城区室内灰尘中多溴联苯醚的含量及人体暴露水平 ..... 金漫彤,滕丹丹,郑艳霞,胡张璇,沈学优,金赞芳(4341)

应用线性自由能关系估算药用活性化合物的生物碳质-水吸附系数 ..... 王佳怡,毕二平(4349)

表流湿地细菌群落结构特征 ..... 魏佳明,崔丽娟,李伟,雷茵茹,于菁菁,秦鹏,穆泳林,梁钊瑞(4357)

城市污水中硝化菌群落结构与性能分析 ..... 于莉芳,杜倩倩,傅学焘,张茹,李文江,彭党聪(4366)

DNA 和 cDNA 水平对比研究施肥对稻田土壤细菌多样性的影响 ..... 王聪,吴讷,侯海军,汤亚芳,沈健林,秦红灵(4372)

培养条件下双酚 A 对稻田土壤微生物群落特征的影响 ..... 刘畅,黄雅丹,张莹,靳振江,梁月明,宋昂,王腾,郭佳怡,李强(4380)

1 株兼具好、厌氧汞甲基化能力细菌的分离鉴定 ..... 陶兰兰,向玉萍,王定勇,黄曼琳,申鸿(4389)

北京地区菜田土壤抗生素抗性基因的分布特征 ..... 张兰河,王佳佳,哈雪姣,邱孟超,高敏,仇天雷,王旭明(4395)

梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征 ..... 黄福义,安新丽,陈青林,任红云,苏建强(4402)

几种高硅质矿物细颗粒的 A549 细胞毒性对比 ..... 霍婷婷,董发勤,邓建军,张青碧,贺小春,孙东平(4410)

添加复合吸附剂对土壤吸附非和 Cr(VI) 的影响 ..... 李文斌,孟昭福,吴琼,许绍娥,刘泽(4419)

生物炭对西北黄土吸附壬基酚的影响 ..... 张振国,蒋煜峰,慕仲锋,孙航,周琦,展惠英(4428)

集雨种植下不同沟垄比对土壤呼吸的影响及其对水热因子的响应 ..... 王昌江,施成晓,冯帆,陈婷,张磊,吕晓康,王伟,廖允成(4437)

秸秆还田与化肥减量配施对稻-菜轮作下土壤养分及酶活性的影响 ..... 黄容,高明,万毅林,田冬,陶睿,王芳丽(4446)

《环境科学》征稿简则(4161) 《环境科学》征订启事(4365) 信息(4123,4132,4409)

# 培养条件下双酚 A 对稻田土壤微生物群落特征的影响

刘畅<sup>1,2,4</sup>, 黄雅丹<sup>3</sup>, 张莹<sup>1,2,4</sup>, 靳振江<sup>1,4</sup>, 梁月明<sup>2</sup>, 宋昂<sup>2</sup>, 王腾<sup>1,4</sup>, 郭佳怡<sup>1,4</sup>, 李强<sup>2\*</sup>

(1. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 桂林 541004; 2. 中国地质科学院岩溶地质研究所, 国土资源部/广西岩溶动力学重点实验室, 桂林 541004; 3. 桂林医学院研究生院, 桂林 541004; 4. 桂林理工大学广西环境污染控制理论与技术重点实验室, 桂林 541004)

**摘要:** 双酚 A (bisphenol A, BPA) 作为人工合成的典型环境激素分布极为广泛, 然而不同浓度和土壤通气条件下 BPA 对土壤微生物群落 (细菌、真菌) 特征的影响鲜见报道. 本文采用荧光定量 PCR (fluorescence quantitative PCR) 技术、聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 (polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 相结合的方法研究不同 BPA 浓度 (0、0.25、0.50、1.00、2.00 mg·kg<sup>-1</sup>) 和土壤通气条件 (有氧和厌氧) 对稻田土壤微生物群落特征的影响. 结果表明, 土壤通气条件一致情况下 (有氧条件或者厌氧条件下), 不同 BPA 浓度添加下微生物丰度指数差异显著, 而微生物均匀度指数、香农维纳多样性指数及丰富度指数差异不显著; BPA 浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup> 时, 微生物基因丰度在厌氧条件下达到最大值, 而在有氧条件下微生物基因丰度却达到最小值; 双因素方差分析表明: BPA 浓度、土壤通气条件及其交互作用对细菌基因丰度影响差异显著, 而只有土壤通气条件对真菌基因丰度影响差异显著. 结果表明相对于微生物多样性指数, 丰度指数能更加灵敏地指示土壤微生物多样性的变化, BPA 浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup> 时是影响土壤微生物基因丰度变化的一个临界值, 相对于真菌基因丰度指数而言, 细菌基因丰度指数对 BPA 添加浓度及土壤通气条件响应更加灵敏.

**关键词:** 双酚 A; 土壤微生物; 微生物群落; 多样性指数; 基因丰度

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)11-4380-09 DOI: 10.13227/j.hjcx.201604077

## Effects of Bisphenol A on Characteristics of Paddy Soil Microbial Community Under Different Cultural Conditions

LIU Chang<sup>1,2,4</sup>, HUANG Ya-dan<sup>3</sup>, ZHANG Ying<sup>1,2,4</sup>, JIN Zhen-jiang<sup>1,4</sup>, LIANG Yue-ming<sup>2</sup>, SONG Ang<sup>2</sup>, WANG Teng<sup>1,4</sup>, GUO Jia-yi<sup>1,4</sup>, LI Qiang<sup>2\*</sup>

(1. Environmental Science and Engineering College, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China; 2. Key Laboratory of Karst Dynamics, Ministry of Land and Resources & Guangxi, Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Guilin 541004, China; 3. Graduate School of Guilin Medical University, Guilin 541004, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

**Abstract:** Bisphenol A (BPA) is widely known as a typical synthetic environmental hormone. Effects of BPA concentrations and aerations on soil microbial communities were rarely reported. This paper presented the studies on effects of various concentrations of BPA (0, 0.25 mg·kg<sup>-1</sup>, 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>, 1.00 mg·kg<sup>-1</sup>, 2.00 mg·kg<sup>-1</sup>) and soil aeration (aerobic and anaerobic) on characteristics of paddy soil microbial communities by technology of qPCR (fluorescence quantitative PCR) and PCR-DGGE (polymerase chain reaction - denaturing gradient gel electrophoresis). The results lined out that: ① the microbial abundance index was significantly different among different BPA concentrations under the same condition of soil aeration (anaerobic or aerobic). However, the index of microbial evenness, Shannon-Wiener-diversity and evenness-indices were insignificantly different under these conditions. At a concentration of 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>, the microbial abundance index reached a maximum value under anaerobic conditions; while under aerobic conditions the opposite result was found, the microbial abundance index dropped to a minimum value. ②The two-way analysis of variance (ANOVA) showed that: the concentration of BPA, soil aeration and their interaction significantly affected the abundance of bacteria, whereas the abundance of fungi was only affected by soil aeration. The study results showed that: the abundance index was a sensitive indicator for the variation of soil microbial diversity; it was a critical value for the change of soil microbial abundance when the BPA concentration was 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>; as for the abundance of fungi, the response of bacteria abundance was more sensitive to BPA and soil aeration conditions.

