

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发 张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟 彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)
鄂东典型工业城市大气 PM₁₀ 中元素浓度特征和来源分析 占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)
常州夏秋季 PM_{2.5} 中碳质气溶胶特征及来源 叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析 范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源 刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布 李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征 唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价 张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究 李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素 张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征 杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估 张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响 何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响 肖丽微, 朱波 (4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系 滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析 李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律 蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响 王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V) 周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除 蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响 于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 滑思思, 冯云堂 (4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响 孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响 刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力 马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试 李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)
SBR 加载不同粒径活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制 信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复 黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化 高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO₃⁻/Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析 张玉, 万方, 周集体 (4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响 耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落 杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响 王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响 刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性 牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素 杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO₂、CH₄ 排放通量的短期影响 李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH₄ 和 N₂O 排放的影响 石将来, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价 周燕, 卢新卫 (4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征 代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响 蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 邱磊, 胡荣桂 (4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因素 梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果 段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)
反复冻融与高温老化对砷污染土壤固化稳定化效果的影响 杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征 叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性 王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险 印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁浚刚, 唐铭 (4868)
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响 陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响 李标, 孔晓英, 李连华, 李颖, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)
环境模型中敏感性分析方法评述 陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)
《环境科学》征稿简则(4662) 《环境科学》征订启事(4672) 信息(4647, 4705, 4789)

外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响

刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺*

(北京大学环境科学与工程学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100871)

摘要: 环烷酸类物质(naphthenic acids, NAs)是石油中的一种天然成分,所占质量分数约为2%,是除多环芳烃外最具生态毒性的石油污染物。随着能源需求的增长,大量 NAs 通过石油工业的各个过程进入土壤环境中,对人类健康和生态系统造成了巨大的潜在威胁。然而,目前对外源 NAs 在土壤中的降解过程及其对微生物群落结构的影响等研究较少。本研究以自然洁净土壤为样本,通过添加 180 mg·kg⁻¹高浓度 NAs,并借助液相色谱、高通量测序等技术探究了土壤中 NAs 的降解过程及微生物群落动态变化。研究发现,自然洁净土壤对高浓度 NAs 降解能力较强,5 d 内降解量达到 50%,15 d 后稳定在 80% 左右,但 NAs 含量低于 42 mg·kg⁻¹后难以被生物利用; NAs 污染明显改变了土壤细菌群落结构,土样中特有 OTU 数目增加,主要分布在未鉴定门、变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes);高含量 NAs 污染胁迫下,拟杆菌门、酸杆菌门(Acidobacteria)及变形菌门中的 γ 变形菌纲(γ -Proteobacteria)物种丰度在短期内迅速升高,显示了较强耐受性,是潜在的 NAs 降解菌,而放线菌门(Actinobacteria)相对丰度则大幅下降,降幅高达 24.8%;研究结果揭示了外源 NAs 在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响,为石油污染土壤的生态修复提供了科学支持。

关键词: 环烷酸; 土壤; 自然降解; 高通量测序; 细菌群落

中图分类号: X172; X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)11-4756-07 DOI: 10.13227/j.hjkk.201703221

Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil

LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, FAN Hao, HUANG Yi*

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, College of Environmental Science and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Naphthenic acids (NAs) are a natural component of petroleum, which account for about 2% of severe ecological toxicity in addition to polycyclic aromatic hydrocarbons. With the growth in demand for energy, a large number of NAs have leaked into soil environments through oil industry processes, which have caused enormous potential threats to human health and ecosystems. However, there are few studies about the degradation process of exogenous NAs and their effects on microbial community structures in soil. This research explores the degradation process of NAs and their dynamics in microbial communities in soil by adding a high concentration of 180 mg·kg⁻¹ of NAs to natural, clean soil with the aid of liquid chromatography and high-throughput sequencing technologies. This study found that: ① Natural clean soil has a strong capability to degrade high concentration of NAs with about 50% of the NAs degraded within 5 days, which stabilized at 80% after 30 days of the experiment; ② Pollution with NAs obviously alters the microbial community structure as the number of specific OTU increased and were mainly distributed in phylum of unidentified Proteobacteria and Bacteroidetes; ③ Under high concentrations of NAs, the content of Bacteroidetes and Acidobacteria phylum and the γ -Proteobacteria of Proteobacteria phylum all increased swiftly and were speculated to be a potential agents for NA degradation, with the relative abundance ratio of Bacteroidetes and Acidobacteria increasing from 4.2% and 2% to 20.3% and 5.5%, respectively, while a 24.8% decrease was found in Actinobacteria phylum; ④ This study revealed the degradation process of exogenous NAs and their effects on microbial community structure in soil, which provided scientific support for the ecological restoration of petroleum pollution and further study in this area.

Key words: naphthenic acids; soil; natural degradation; high-throughput sequencing; bacteria community structure

环烷酸类物质(naphthenic acids, NAs)是石油的天然成分之一,由分子结构中含有一个或多个饱和环的环烷基直链羧酸组成,可用通用分子式 C_nH_{2n+z}O₂ 表示^[1]。随着世界能源需求的增长,大量环烷酸类物质随着石油开采、运输及加工等过程进入水体^[2]、沉积物^[3]和土壤^[4]等环境中。其所具有

的高稳定、难挥发、半衰期长以及类表面活性剂物

收稿日期: 2017-03-25; 修订日期: 2017-05-20

基金项目: 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室项目(15L02ESPC)

作者简介: 刘艳秋(1992~),女,硕士,主要研究方向为环境科学, E-mail: 1501214835@pku.edu.cn

* 通信作者, E-mail: yhuang@pku.edu.cn

质等特点,使其极易进入并积累于陆生、水生生物体内,从而进入食物链,对生态系统和人类健康形成巨大的潜在威胁^[1,5]. Scarlett 等^[6]发现 NAs 对斑马鱼幼体暴露 96 h 的半致死浓度为 $13.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,对两栖类豹蛙^[7]暴露 72 h 的 NAs 半致死浓度仅为 $4.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 越来越多的研究证明,在众多石油污染物中,NAs 是除多环芳烃外最具生态毒性的污染物^[4,8].

从 20 世纪 70 年代开始,国内外学者们就 NAs 的物理化学性质^[1~3]、毒性^[6,7]、分析测量手段^[4,5]、降解技术^[8,9]及影响因素^[10,11]等开展了一系列研究,为了解 NAs 的生态环境效应,提供了基础. 降解及去除 NAs 毒性的研究,主要集中在筛选和利用单一或混合微生物对水环境中 NAs 的降解^[9~14]. 如 Clemente 等^[9]利用油砂尾矿池微生物对好氧状态下商用 NAs 的降解潜能进行了探究,发现油砂尾矿池微生物对 NAs 具有良好的降解能力,10 d 内降解率达到 90% 以上,且培养上清液毒性显著降低. Yue 等^[13]从油砂尾矿废水中分离出以 NAs 为唯一碳源的苍白杆菌(*Ochrobactrum*)、短波单胞菌(*Brevundimonas*)和芽孢杆菌(*Bacillus*),分别用于

商用 NAs 的降解,发现 3 种菌均有较强的 NAs 降解能力. 此外,部分学者还通过结合生物反应器^[15]和模拟湿地^[16]等工程技术,进一步研究优化微生物的 NAs 降解能力. 然而,这些研究主要集中于对水环境中 NAs 污染物的去除,较少关注土壤中 NAs 的降解. 实际上,除海洋石油泄漏外,大部分的石油污染物都是先进入陆地生态系统,然后通过地表径流、污水污泥排放等进入水体. 因此,了解外源 NAs 在土壤中的降解过程,对于防止 NAs 在生态系统中的迁移,控制和管理 NAs 污染范围,具有重要的意义.

本文拟通过研究外源 NAs 在土壤中的降解动力学过程,探索 NAs 自然降解潜能及其降解的微生物调控机制,以期为石油污染土壤的生态修复提供科学支撑支持.

1 材料与方法

1.1 土壤样品

本实验所用自然洁净土壤采自北京大学未名湖西岸(N 39°59', E 116°18'),土壤的基本理化性质见表 1. 其有机质和营养元素含量能保证微生物的正常生长需求.

表 1 土壤的基本理化性质

Table 1 Essential physiochemical properties of soil

pH	有机质/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	阳离子交换量/ $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	总氮/%	总磷/%
7.90	19.4	9.29	0.11	0.05

1.2 化学试剂

本实验所用药剂: 商用 NAs, 美国 Acros Organics 公司; MAX 小柱(200 mg, 6 mL), 美国 Waters 公司; 色谱级甲醇, 二氯甲烷, 乙酸乙酯, 均购自美国 Fisher 公司; 甲酸(色谱纯), 氨水(分析纯), 吡啶, 国药集团化学试剂北京有限公司; 1-EDC-HCl [1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, 1-EDC-HCl], 美国 Sigma 公司; 2-NPH (2-nitrophenylhydrazine, 2-NPH), ICN 生物医学有限公司.

1.3 土壤制备和实验设计

土壤在室温条件下自然风干后研磨, 过 1 mm 尼龙筛备用. 为了消除环境改变造成的影响, 预处理后土壤于避光恒温条件下静置两周, 保证微生物群落结构稳定. 实验共设置灭菌对照组 A 和自然降解组 B, 每组设置 3 个重复. 预处理土壤作为自然降解组 B 土壤. 灭菌对照组 A 采用高压灭菌锅进行土壤灭菌. 将上述风干研磨过筛后的土壤, 置于高

压锅中(121°C)灭菌 30 min, 取出置于 25°C 培养箱避光培养 6 h(使土壤中芽孢萌发), 之后再于上述条件下灭菌, 重复 3 次, 获得灭菌对照组 A 土壤备用.