**Key words:** bisphenol A; soil microbe; microbial community; diversity index; abundance of gene

收稿日期: 2016-04-10; 修订日期: 2016-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41361054, 41003038); 广西自然科学基金项目 (2015GXNSFGA139010, 2014GXNSFCA118012); 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科合-14123001-13); 中国地质科学院项目 (YYWF201505); 桂林市科学研究与技术开发计划项目 (20140122-1)

作者简介: 刘畅 (1989 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: liuchanggui318@sina.com

\* 通讯联系人, E-mail: glqiangli@163.com

土壤生态系统作为地球上最为庞大的“微生物仓库”,对推动生物地球化学循环过程具有重要的作用. 土壤微生物不但能够降解天然的有机物<sup>[1]</sup>,而且对于人工合成的外源有机物,在足够的时间下也能进化出相应的代谢途径和降解酶系统<sup>[2]</sup>. 外源有机物进入土壤生态系统后,土壤微生物群落将对输入的外源物质做出迅速响应,其群落特征(丰度、群落结构)发生相应变化,成为指示土壤质量变化最为灵敏的指标之一<sup>[3]</sup>,因而研究土壤微生物群落特征对外源人工合成有机物的响应在土壤质量管理中具有重要的意义.

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是一种典型的人工合成外源有机物,广泛分布于各种环境中. 作为重要的化工原料被广泛应用,全球年产量高达 750 万 t. 已有动物及人体细胞实验研究结果表明双酚 A 具有雌激素作用<sup>[4]</sup>,能通过与雌激素受体结合影响细胞信号传导途径<sup>[5]</sup>. 因此,BPA 的大量使用能够造成严重的环境污染. 目前,BPA 在水体环境介质中均被频繁检出<sup>[6]</sup>. 譬如:2012 年莱州湾 37 个站位表层沉积物中 BPA 的平均含量为  $0.66 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[7]</sup>,深圳市的 10 条主要河流调查显示 BPA 含量最高为  $6\,042 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[8]</sup>. 目前的污水处理厂出水及污泥中 BPA 检出率较高<sup>[9]</sup>,含有 BPA 的再生水排入河流后产生了污染,而土壤吸附也是 BPA 的主要去除过程<sup>[10]</sup>. 加之农田灌溉、人类活动和农业活动的影响,导致 BPA 也在土壤中开始积累,Bich 等发现法国农田土壤中 BPA 等污染物水平仅次于城市土壤<sup>[11]</sup>. Peng 等<sup>[12]</sup>通过调查发现中国某区域土壤样品中 BPA 的含量为  $25.2 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . BPA 作为一种重要的内分泌干扰物,低剂量 BPA 即可引起生物体内分泌系统失衡,有关研究者针对 BPA 在土壤中的吸附<sup>[13,14]</sup>、分布<sup>[15]</sup>、迁移转化<sup>[16,17]</sup>与降解<sup>[18~20]</sup>行为开展了相应的研究,此外部分学者还利用平板培养法探讨 BPA 对土壤中细菌、真菌、放线菌三大类微生物数量的影响,结果表明随着 BPA 含量的增加,微生物数量减少<sup>[21]</sup>.

由于平板培养法仅能培养出极少数(少于 1%)的微生物<sup>[22]</sup>,获得较少的土壤微生物信息,造成土壤微生物的群落结构及功能不能被真实地反映. 随着现代分子生物学技术的发展,土壤微生物基因组总 DNA 可被直接提取,并通过实时荧光定量 PCR 技术,分析复杂土壤环境中微生物数量的变化规律,进而克服传统平板计数法的不足.

解开治等<sup>[23]</sup>利用实时荧光定量 PCR 技术探讨

不同浓度双酚 A 污染的稻田土壤细菌群落特征,结果表明稻田土壤细菌数量显著低于未受污染的对照. 尽管该结果为深入了解 BPA 对占土壤微生物总数的 70%~90% 细菌群落<sup>[24]</sup>的毒理作用具有重要的意义,然而作者却忽视了 BPA 对逆境条件适应能力最强的土壤真菌群落的影响. 由于稻作农业存在灌溉以及排水晒田的过程,解开治等仅仅探讨了好氧(排水晒田)条件下的土壤细菌群落变化特征,而忽视了厌氧(灌溉)条件下的土壤微生物群落变化特征. 而厌氧微生物在无需提供外源能量的情况下,已被还原有机物作为受氢体来完成生物化学反应,该类微生物营养需求低,耐毒性强,可降解高分子量有机物. 因此,笔者采用实时荧光定量 PCR 与 PCR-DGGE 技术相结合的方法,探讨典型环境激素污染物——BPA 在不同浓度和土壤通气条件下对稻田土壤微生物群落特征的影响,以期评价 BPA 污染稻田土壤的环境质量以及指导稻作农业活动提供重要的理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤为典型的岩溶水稻土,采自桂林会仙岩溶湿地( $25^{\circ}06'12.9''\text{N}$ , $110^{\circ}12'7.6''\text{E}$ ,海拔:174 m). 受人类活动的影响,桂林会仙岩溶湿地不断被蚕食,水体受到不同程度的污染.

### 1.2 实验设计

因水稻种植过程中分排水晒田和灌溉两个阶段,为模拟稻田土壤微生物的生存环境,实验共设有氧、厌氧两组培养方式,每组设置 5 个处理,每个处理设置 3 个重复. 将 BPA 溶解于无菌水,配制成含量为 0(CK)、0.05、0.1、0.2、0.4  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的储备液并置于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱保存. 分别称取 200 g 土样于无菌培养瓶中,加入不同浓度的 BPA 储备液,使试样中 BPA 含量依次为 0、0.25、0.50、1.00 和  $2.00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . 有氧组为正常通风条件下培养,厌氧组在通入  $\text{CO}_2$  条件下培养. 培养 30 d 后采集土壤样品,新鲜土样用于土壤总 DNA 提取和微生物量碳、氮的分析,部分风干土样用于土壤 pH 值和可溶性有机碳(DOC)的测定.

具体实验设计方案和理化性质如表 1 所示.

### 1.3 测定方法

#### 1.3.1 土壤 DNA 的提取和浓度测定

土壤微生物总 DNA 的提取采用 MOBIO 公司的土壤 DNA 快速提取试剂盒,并利用微量紫外分光光

表 1 实验设计方案及理化性质

Table 1 Experiment design scheme and physic-chemical characteristics

项目	BPA 含量(厌氧培养)/mg·kg <sup>-1</sup>					BPA 含量(有氧培养)/mg·kg <sup>-1</sup>				
	CK	0.25	0.50	1.00	2.00	CK	0.25	0.50	1.00	2.00
pH	5.82	5.80	5.66	5.65	5.78	5.71	5.85	5.86	5.43	5.75
可溶性有机碳(DOC)/mg·kg <sup>-1</sup>	198.03	156.64	204.91	158.34	168.32	228.10	270.11	204.30	244.25	214.34
微生物量氮/mg·kg <sup>-1</sup>	101.04	54.63	69.77	123.17	125.26	69.94	38.22	77.15	60.77	98.42
微生物量碳/mg·kg <sup>-1</sup>	340.62	344.60	349.06	580.19	366.23	398.86	213.22	311.06	308.13	480.61