根据前期研究^[4], 我国主要产油区石油污染土壤中 NAs 最高污染浓度约 $180 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右, 因而本研究设置土壤的 NAs 污染浓度为 $180 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 将商用 NAs 溶解于二氯甲烷中制备成环烷酸-二氯甲烷储备液, 分别均匀加入上述预处理过的土壤中, 使土壤中 NAs 含量达到 $180 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 并于通风橱中搅拌以挥发二氯甲烷. 待二氯甲烷完全挥发后, 分别取 100 g 土壤于 $50 \text{ cm}\times 50 \text{ cm}$ 培养皿中, 用无菌透气封口膜封口, 置于 30°C 培养箱中避光培养 30 d, 实验期间土壤含水率控制在 10% 左右并定期搅拌, 每隔 5 d 搅拌均匀后取样, 样品于 -20°C 冰箱中保存.

1.4 土壤 NAs 提取

土壤中 NAs 的提取方法参考文献[4]修改而

成:取 10 g 样品溶于 100 mL 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中,于 70°C 水浴锅中静置 10 min,取出于涡旋振荡器振荡 10 min, 10 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 后,将上清液转移至干净的大试管中。对固体残留物重复以上操作,合并萃取液。利用固相萃取柱(solid-phase extraction, SPE)对 NAs 进行萃取。SPE 柱经 1 倍柱体积的甲醇和水活化后,将萃取液转移至 SPE 柱内,控制流速在 1 mL·min⁻¹。待萃取液全部通过 SPE 柱后,加入 6 mL 5% 的氨水溶液和 6 mL 甲醇,抽真空干燥。SPE 柱经纸边固定,7 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 后,分两次向 SPE 柱内加入 5% 的甲酸-乙酸乙酯洗脱液,收集洗脱液,氮吹干燥后待用。分别制备 0、20、40、100 和 180 mg·kg⁻¹ 的 NAs 污染土壤,按上述方法提取后,得到了 NAs 的回收率为 (104.38% ± 9.54%),满足本研究分析要求。

1.5 NAs 提取物衍生化

衍生化方法参考 Yen 等^[17]的研究结果:样品过 0.22 μm 滤膜后用 3 mol·L⁻¹ HCl 调节 pH 到 8~10,取 200 μL 样品到 1.5 mL 液相色谱小瓶中,加入 80 μL 2-NPH, 80 μL 1-EDC-HCL,60°C 水浴 20 min 后加入 40 μL KOH,再次水浴 15 min 后于 -20°C 保存以待测定。衍生化试剂的配置参考文献^[17]完成。

1.6 NAs 衍生物仪器测定及定量分析

使用岛津液相色谱仪 SPD-10A 对 NAs 衍生物进行分析,所用色谱柱为迪马 C18 反向色谱柱(250 mm × 4.6 mm × 5 μm),测试及积分条件参考文献^[17]修改而成。测试时,色谱柱保持在 30°C 恒温条件下,流速为 1.5 mL·min⁻¹,进样体积为 20 μL。

定量分析方法参考文献^[17]修改完成。以 Acros Organics 公司购买的商用 NAs 为标准物质,分别配置 0、20、40、80、160 mg·L⁻¹ 的 NaOH-NAs 溶液进行测定,以峰面积与浓度建立标准曲线,结果为: $y = 650.33x + 1694.3$ ($R^2 = 0.996$)。为确定此方法对土壤中 NAs 的检测下限,取不同含量的 NAs 加入到 10 g 洁净土壤中,经提取、萃取、仪器分析后,确定了此方法的检测下限为 12 mg·kg⁻¹。

1.7 土壤 DNA 提取、扩增及高通量测序分析

对实验第 0、5 和 30 d 时自然降解组的土样使用 Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA) 对土壤样品进行总 DNA 提取,提取结果经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,以微生物总 DNA 为模板,采用 16S rDNA 通用引物 338F/806R 扩增细菌的 V3-V4 区。PCR 反应条件如

下: 95°C 5 min, 30 × (95°C 40 s, 50°C 50 s, 72°C 45 s), 72°C 10 min。PCR 反应采用 50 μL 体系: 10 × *Pyrobest* Buffer 5 μL; 2.5 μmol·L⁻¹ dNTPs 4 μL; 10 μmol·L⁻¹ P1 (338F) 2 μL; 10 μmol·L⁻¹ P2 (806R) 2 μL; 2.5 U·μL⁻¹ *Pyrobest* DNA Polymerase 0.3 μL; DNA 模板 3 μL; ddH₂O 36.7 μL。

所得 PCR 产物用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 纯化,经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,参照电泳初步定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合。构建 MiSeq 文库,通过 Illumina MiSeq PE300 平台进行测序(委托北京奥维森基因科技有限公司完成)。对得到的原始数据进行质量控制,获得最终用于分析的序列。应用 Qiime (quantitative insights into microbial ecology) 根据序列相似度获得操作分类单元 OTU (operational taxonomic unit),并采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析,在各个分类水平上统计样品的群落组成。