度计(Quawell 5000,美国)测定 DNA 浓度和纯度。

### 1.3.2 荧光定量 PCR

采用荧光定量 PCR 仪(BIO RAD, CFX96™ Real-Time System, 美国)进行 qPCR 扩增。16S rRNA 扩增体系体系(25 μL): 模板 DNA (genomic DNA, 5 ng·μL<sup>-1</sup>) 1 μL, Green- 2-Go qPCR Mastermix (Sangon Biotech, 上海) 12.5 μL, 去离子无菌水 9.5 μL, 浓度为 10 μm·μL<sup>-1</sup> 的正向引物和反向引物各 1 μL。16S rRNA 扩增引物采用 Muyzer 等<sup>[25]</sup> 的特异性引物对: 正向引物 F338 (5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') 与反向引物 R518 (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')。16S rRNA 的扩增程序为: 95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 1 min, 56℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 39 个循环, 最后 72℃ 延伸 5 min。采用 10 倍梯度稀释的已知拷贝数含有 V3 区片段的质粒做标准曲线, 扩增效率 90% ~ 105%,  $R^2 > 0.99$ 。

18S rRNA 反应体系与 16S rRNA 一致, 扩增引物采用 May 等<sup>[26]</sup> 的特异性引物对: 正向引物 Fungi (5'-ATT CCC CGT TAC CCG TTG-3') 与反向引物 NSI (5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C-3')。18S rRNA 的扩增程序为: 95℃ 预变性 15 min, 95℃ 变性 1 min, 56℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 39 个循环, 最后 72℃ 延伸 5 min。采用 10 倍梯度稀释的已知拷贝数含有 18S rRNA 区片段的质粒做标准曲线, 扩增效率 90% ~ 105%,  $R^2 > 0.99$ 。每克干土中的基因拷贝数即为微生物丰度。

### 1.3.3 聚合酶链式反应和变性梯度凝胶电泳 PCR-DGGE

#### (1) 聚合酶链式反应(PCR)

18S rRNA 反应体系和扩增引物与 1.3.2 节中的相同。不同处是在 18S rRNA 的正向引物的 5' 端分别添加 40 碱基的 GC 夹子(5'-CCG CCG CGC GGC GGG CGG GGC GGG GGC ACG GGG-3')<sup>[27]</sup>。16S rRNA 反应体系与 1.3.2 节中相同。扩增引物为 V6 区通用引物, 正向引物 5' 端添加 GC 夹子: F968-GC (F-CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG

GCG GGG GCA CGG GGG GAA CGC GAA GAA CCT TAC-3'), 反向引物为: R1401 (5'-CGG TGT GTA CAA GAC CC-3'); 扩增条件为: 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测质量。

#### (2) 变性梯度凝胶电泳(DGGE)

所得 PCR 产物利用 BIO RAD 公司(DCode™ Universal Mutation Detection System) 制胶系统进行变性梯度凝胶电泳。细菌 PCR 扩增产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶, 变性剂浓度自下至上为 55% ~ 70%, 在 60℃、100 V 恒定电压下电泳 9 h。真菌 PCR 产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶, 变性剂浓度自下至上为 15% ~ 35%, 在 60℃、90 V 恒定电压下电泳 9 h。用银染法染色, BIO-RAD 的 Gel-Doc-2000 凝胶影像分析系统拍照。用 BIO-RAD 公司 Image lab 分析软件对条带数量、位置及亮度峰值进行分析。多样性指数的计算方法<sup>[27]</sup>如下。

香农-维纳多样性指数:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Margalef 丰富度指数:

$$D_{Mg} = \frac{(S-1)}{\ln N}$$

均匀度指数:

$$E = \frac{H'}{\ln S}$$

其中,

$$p_i = n_i/N$$

式中,  $S$  为 OTUs 总数, 即条带数;  $N$  为泳道中 OTU 的总亮度峰值;  $n_i$  为第  $i$  个 OTU 在所有克隆中的比值。

### 1.4 数据处理与统计

荧光定量 PCR 数据归一化参照文献[28]中的方法, 将不同培养条件下各浓度梯度的 16S rRNA 和 18S rRNA 基因拷贝数加和后分别进行归一化, 计算公式为:

$$x'_i = x_i / \sum_{i=1}^{10} x_i \quad (i = 1, 2, \dots, 10)$$

式中,  $x_i$  为不同 BPA 浓度下的基因拷贝数。

PCR-DGGE 数据处理应用 BIO-RAD 公司 Gel DocTMXRT 型成像仪和 Image Lab 软件进行泳道分析。所获得数据运用 EXCEL 和 SPSS 软件进行统计。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度及培养条件对 16S 和 18S 基因丰度的影响

有氧条件下, 随着 BPA 含量的增加, 16S rRNA 基因拷贝数呈先降后升趋势, BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处出现最小值为  $5.715 \times 10^{10}$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$ , 且各含量下基因拷贝数均低于 CK 组。相反, 厌氧条件培养下, 随着 BPA 含量的增加, 16S rRNA 基因拷贝数先升后降, 且  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  含量处出现最大值为  $5.803 \times 10^{11}$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$ 。

有氧条件下, 随着 BPA 含量的增加, 18S rRNA 基因拷贝数总体先降后升, BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处出现最小值  $0.723 \times 10^6$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$ 。相反厌氧条件培养下, 随着 BPA 浓度的增加, 18S rRNA

基因多样性指数先升后降, BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处出现最大值, 为  $3.735 \times 10^6$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$ 。

综合图 1 可知, 厌氧培养条件下, 16S rRNA 和 18S rRNA 基因拷贝数的变化趋势相似, 即 16S rRNA 和 18S rRNA 基因拷贝数在 BPA 含量为  $0 \sim 0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  范围内均有升高, 在  $0.50 \sim 2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  范围内有所降低, 在  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  达到最大值。

将同一培养条件下不同含量间的基因拷贝数进行差异性分析, 结果表明: BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 基因拷贝数与同种培养条件下的其它含量间差异性最大, 且 16S rRNA 和 18S rRNA 同在有氧条件下基因拷贝数最低, 而厌氧条件下基因拷贝数最高。由此可见, BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时对于细菌和真菌群落的基因丰度影响最为显著。

对同一含量下的 16S rRNA 和 18S rRNA 基因拷贝数加和后进行归一化处理(表 2), 在有氧培养下, 各含量下的归一化基因拷贝数均低于 CK 组, 与前人研究成果相一致<sup>[17]</sup>; 厌氧培养下, 除 BPA 含量为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处, 其它各含量下的归一化基因拷贝数均低于 CK 组。综合有氧和厌氧两种培养条件下基因丰度变化趋势可知, 稻田土壤中 BPA 的输入降低了微生物群落基因丰度。

表 2 16S rRNA 和 18S rRNA 归一化基因拷贝数

Table 2 CNV of 16S rRNA and 18S rRNA genes

项目	有氧					厌氧				
	CK	0.25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CK	0.25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
16S rRNA 和 18S rRNA 总拷贝数 $\times 10^{11}$ / 拷贝 $\cdot \text{g}^{-1}$	1.417	1.082	0.571	1.069	0.875	3.700	2.712	5.803	0.983	3.583
归一化拷贝数	0.065	0.050	0.026	0.049	0.040	0.170	0.124	0.266	0.045	0.164

由 16S rRNA 和 18S rRNA 总基因拷贝数趋势(图 2)可知, 厌氧条件下归一化总基因拷贝数呈先升后降趋势, 在 BPA 含量为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时出现最大值

$0.266$ ; 而有氧条件下变化趋势大致相反, 先降后升, 同时在含量为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时达到最小值  $0.026$ 。