2 结果与讨论

2.1 外源 NAs 在土壤中的降解过程

测定灭菌对照组和自然降解组中 NAs 在土壤中的剩余量,绘制的降解动态见图 1。

虽然灭菌对照组排除了生物降解,实验期间土壤 NAs 含量却出现了 10% 左右的降低。有研究表明,NAs 对光照敏感,且波长为 254 nm 的紫外线照射能够显著改变 NAs 的结构组成和毒性^[18]。考虑到本研究在实验期间采取了恒温避光培养,其 10% 的非生物降解可能为其它因素,如老化作用^[19]、有机物螯合等。

自然降解组中 NAs 的降解活动主要集中在实验前 15 d。实验第 5 d,有 50% 的 NAs 已经被降解,到第 15 d 时,被降解的 NAs 达 80%,之后降解活动基本停止,实验结束,约有 20% 的 NAs 残留在土壤中。污染物在土壤中的自然降解受土壤理化性质、微生物群落组成和污染物化学结构等诸多因素的影响^[20]。以往的研究显示,微生物优先降解低环数、低分子量、结构相对较为简单的 NAs,而高环数、高分子量、高度分枝化的 NAs 则较难被生物利用而残留下来^[1,9,12,21]。如 C 原子数低于 17 的 NAs 组分相较于高分子量 NAs 更易被生物降解,本实验所选用的商用 NAs, C 原子数在 10~25 之间。因此,这部分

残留可能为其中较难被生物利用的组分。然而,现有研究结果主要来源于对水体中 NAs 的降解,考虑到土壤颗粒对污染物的吸附^[22]及有机污染物在土壤中的老化^[19],本研究中的 NAs 残留,也有可能通过氢键结合、静电吸附以及范德华力等作用吸附于土壤颗粒表面或分配进入土壤有机质中^[1,23],不易解析,较难被微生物利用,成为新的持久性难降解有机物。

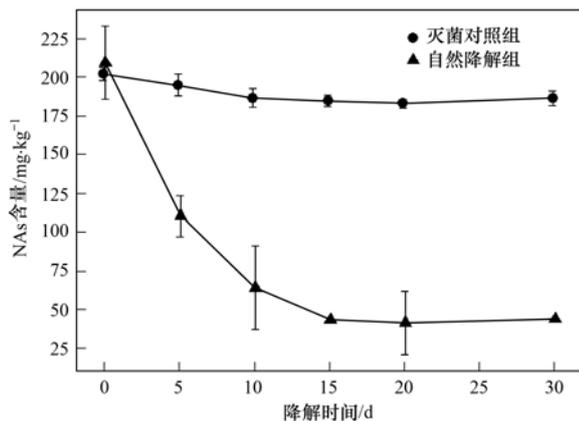


图1 外源 NAs 在土壤中的降解

Fig. 1 Degradation of exogenous NAs in soil

2.2 NAs 降解过程中细菌群落动态变化

2.2.1 NAs 污染土壤中细菌群落结构

分别提取实验第 0、5、30 d 时自然降解组土样(标记为 day 0、day 5 和 day 30)的 DNA,采用 Illumina 进行高通量测序分析。序列按 97% 相似性进行聚类,共得到 826 个 OTU,分属于 25 个门,47 个纲,161 个属。在门的分类水平上,细菌分布在 24 个已知细菌门。其中,放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、浮霉菌门(Planctomycetes)、TM7 和厚壁菌门(Firmicutes)9 种为优势门类,其相对丰度之和在 3 个土样中均占到土壤细菌总量的 98% 以上。纲水平上,放线菌门中的放线菌纲(Actinobacteria)、变形菌门中的 α 变形菌纲(α -Proteobacteria)以及拟杆菌门中的鞘脂杆菌纲(Sphingobacteriia)为 3 种优势菌纲。而属水平上,相对丰度最高的 3 种菌属则分别为未鉴定属、变形菌门中的 *Skermanella* 属以及放线菌门中的 *Blastococcus* 属。