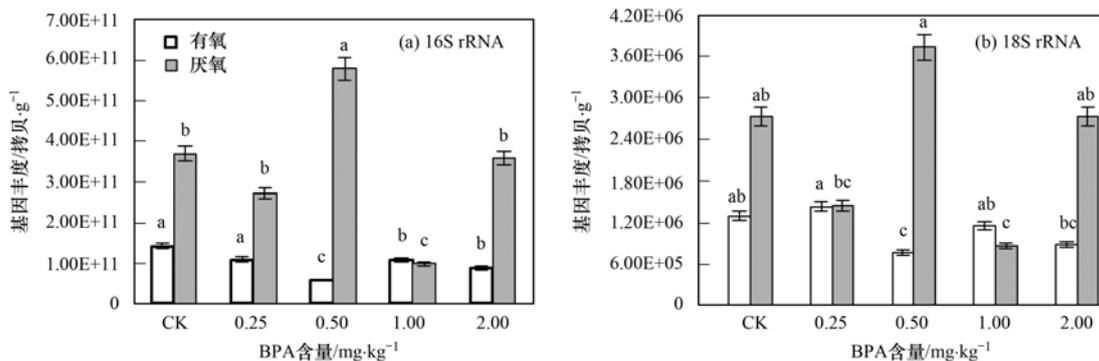


图 1 16S rRNA 和 18S rRNA 的基因丰度

Fig. 1 Abundances of 16S rRNA and 18S rRNA genes

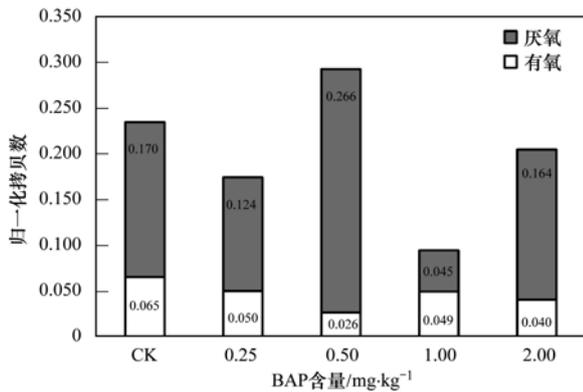


图 2 16S rRNA和18S rRNA归一化拷贝数趋势

Fig. 2 Trend of normalized CNV of 16S rRNA and 18S rRNA genes

## 2.2 不同浓度及培养条件对土壤细菌和真菌群落多样性影响

由单个样本 PCR-DGGE 图谱 (图 3) 可知, 16S rRNA 条带多样性差异并不明显, 而 18S rRNA 多样性差异较为明显。

通过对单个样本 PCR-DGGE 条带的处理, 分别得出香农-维纳指数、丰富度指数和均匀度指数 (表 3)。有氧条件下, 双酚 A 含量对 16S rRNA 基因的香农维纳指数和均匀度指数均较 CK 组有所降低, 丰富度指数呈先降后升趋势。多样性指数总体变化幅

度在 -13.94% 和 5.36% 之间; 厌氧条件下, 3 个多样性指数均呈升高趋势, 其中丰富度指数先升后降。多样性指数总体变化幅度在 -4.19% 和 13.43% 之间。

有氧条件培养下, 随着双酚 A 含量的增加, 18S rRNA 基因的香农维纳指数、丰富度和均匀度均呈现先降低后升高的变化趋势, 最小值出现在浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup> 处。3 种多样性指数总体变化幅度在 -35.78% 和 8.62% 之间。而厌氧条件培养下 18S rRNA 基因多样性指数与有氧培养条件相反, 呈现先升后降的变化趋势, 最大值出现在浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup> 处。3 种多样性指数总体变化幅度在 3.65% 和 83.71% 之间。

真菌群落的微生物多样性指数与其基因丰度的变化趋势一致, 而细菌群落的多样性指数波动较小。

## 2.3 不同浓度及培养条件与微生物群落特征的双因素方差分析

双因素方差分析表明, 培养条件 (有氧和厌氧)、BPA 含量及其交互作用对 16S rRNA 基因丰度影响显著 (表 4); 而对于 18S rRNA 基因丰度而言, 只有培养条件对其影响显著。以上结果表明, 培养条件对真菌和细菌丰度的影响均差异显著, 说明培