在这些优势菌群中,酸杆菌门、疣微菌门、浮霉菌门和厚壁菌门是全球碳循环过程的主要参与者^[24~26]。这些研究显示,作为石油组成成分之一的

NAs,在自然土壤中具有大量可利用该物质的细菌。

2.2.2 土壤细菌群落的 OTU 分布

统计多个样本中所共有和独有的 OTU 数目,可以较为直观地表现出样本 OTU 数目组成的相似性及重叠情况。为此,对 3 个土样在 97% 的相似水平上进行统计(图 2):共得到 826 个 OTU,其中共有 OTU 数目为 653,约为 79%,在 OTU 总数中占据了绝对优势比例;不同土样特有 OTU 数目呈现出较大差异,降解开始(day 0),土样中特有 OTU 数目仅为 4 种,降解第 5 d(day 5),特有 OTU 数目从 4 种迅速增加到了 37 种,占总 OTU 数量的 4.5%,降解结束(day 30),土样中特有 OTU 数目又减少为 8 种。对土样中的特有 OTU 进一步分析发现:day 0 土样中,除 1 种特有 OTU 属于拟杆菌门外,其余 3 种均为变形菌门;而 day 5 土样中,特有 OTU 分布在未鉴定门、拟杆菌门、变形菌门、TM7、厚壁菌门、疣微菌门、酸杆菌门、迷踪菌门(Elusimicrobia)、蓝藻门(Cyanobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、OD1 以及 BD1-5 共 12 种门类中,以未鉴定门(8 种 OTU)、拟杆菌门(6 种 OTU)和变形菌门(6 种 OTU)所包含的特有 OTU 数目最多;day 30 土样中,特有 OTU 主要分布在未鉴定门,且在属水平上均为未鉴定属。

实验开始到第 5 d,土壤中的 NAs 含量减至 103 mg·kg⁻¹,降解量接近 50%,在此期间,土样中未鉴定门、变形菌门、拟杆菌门等多门类特有 OTU 数量则迅速增长;到实验第 30 d, NAs 含量降至 42 mg·kg⁻¹时,这部分特有 OTU 则消失,降解曲线趋于平缓,说明这些门类中的细菌很可能以 NAs 为唯一碳源,是潜在的 NAs 降解菌。

2.2.3 优势菌群分布及变化

具体到微生物类型,从门水平上看到(图 3),降解开始和结束时,第一优势门类均为放线菌门,而降解第 5 d,第一优势门类则变成变形菌门。与降解开始土样相比,降解第 5 d,放线菌门相对丰度明显降低,降幅高达 24.8%,而变形菌门则基本不变。降解结束,放线菌门和变形菌门相对丰度均升高。

对放线菌门和变形菌门在纲水平上相对丰度大于 1% 的菌群进一步分析(图 4),降解第 5 d,放线菌门在所有纲水平上,相对丰度均降低,其中放线菌纲相对丰度的大幅下降是造成放线菌门含量降低的主要原因;降解结束,放线菌纲相对丰度又升高为降解初始水平,其他纲类含量也有不同程度的增长。而变形菌门相对丰度在降解第 5 d 基本保持不变,

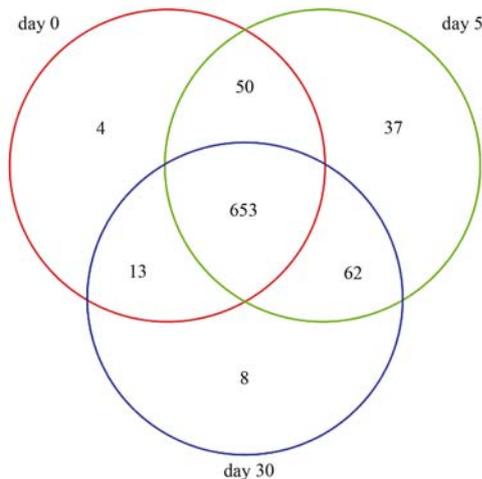


图 2 OTU 分布 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram showing the distribution of OTU

但优势地位由第二优势门类变为第一优势门类,在纲水平上,除 α 变形菌纲相对丰度降低外,其余变形菌纲相对丰度均增加. 降解结束, α 变形菌纲和 γ 变形菌纲 (γ -Proteobacteria) 相对丰度升高,而 β 变形菌纲 (β -Proteobacteria) 和 δ 变形菌纲 (δ -Proteobacteria) 含量则降低,变形菌门相对丰度整体升高了 6.8%.

实验开始到第 5 d,土样中的放线菌门在高含量 NAs (大于 $103 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 污染胁迫下,相对丰度明显降低,且由第一优势菌门变为第二优势菌门,而到降

解第 30 d, NAs 污染胁迫减弱时 ($42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 其相对丰度又升高并重新成为第一优势菌门,表明放线菌门对高含量 NAs 污染耐受性较差,而在低含量 NAs 污染时则可以正常生长繁殖. 尽管降解第 5 d, 变形菌门在门水平上相对丰度基本不变,但在纲水平上, β 变形菌纲和 γ 变形菌纲含量则升高. 其中, β 变形菌纲在高 NAs 含量 (大于 $103 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 下丰度升高,低含量 ($42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 下则降低,表明 β 变形菌纲在高含量 NAs 污染胁迫下更具竞争优势. 而在 NAs 污染胁迫下, γ 变形菌纲则呈现出相对丰度不断增长的趋势. 分析 NAs 降解过程土样中的特有 OTU 也发现,降解第 5 d 土样中出现了属于 γ 变形菌纲的特有 OTU. 研究发现, γ 变形菌纲细菌具有 NAs 降解能力^[14,27], 本研究结果进一步说明了, γ 变形菌纲对高含量 NAs 污染具有较强耐受性和潜在的降解能力.