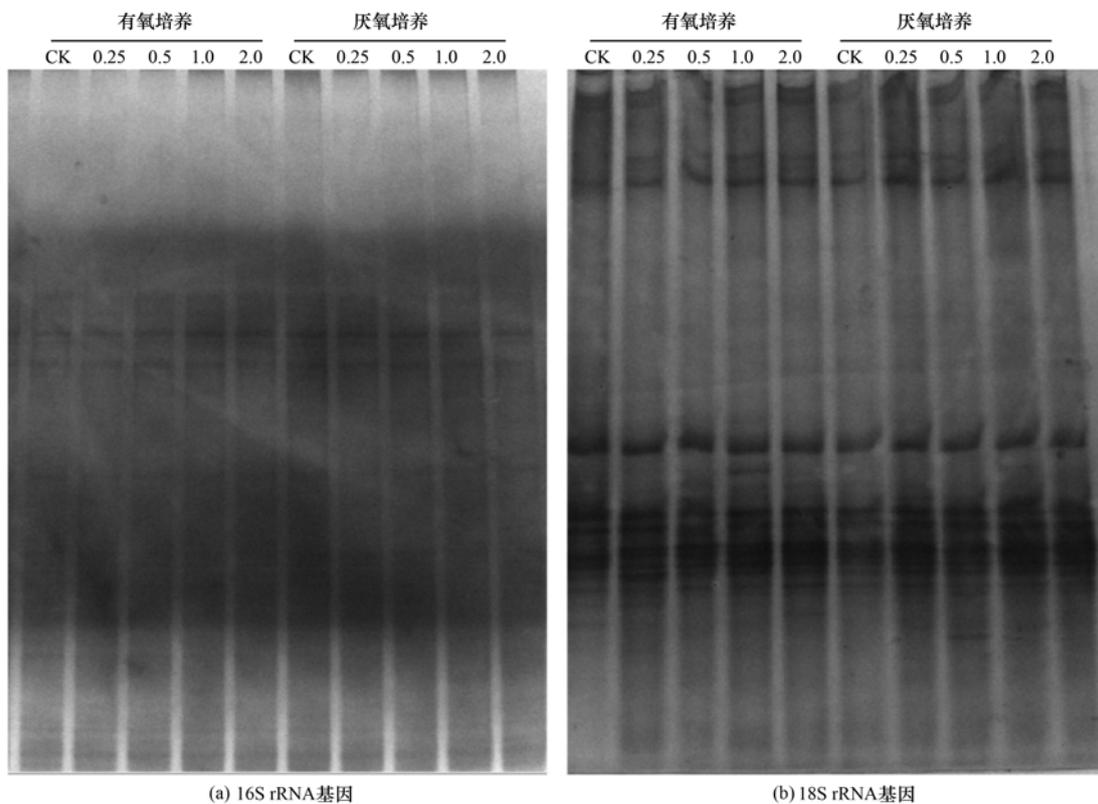


图 3 基于 16S rRNA 和 18S rRNA 的 PCR-DGGE 图谱

Fig. 3 DGGE patterns of 16S rRNA and 18S rRNA PCR amplification products

表 3 基于 16S rRNA 和 18S rRNA DGGE 图谱的微生物多样性指数

Table 3 Microbial diversity indices of 16S rRNA and 18S rRNA based DGGE profile

项目	指标	有氧培养					厌氧培养				
		CK	0.25 mg·kg <sup>-1</sup>	0.50 mg·kg <sup>-1</sup>	1.00 mg·kg <sup>-1</sup>	2.00 mg·kg <sup>-1</sup>	CK	0.25 mg·kg <sup>-1</sup>	0.50 mg·kg <sup>-1</sup>	1.00 mg·kg <sup>-1</sup>	2.00 mg·kg <sup>-1</sup>
16S rRNA	香农-维纳指数	2.649	2.791	2.628	2.527	2.537	2.960	3.072	2.982	3.027	3.109
	丰富度	1.550	1.621	1.361	1.334	1.687	1.653	1.875	1.943	1.682	1.892
	均匀度	1.973	2.049	2.020	1.976	1.838	2.174	2.171	2.083	2.223	2.172
18S rRNA	香农-维纳指数	2.817	2.700	1.809	2.184	2.789	1.981	2.291	2.807	2.571	2.462
	丰富度	1.740	1.448	1.280	1.481	1.890	0.896	1.224	1.646	1.612	1.489
	均匀度	1.991	2.011	1.414	1.627	1.927	1.728	1.791	2.008	1.863	1.834

表 4 16S rRNA 和 18S rRNA 基因拷贝数双因素方差分析

Table 4 Two-factor ANOVA of gene copy number of 16S rRNA and 18S rRNA genes

项目	16S rRNA			18S rRNA		
	培养条件	浓度	培养条件和浓度	培养条件	浓度	培养条件和浓度
F 值	43.33	4.006	5.819	10.007	1.094	2.844
Sig.	0**	0.015*	0.003**	0.005**	0.387	0.051

养条件(有氧和厌氧)是影响 BPA 污染土壤中微生物丰度的主要因子。

### 3 讨论

BPA 作为人工合成的环境激素之一,广泛存在于水体和土壤中,对生物健康和遗传特性产生影响<sup>[29]</sup>。存在于土壤中的 BPA 对土壤微生物数量和群落结构产生一定影响<sup>[23]</sup>。微生物作为土壤中最敏感的生物类群,对 BPA 浓度和土壤通气条件变化的响应较为敏感。土壤微生物(细菌和真菌)基因丰度结果发现:厌氧条件下,细菌和真菌基因丰度呈先增后降的趋势且总体高于对照组,而有氧条件细菌和真菌基因丰度变化趋势与之相反且总体低于对照组。土壤微生物基因丰度与土壤微生物量碳的分布趋势一致,初步研究表明厌氧型细菌和真菌在 BPA 污染的稻田土壤中受到促进,而好氧型细菌和真菌受到抑制;厌氧微生物在 BPA 污染的稻田土壤中占主导地位。结合 PCR-DGGE 的微生物多样性检测技术对有氧及厌氧培养条件下 BPA 污染土壤微生物群落特征<sup>[30]</sup>进行检测,分别对香农维纳指数、丰富度、均匀度指数进行计算,结果发现:细菌群落在有氧和厌氧条件下,BPA 含量变化对细菌多样性指数影响较小,而真菌群落在有氧条件下先降后升,总体低于对照;而厌氧条件下先升后降且总体高于对照组,与该条件下真菌丰度变化趋势一致。进一步研究表明真菌在 BPA 污染的稻田中更易受到土壤通气条件的影响,而厌氧型真菌在 BPA 污染的稻田中占主导地位。

大多数天然的或者与天然有机物相似的人工合成有机物可被微生物所代谢、所降解<sup>[24]</sup>。已知环境中存在多种微生物在一定条件和浓度下可代谢和降解 BPA<sup>[31]</sup>,而 BPA 一方面作为碳源可被微生物所利用,另一方面对微生物具有生物毒性<sup>[32]</sup>,故较高的底物浓度会抑制微生物细胞生长和代谢活动<sup>[33]</sup>,BPA 浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>时,在厌氧条件下,细菌和真菌基因丰度同时达到最大且与对照组差异性显著;而在有氧条件下,细菌和真菌基因丰度最小。16S rRNA 和 18S rRNA 归一化总基因拷贝数也得到类似的结果。说明 BPA 浓度为 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>是影响微生物群落数量的一个临界值,厌氧微生物数量在该浓度下得到最大程度促进;而好氧微生物数量在该浓度下受到了较强的抑制作用。此外,有氧条件培养下细菌和真菌基因丰度显著低于厌氧培养条件,表明稻田土壤在排水晒田状态下,BPA 的输入会降低微生物基因丰度。

土壤中以细菌数量最多,放线菌和真菌类次之<sup>[24]</sup>,目前已知的具有 BPA 降解能力的微生物以细菌占多数,凭借其庞大的基数和较高的降解效率<sup>[34,35]</sup>使细菌群落在受到不同浓度的 BPA 的刺激时能够保持稳定。且降解 BPA 能力的众多细菌在一定程度上具有缓冲作用,使参与代谢 BPA 的功能性细菌数量在大幅度波动的情况下,细菌群落多样性指数仍趋于稳定。由于受 DGGE 技术的灵敏度限制<sup>[36]</sup>,微生物群落产生的微小变化很难被检测出。因此,室内培养条件下细菌群落多样性指数受 BPA 影响较小。BPA 存在的稻田土壤中细菌群落特

征变化评价指标的选取,微生物丰度的意义大于多样性指数.相比于细菌群落,真菌群落抵御 BPA 扰动的能力较弱,添加不同浓度的 BPA 对其多样性指数变化影响较大,与降解 BPA 真菌群落较低的降解效率有关,如 Chai 等<sup>[37]</sup>发现,通过 26 种具有 BPA 降解力的真菌的模拟降解实验研究,发现其中 11 种的降解能力仅为 50% 以上,其中仅有 4 种具有相对较高的降解效率.所以即使微小的刺激也会导致真菌多样性指数产生大幅波动.综合 18S rRNA 的基因丰度结果,真菌微生物群落多样性指数在不同培养条件下的变化趋势与基因丰度的变化趋势一致,均对 BPA 污染土壤的微生物群落特征变化具有指示作用.而作为土壤理化指标的 pH 和 DOC 却未发生显著变化.结合细菌群落特征指标的选取结果,微生物群落丰度更能够反映土壤微生物群落的变化,相对于微生物群落多样性指数,更适合作为土壤微生物特性变化的评价指标.

细菌和真菌基因丰度的双因素方差分析发现,培养条件、浓度及培养条件与浓度的交互作用对细菌丰度影响显著,表明 BPA 污染的稻田中土壤细菌数量受土壤通气条件和 BPA 浓度影响显著,对于土壤通气条件和 BPA 浓度变化响应较为敏感.而只有培养条件对真菌基因丰度的影响差异显著,表明 BPA 污染的稻田土壤中真菌数量主要受土壤通气条件的影响.综上所述:水稻土壤中细菌丰度对 BPA 的响应较真菌敏感,真菌丰度受 BPA 的影响较小,耐受性较强. BPA 污染的稻田土壤中,培养条件是影响土壤微生物数量的关键因子.以上结果应用于农业耕作中,即在土壤耕作时应避免深翻、延长淹水时间,使之最大程度处于厌氧情况,有利于微生物群落健康、提高土壤活力,此发现与 Lupwayi 等<sup>[38]</sup>研究结果相吻合,即免耕土壤中的微生物多样性和生物量均高于传统耕作后的土壤<sup>[39]</sup>.该结果对于稻田土壤健康管理具有重要的指导意义.