与放线菌门和变形菌门的变化趋势不同,酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门、浮霉菌门、TM7、疣微菌门以及其他菌门在降解第 5 d, NAs 含量高达 $103 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其相对丰度均增加 (图 3). 其中酸杆菌门和拟杆菌门增幅最为明显,分别升高了 3.5% 和 16.1%. 而当 NAs 含量降至 $42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,各门类相对丰度又降低为降解初始土样水平.

统计酸杆菌门和拟杆菌门在纲和属水平上相对

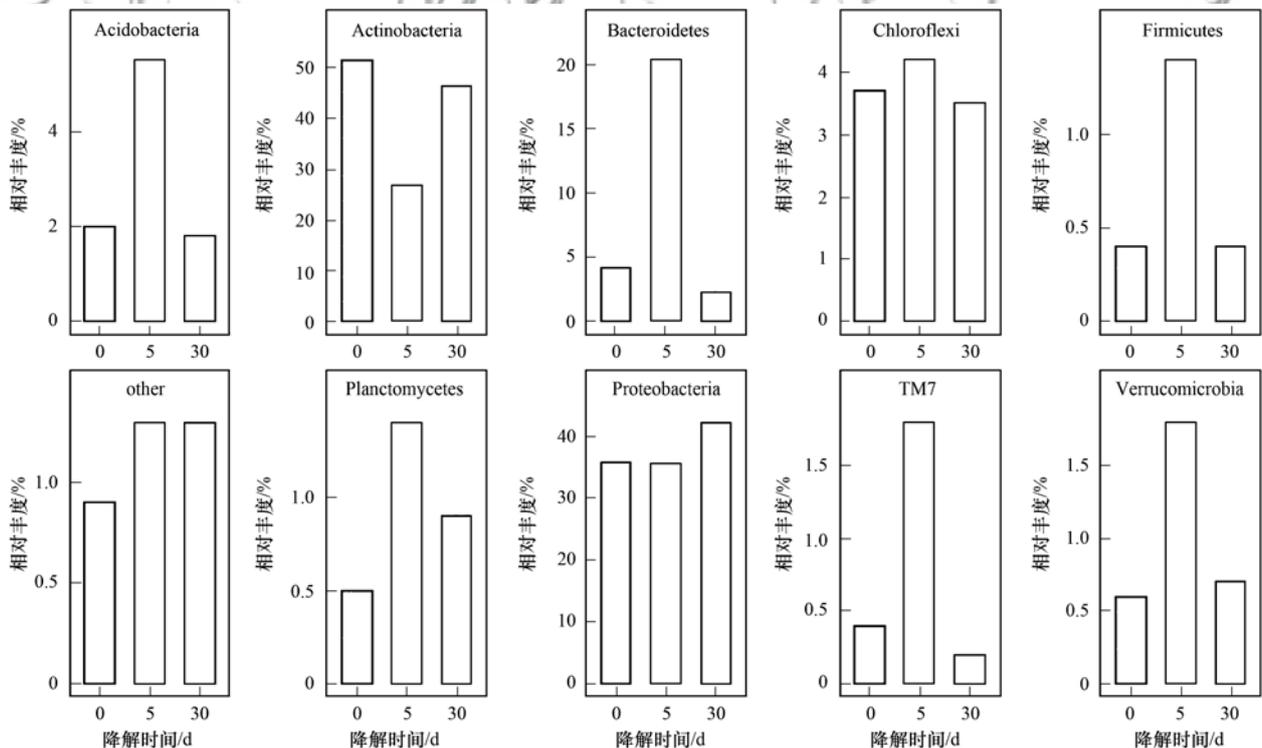


图 3 门水平细菌群落结构及分布

Fig. 3 Bacteria community structure and distribution at phylum level

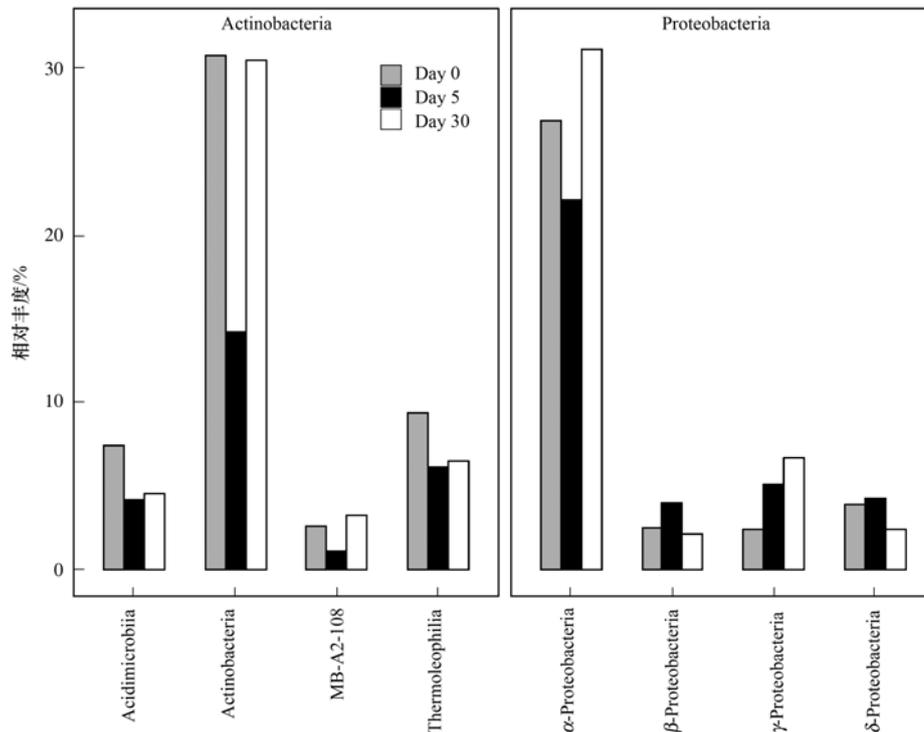


图4 放线菌门和变形菌门在纲水平上的细菌组成

Fig. 4 Bacteria composition of Actinobacteria and Proteobacteria at the class level

丰度大于1%的菌属,如表2所示. 酸杆菌门在纲和属水平上,相对丰度大于1%的菌属中,分别包含了1种酸杆菌纲(Acidobacteria)和1种 *Blastocatella* 属. 其中,酸杆菌纲在降解第5 d,相对丰度升高了3.4%;而属于酸杆菌纲的 *Blastocatella* 属,其相对丰度在降解第5 d仅增加了1.4%,说明土样中还存

在着大量属于酸杆菌纲的未鉴定属. 拟杆菌门在纲水平上包含了鞘脂杆菌纲和噬纤维菌纲(Cytophagia)2种纲,两者在降解第5 d相对丰度分别升高了10.6%和4.8%;属水平上,4种菌属相对丰度在降解第5 d均增加,共升高了6.8%,远远低于拟杆菌门在纲水平上相对丰度的增长.

表2 酸杆菌门和拟杆菌门在纲和属水平上的细菌组成

Table 2 Bacteria composition of Acidobacteria and Bacteroidetes at the class and genus level

名称	门	分类	相对丰度/%		
			day 0	day 5	day 30
Acidobacteria	酸杆菌门	纲	1.93	5.31	1.71
Sphingobacteriia	拟杆菌门	纲	2.28	12.84	1.51
Cytophagia	拟杆菌门	纲	1.76	6.54	0.74
<i>Blastocatella</i>	酸杆菌门	属	0.17	1.58	0.34
<i>Ferruginibacter</i>	拟杆菌门	属	0.52	2.48	0.16
<i>Chryseolinea</i>	拟杆菌门	属	0.80	3.31	0.38
<i>Flavisolibacter</i>	拟杆菌门	属	0.44	1.94	0.36
<i>Ohtaekwangia</i>	拟杆菌门	属	0.39	1.25	0.17

有研究发现,酸杆菌门是优秀的石油降解菌^[24],拟杆菌门则可以降解复杂的复合物^[26]. 该实验中,土壤添加高含量 NAs 后,拟杆菌门和酸杆菌门物种丰度在短时间内出现大幅度升高,说明这些门中的细菌能够被 NAs 诱导,以 NAs 作为碳源进行细胞增殖. 尤其在土壤中 NAs 含量高达 103 mg·kg⁻¹时,依然表现出活跃的生长,显示了较高的

NAs 耐受性,具有潜在的利用价值. 降解第5 d 土样中,酸杆菌门和拟杆菌门中特有 OTU 的出现,也证明了这一猜测.

3 结论

本文通过向自然洁净土壤添加 180 mg·kg⁻¹ 高含量 NAs 污染,探究了外源 NAs 在土壤中的降解过

程及微生物群落动态变化. 研究发现:自然洁净土壤对高含量 NAs 具有较强的降解能力,15 d 后降解量稳定在 80% 左右,但 NAs 含量低于 $42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后难以被生物利用;高含量 NAs 污染明显改变了土壤细菌群落结构,土样中特有 OTU 数目增加,拟杆菌门、酸杆菌门以及变形菌门中的 γ 变形菌纲相对丰度短期内明显升高,是潜在的 NAs 降解菌.