#### 4 结论

(1) 受 BPA 污染稻田土壤,厌氧条件有利于提高微生物群落数量,而有氧条件则降低微生物数量,从而指导人们在耕作 BPA 污染农田过程中,应该避免土壤深翻,延长淹水时间等方法来增加微生物数量,减缓 BPA 的毒害作用,提高土壤质量.

(2) 不同培养条件下,微生物基因丰度对 BPA 浓度变化敏感,且同时在浓度为  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时达到峰值,说明  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  是 BPA 的一个浓度阈

值,此时的微生物群落特性受到最大程度扰动;相对于土壤 pH、DOC 和微生物多样性指数而言,丰度指数更适合于作为土壤微生物特性变化的评价指标.

(3) 细菌和真菌基因丰度的双因素方差分析表明,与细菌相比,真菌丰度对 BPA 的响应不敏感,表明真菌对 BPA 的耐受性较细菌群落强,为未来筛选菌株用于治理受 BPA 污染土壤提供理论依据.

#### 参考文献:

- [1] 沈丽金. 双酚 A 的微生物降解研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012. 5.  
Shen L J. Studies on degradation of bisphenol A by microorganism[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012. 5.
- [2] 刘志恒. 现代微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 428-430.
- [3] 黎宁, 李华兴, 朱凤娇, 等. 菜园土壤微生物生态特征与土壤理化性质的关系[J]. 应用生态学报, 2006, 17(2): 285-290.  
Li N, Li H X, Zhu F J, et al. Relationships between soil microbial ecological characteristics and physical-chemical properties of vegetable garden soil [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(2): 285-290.
- [4] Rebuli E M, Cao J Y, Sluzas E, et al. Investigation of the effects of subchronic low dose oral exposure to bisphenol A (BPA) and ethinyl estradiol (EE) on estrogen receptor expression in the juvenile and adult female rat hypothalamus [J]. Toxicological Sciences, 2014, 140(1): 190-203.
- [5] Tyler C R, Jobling S, Sumpter J P. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence [J]. Critical Reviews in Toxicology, 1998, 28(4): 319-361.
- [6] 汪浩, 冯承莲, 郭广慧, 等. 我国淡水水体中双酚 A (BPA) 的生态风险评估[J]. 环境科学, 2013, 34(6): 2319-2328.  
Wang H, Feng C L, Guo G H, et al. Ecological risk assessment of bisphenol A in Chinese freshwaters [J]. Environmental Science, 2013, 34(6): 2319-2328.
- [7] 刘慧慧, 徐英江, 邓旭修, 等. 莱州湾海域表层沉积物中双酚 A 的分布特征[J]. 环境化学, 2012, 31(10): 1654-1655.  
Liu H H, Xu Y J, Deng X X, et al. Distributing character of bisphenol A in the surface sediment at Laizhou bay [J]. Environmental Chemistry, 2012, 31(10): 1654-1655.
- [8] 梁栋, 宗栋良. 深圳主要河流中雌激素污染调查[J]. 环境监测管理与技术, 2013, 25(2): 29-32.  
Liang D, Zong D L. Pollution investigation of estrogen in major rivers of Shenzhen [J]. The Administration and Technique of Environmental Monitoring, 2013, 25(2): 29-32.
- [9] 吴乾元, 邵一如, 王超, 等. 再生水无计划间接补充饮用水的雌激素健康风险[J]. 环境科学, 2014, 35(3): 1041-1050.  
Wu Q Y, Shao Y R, Wang C, et al. Health risk induced by estrogens during unplanned indirect potable reuse of reclaimed water from domestic wastewater [J]. Environmental Science, 2014, 35(3): 1041-1050.
- [10] 鲁佳铭, 王欣泽, 沈剑, 等. 两种土壤对内分泌干扰物双酚 A 和类固醇的吸附性能[J]. 净水技术, 2011, 30(1): 67-

71.  
Lu J M, Wang X Z, Shen J, *et al.* Adsorption performance of endocrine disrupting chemicals Bisphenol-A and steroids through two kinds of soils[J]. *Water Purification Technology*, 2011, **30** (1): 67-71.
- [11] Tran B C, Teil M J, Blanchard M, *et al.* Fate of phthalates and BPA in agricultural and non-agricultural soils of the Paris area (France) [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(14): 11118-11126.
- [12] Peng X Z, Wang Z D, Mai B X, *et al.* Temporal trends of nonylphenol and bisphenol A contamination in the Pearl River Estuary and the adjacent South China Sea recorded by dated sedimentary cores[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, **384**(1-3): 393-400.
- [13] Guo W L, Hu W, Pan J M, *et al.* Selective adsorption and separation of BPA from aqueous solution using novel molecularly imprinted polymers based on kaolinite/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> composites [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, **171**(2): 603-611.
- [14] Liu C M, Wu P X, Zhu Y J, *et al.* Simultaneous adsorption of Cd<sup>2+</sup> and BPA on amphoteric surfactant activated montmorillonite [J]. *Chemosphere*, 2016, **144**: 1026-1032.
- [15] Zhao G J, Chen X R, Lin F K, *et al.* Mechanism of toxicity formation and spatial distribution in activated sludge treating synthetic effluent containing bisphenol A (BPA) [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2014, **250**: 91-98.
- [16] Michałowicz J. Bisphenol A-sources, toxicity and biotransformation [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2014, **37**(2): 738-758.
- [17] 李建忠. 典型内分泌干扰物在土壤中迁移转化规律研究[D]. 北京: 清华大学, 2013. 1-19.  
Li J Z. Study on the migration and transformation of the typical endocrine disrupting chemicals in soil [D]. Beijing: Tsinghua University, 2013. 1-19.
- [18] 刘建林. 雌激素化合物在土壤中的吸附行为及生物降解的研究[D]. 北京: 华北电力大学(北京), 2012. 1-20.  
Liu J L. Study on the adsorption behaviors and biodegradation of estrogen chemicals in soil system [D]. Beijing: North China Electric Power University (Beijing), 2012. 1-20.
- [19] 蒋俊, 李秀艳, 赵雅萍. 2 株分别降解壬基酚和双酚 A 细菌的分离、鉴定和降解特性[J]. *环境科学研究*, 2010, **23**(9): 1196-1203.  
Jiang J, Li X Y, Zhao Y P. Isolation, Identification and degradation characteristics of two bacterial strains degrading NP and BPA [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2010, **23** (9): 1196-1203.
- [20] 熊举坤. 酚类溴代阻燃剂的污染特征、生物强化降解及其相关微生物群落变化研究[D]. 广州: 中国科学院广州地球化学研究所, 2015.  
Xiong J K. Distribution pattern, bioenhancement degradation of phenolic brominated flame retardants and the analysis of relative microbial community change [D]. Guangzhou: Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [21] 刘佩勇, 杜小敏, 王升洪, 等. 双酚 A 对土壤微生物的影响[J]. *辽宁农业科学*, 2011, (3): 59-60.  
Liu P Y, Du X M, Wang S H, *et al.* Effect of Bisphenol A on soil microbial[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2011, (3): 59-60.
- [22] 刘国华, 叶正芳, 吴为中. 土壤微生物群落多样性解析法: 从培养到非培养[J]. *生态学报*, 2012, **32**(14): 4421-4433.  
Liu G H, Ye Z F, Wu W Z. Culture-dependent and culture-independent approaches to studying soil microbial diversity [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, **32**(14): 4421-4433.
- [23] 解开治, 徐培智, 杨少海, 等. 双酚 A 对稻田土壤细菌群落特征及土壤酶活的影响[J]. *环境科学研究*, 2012, **25**(2): 173-178.  
Xie K Z, Xu P Z, Yang S H, *et al.* Effects of bisphenol A on bacterial community and enzyme activities of soil in rice fields [J]. *Research of Environmental Science*, 2012, **25**(2): 173-178.
- [24] 周德庆. 微生物学教程[M]. (第二版). 北京: 高等教育出版社, 2002. 428.  
Zhou D Q. *Essential microbiology* (2nd ed.) [M]. Beijing: High Education Press, 2002. 428.
- [25] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(3): 695-700.
- [26] May L A, Smiley B, Schmidt M G. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, **47**(9): 829-841.
- [27] 靳振江, 汤华峰, 李敏, 等. 典型岩溶土壤微生物丰度与多样性及其对碳循环的指示意义 [J]. *环境科学*, 2014, **35** (11): 4284-4290.  
Jin Z J, Tang H F, Li M, *et al.* Microbial community abundance and diversity in typical karst ecosystem to indicate soil carbon cycle [J]. *Environmental Science*, 2014, **35** (11): 4284-4290.
- [28] 靳振江, 邵继承, 潘根兴, 等. 荆江地区湿地与稻田有机碳、微生物多样性及土壤酶活性的比较 [J]. *中国农业科学*, 2012, **45**(18): 3773-3781.  
Jin Z J, Tai J C, Pan G X, *et al.* Comparison of soil organic carbon, microbial diversity and enzyme activity of wetlands and rice paddies in Jingjiang area of Hubei, China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, **45**(18): 3773-3781.
- [29] 陈善佳, 陈秀荣, 闫龙, 等. 毒性有机物 BPA 与普通小球藻的相互影响特性研究 [J]. *环境科学*, 2014, **35**(4): 1457-1461.  
Chen S J, Chen X R, Yan L, *et al.* Research on characteristic of interrelationship between toxic organic compound BPA and *Chlorella vulgaris* [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(4): 1457-1461.
- [30] 霍萍萍, 耿晓娜, 赵宝华. PCR-DGGE 法在微生物群落检测中的应用 [J]. *安徽农业科学*, 2011, **39**(14): 8204-8205.  
Huo P P, Geng X N, Zhao N H. Application of PCR-DGGE Technique in the Detection of Microbial Community [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, **39**(14): 8204-8207.
- [31] Le Corre L, Besnard P, Chagnon M C. BPA, an energy balance disruptor [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015, **55**(6): 769-777.
- [32] Zhang C, Zeng G M, Yuan L, *et al.* Aerobic degradation of bisphenol A by *Achromobacter xylosoxidans* strain B-16 isolated

- from compost leachate of municipal solid waste [ J ]. *Chemosphere*, 2007, **68**(1): 181-190.
- [33] 刘绍雄,王明月,王娟. 基于 PCR-DGGE 技术的剑湖湿地湖滨带土壤微生物群落结构多样性分析[J]. *农业环境科学学报*, 2013, **32**(7): 1405-1412.
- Liu S X, Wang M Y, Wang J. Analyzing soil microbial community structure diversity from Jianhu wetland lakeside zone using PCR-DGGE technique [ J ]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, **32**(7): 1405-1412.
- [34] Chouhan S, Yadav S K, Prakash J, *et al.* Effect of bisphenol A on human health and its degradation by microorganisms: a review [ J ]. *Annals of Microbiology*, 2014, **64**(1): 13-21.
- [35] Zhang W W, Yin K, Chen L J. Bacteria-mediated bisphenol A degradation [ J ]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(13): 5681-5689.
- [36] 夏围围,贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价 [ J ]. *微生物学报*, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- Xia W W, Jia Z J, Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE [ J ]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- [37] Chai W, Handa Y, Suzuki M, *et al.* Biodegradation of bisphenol A by fungi [ J ]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2005, **120**(3): 175-182.
- [38] Lupwayi N Z, Arshad M A, Rice W A, *et al.* Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management [ J ]. *Applied Soil Ecology*, 2001, **16**(3): 251-261.
- [39] 周桔,雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望 [ J ]. *生物多样性*, 2007, **15**(3): 306-311.
- Zhou J, Lei T. Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity [ J ]. *Biodiversity Science*, 2007, **15**(3): 306-311.