参考文献:

- [1] Clemente J S, Fedorak P M. A review of the occurrence, analyses, toxicity, and biodegradation of naphthenic acids [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**(5): 585-600.
- [2] Holowenko F M, Mackinnon M D, Fedorak P M. Characterization of naphthenic acids in oil sands wastewaters by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Water Research*, 2002, **36**(11): 2843-2855.
- [3] Wan Y, Wang B L, Khim J S, *et al.* Naphthenic acids in coastal sediments after the *Hebei Spirit* oil spill: a potential indicator for oil contamination [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(7): 4153-4162.
- [4] Jie W, Cao X F, Chai L W, *et al.* Quantification and characterization of naphthenic acids in soils from oil exploration areas in China by GC/MS [J]. *Analytical Methods*, 2015, **7**(5): 2149-2154.
- [5] Demeter M A, Lemire J, George I, *et al.* Harnessing oil sands microbial communities for use in *ex situ* naphthenic acid bioremediation [J]. *Chemosphere*, 2014, **97**: 78-85.
- [6] Scarlett A G, Reinardy H C, Henry T B, *et al.* Acute toxicity of aromatic and non-aromatic fractions of naphthenic acids extracted from oil sands process-affected water to larval zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(2): 415-420.
- [7] Melvin S D, Trudeau V L. Growth, development and incidence of deformities in amphibian larvae exposed as embryos to naphthenic acid concentrations detected in the Canadian oil sands region [J]. *Environmental Pollution*, 2012, **167**: 178-183.
- [8] Giesy J P, Anderson J C, Wiseman S B. Alberta oil sands development [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**(3): 951-952.
- [9] Clemente J S, MacKinnon M D, Fedorak P M. Aerobic biodegradation of two commercial naphthenic acids preparations [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, **38**(4): 1009-1016.
- [10] Yue S Q, Ramsay B A, Wang J X, *et al.* Biodegradation and detoxification of naphthenic acids in oil sands process affected waters [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **572**: 273-279.
- [11] Gunawan Y, Nemati M, Dalai A. Biodegradation of a surrogate naphthenic acid under denitrifying conditions [J]. *Water Research*, 2014, **51**: 11-24.
- [12] Folwell B D, McGenity T J, Price A, *et al.* Exploring the capacity for anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and naphthenic acids by microbes from oil-sands-process-affected waters [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, **108**: 214-221.
- [13] Yue S Q, Ramsay B A, Ramsay J A. Biodegradation of naphthenic acid surrogates by axenic cultures [J]. *Biodegradation*, 2015, **26**(4): 313-325.
- [14] Demeter M A, Lemire J A, Yue G, *et al.* Culturing oil sands microbes as mixed species communities enhances *ex situ* model naphthenic acid degradation [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, **6**: 936.
- [15] Islam M S, Zhang Y Y, McPhedran K N, *et al.* Granular activated carbon for simultaneous adsorption and biodegradation of toxic oil sands process-affected water organic compounds [J]. *Journal of Environmental Management*, 2015, **152**: 49-57.
- [16] Toor N S, Franz E D, Fedorak P M, *et al.* Degradation and aquatic toxicity of naphthenic acids in oil sands process-affected waters using simulated wetlands [J]. *Chemosphere*, 2013, **90**(2): 449-458.
- [17] Yen T W, Marsh W P, Mackinnon M D, *et al.* Measuring naphthenic acids concentrations in aqueous environmental samples by liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, **1033**(1): 83-90.
- [18] McMartin D W, Headley J V, Friesen D A, *et al.* Photolysis of naphthenic acids in natural surface water [J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2004, **39**(6): 1361-1383.
- [19] An X J, Xiao B H, Di X Y, *et al.* Research progress on aging of organic pollutants in geosorbents: a review [J]. *Acta Geochimica*, 2017, **36**(1): 27-43.
- [20] 宋宁慧, 单正军, 石利利, 等. 多重环境因子对氟胺磺隆在土壤中降解的影响 [J]. *环境科学*, 2012, **33**(12): 4400-4405.
- [20] Song N H, Shan Z J, Shi L L, *et al.* Effects of multiple environmental factors on triflursulfuron-methyl degradation in soils [J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(12): 4400-4405.
- [21] Han X M, Scott A C, Fedorak P M, *et al.* Influence of molecular structure on the biodegradability of naphthenic acids [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(4): 1290-1295.
- [22] Misiti T M. Fate and effect of naphthenic acids in biological systems [D]. Georgia: Georgia Institute of Technology, 2012.
- [23] Janfada A, Headley J V, Peru K M, *et al.* A laboratory evaluation of the sorption of oil sands naphthenic acids on organic rich soils [J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2006, **41**(6): 985-997.
- [24] Yu S L, Li S G, Tang Y Q, *et al.* Succession of bacterial community along with the removal of heavy crude oil pollutants by multiple biostimulation treatments in the Yellow River Delta, China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, **23**(9): 1533-1543.
- [25] Janssen P H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(3): 1719-1728.
- [26] Wagner M, Horn M. The *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae* and sister phyla comprise a superphylum with biotechnological and medical relevance [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, **17**(3): 241-249.
- [27] Johnson R J, Smith B E, Rowland S J, *et al.* Biodegradation of alkyl branched aromatic alkanolic naphthenic acids by *Pseudomonas putida* KT2440 [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **81**: 3-8.

CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM ₁₀ Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM _{2.5} Measurements During Summer and Fall in Changzhou	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physicochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR)	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II)/EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR)	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO ₂ and CH ₄ Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)