## CONTENTS

Air Pollutant Emission Inventory and Impact of Typical Industries on PM <sub>2.5</sub> in Chengde .....	CHEN Guo-lei, ZHOU Ying, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4069)
Pollution Characteristics and Emission Coefficient of Volatile Organic Compounds from Woodwork-making Industry in Zhejiang Province .....	YAO Yi, WANG Zhe-ming, HE Zhi-qiao, <i>et al.</i> (4080)
Emission Inventory of Anthropogenic VOCs and Its Contribution to Ozone Formation in Shanxi Province .....	YAN Yu-long, PENG Lin (4086)
Characteristics and Source Apportionment of VOCs of High Pollution Process at Chemical Industrial Area in Winter of China .....	GAO Song, CUI Hu-xiong, FU Qing-yan, <i>et al.</i> (4094)
Study and Application of Test Method for VOCs Emission Factor of Refueling in Service Station .....	HUANG Yu-hu, CHANG Yao-qing, REN Bi-qi, <i>et al.</i> (4103)
NH <sub>3</sub> Emission Characteristics in Landfill Sites in Beijing .....	CUI Tong, LI Jin-xiang, YANG Yan-yan, <i>et al.</i> (4110)
Inventory and Characteristics of Anthropogenic Ammonia Emission in Xi'an .....	SU Hang, YAN Dong-jie, HUANG Xue-min, <i>et al.</i> (4117)
Pollution Characteristics of Non-methane Hydrocarbons During Winter and Summer in Foshan City .....	ZHOU Xue-ming, XIANG Ping, DUAN Jing-chun, <i>et al.</i> (4124)
Water-soluble Inorganic Ions in the Road Ambient Atmospheric Particles of Tianjin .....	ZHAO Meng-xue, WU Lin, FANG Xiao-zhen, <i>et al.</i> (4133)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Daiyun Mountain National Nature Reserve .....	YUAN Lei, LI Wen-zhou, CHEN Wen-wei, <i>et al.</i> (4142)
Microbial Activity in Bioaerosols in Winter at the Coastal Region of Qingdao .....	MENG Xiang-bin, LI Meng-zhe, LI Hong-tao, <i>et al.</i> (4147)
Molecular and Carbon Isotopic Compositions of <i>n</i> -Alkanoic Acids in Smoke from Maize Straw Combustion .....	LU Gang, SUN Li-na, XU Hui, <i>et al.</i> (4156)
Gas Transfer Velocity of CH <sub>4</sub> at Extremely Low Wind Speeds .....	ZHANG Cheng, LÜ Xin-biao, LONG Li, <i>et al.</i> (4162)
Spectral Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter (DOM) from a Typical Reservoir Lake from Inland of Three Gorges Reservoir Areas: In the View of Riparian Ecosystem Analysis .....	CHEN Xue-shuang, JIANG Tao, LU Song, <i>et al.</i> (4168)
Characteristics and Pollution Source Analysis of Nutrients in Tributary Outlets of Xitaoxi Watershed .....	CHEN Shi-wen, YUAN Xu-yin, JIN Jing, <i>et al.</i> (4179)
Analysis of Driving Factors on the Nitrogen Decrease in the Early Stage of the Thermal Stratification in Main Area of Zhoucun Reservoir .....	ZHANG Chun-hua, HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, <i>et al.</i> (4187)
Characteristics of Organic Phosphorus Fractions in the Sediments of the Black Water Aggregation in Lake Taihu .....	DONG Dan-ping, ZHANG Ting-xi, ZHANG Ding-yu, <i>et al.</i> (4194)
Impacts of Multiple Disturbance on Migration and Transformation of Endogenous Phosphorus in Lake .....	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, WANG Ren, <i>et al.</i> (4203)
Change of Soil Nitrogen Leaching with Summer Maize Growing Periods Under Plastic Film Mulched Cultivation in Danjiangkou Reservoir Area, China .....	WANG Wei, YU Xing-xiu, HAN Qiang, <i>et al.</i> (4212)
Nutrients Recovery on the Growth of Nitrogen and Phosphorus Starved <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	YUE Dong-mei, LI Jie, XIAO Lin (4220)
Inactivation Efficiency and Mechanism of Three Dominant Fungal Spores in Drinking Groundwater by Chlorine .....	WEN Gang, ZHU Hong, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (4228)
Effect of Water Treatment Process on the Bacterial Multidrug Resistance in Drinking Water .....	MA Xiao-lin, LU Yang, WANG Yu, <i>et al.</i> (4235)
Characteristics of Disinfection By-products and Genotoxicity During Drinking Water Disinfection with Potassium Monopersulfate Compound Powder .....	AO Xiu-wei, LI Hao-jie, LIU Wen-jun, <i>et al.</i> (4241)
Heterogeneous Activation of Peroxymonosulfate with Three-dimensional Ordered Mesoporous Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> for the Degradation of Rhodamine B .....	FENG Shan-fang, DENG Si-ping, DU Jia-wen, <i>et al.</i> (4247)
Enhanced Mitigation of Membrane Fouling by Regulations on Floc Morphology in Electrocoagulation .....	ZHAO Kai, YANG Chun-feng, SUN Jing-qiu, <i>et al.</i> (4255)
Effect of Initial pH on Nitrogen Removal Performance and N <sub>2</sub> O Emission of a Sequencing Batch CANON Reactor .....	FU Kun-ming, WANG Hui-fang, SU Xue-ying, <i>et al.</i> (4261)
Operational Characteristics of the Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal and Removal of Phthalate Esters by Three-dimensional Biofilm-electrode Coupled with Iron/Sulfur Reactor .....	ZHANG Ya, HAO Rui-xia, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (4268)
Phosphorus Removal Mechanism of Sulfur/Sponge Iron Composite Fillers Based on Denitrification .....	FAN Jun-hui, HAO Rui-xia, LI Meng, <i>et al.</i> (4275)
Optimization of Denitrifying Phosphorus Removal Performance Based on ABR-MBR Combined Process .....	CHENG Chao-yang, ZHAO Shi-hui, LÜ Liang, <i>et al.</i> (4282)
Effect of Moderate and Room Temperature on Nitrogen Removal in PN-ANAMMOX Process .....	YUAN Yan, ZHU Liang (4289)
Influence of Biological Activated Carbon on Simultaneous Nitrification and Denitrification in Inflow with Different C/N Ratios .....	CUI Yan-rui, QIU Xin, ZHANG Qing-rong, <i>et al.</i> (4296)
Biotransformation of Nitrate to Nitrogen Gas Driven by ANAMMOX Microbes via Zero-valent Iron Under Anaerobic Conditions .....	ZHOU Jian, WANYAN De-qing, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4302)
A Comparative Study on Performance of an Intermittent Aeration SBR and a Traditional SBR for Treatment of Digested Piggyery Wastewater .....	DONG Bao-gang, SONG Xiao-yan, LIU Rui, <i>et al.</i> (4309)
Biological Pre-treatment of Surplus Sludge Using the Protease-secreting Bacteria .....	HE Pin-jing, WANG Ying, HU Jie, <i>et al.</i> (4317)
Transfer and Fate of Polybrominated Diphenyl Ethers in an Electrical Equipment Dismantling Area Using a Multimedia Fugacity Model .....	XUE Nan-dong, CHEN Xuan-yu, YANG Bing, <i>et al.</i> (4326)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Media in Nanning City .....	MIAO Ying, KONG Xiang-sheng (4333)
PBDEs Levels in House Dust and Human Exposure to PBDEs via Dust Ingestion in Hangzhou .....	JIN Man-tong, TENG Dan-dan, ZHENG Yan-xia, <i>et al.</i> (4341)
Evaluating Biochar-Water Sorption Coefficients of Pharmaceutically Active Compounds by Using a Linear Free Energy Relationship .....	WANG Jia-yi, BI Er-ping (4349)
Characteristics of Bacterial Communities in Surface-flow Constructed Wetlands .....	WEI Jia-ming, CUI Li-juan, LI Wei, <i>et al.</i> (4357)
Community Structure and Activity Analysis of the Nitrifiers in Raw Sewage of Wastewater Treatment Plants .....	YU Li-fang, DU Qian-qian, FU Xue-tao, <i>et al.</i> (4366)
Effects of Fertilization on Soil Microbial Abundance and Community Structure at DNA and cDNA Levels in Paddy Soils .....	WANG Cong, WU Ne, HOU Hai-jun, <i>et al.</i> (4372)
Effects of Bisphenol A on Characteristics of Paddy Soil Microbial Community Under Different Cultural Conditions .....	LIU Chang, HUANG Ya-dan, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (4380)
Identification of a Facultative Bacterium Strain with the Ability to Methylate Mercury Under Both Aerobic and Anaerobic Conditions .....	TAO Lan-lan, XIANG Yu-ping, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (4389)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Vegetable Soils in Beijing .....	ZHANG Lan-he, WANG Jia-jia, HA Xue-jiao, <i>et al.</i> (4395)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Sika Deer Farm .....	HUANG Fu-yi, AN Xin-li, CHEN Qing-lin, <i>et al.</i> (4402)
Comparison of Toxic Effect of Siliceous Mineral Dusts on Lung Epithelial A549 Cells .....	HUO Ting-ting, DONG Fa-qin, DENG Jian-jun, <i>et al.</i> (4410)
Effect of Adding Compound Adsorbent on Phenanthrene and Cr(VI) Absorption by Lou Soil .....	LI Wen-bin, MENG Zhao-fu, WU Qiong, <i>et al.</i> (4419)
Effect of Biochar on Adsorption Behavior of Nonylphenol onto Loess Soil in Northwest China .....	ZHANG Zhen-guo, JIANG Yu-feng, MU Zhong-feng, <i>et al.</i> (4428)
Soil Respiration in Response to Different Ridge/Furrow Ratios and Its Relationship with Soil Moisture and Temperature Under Ridge-Furrow Planting Patterns .....	WANG Chang-jiang, SHI Cheng-xiao, FENG Fan, <i>et al.</i> (4437)
Effects of Straw in Combination with Reducing Fertilization Rate on Soil Nutrients and Enzyme Activity in the Paddy-Vegetable Rotation Soils .....	HUANG Rong, GAO Ming, WAN Yi-lin, <i>et al.</i> (4446)

# 《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11月15日 第37卷 第11期

## ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 11 Nov. 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