

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

餐饮行业细颗粒物(PM _{2.5})排放测算方法:以上海市为例	王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹 (1971)
上海夏季PM _{2.5} 中有机物的组分特征、空间分布和来源	高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹 (1978)
北京南郊区PM _{2.5} 中水溶性无机盐季节变化及来源分析	高韩钰, 魏静, 王跃思 (1987)
基于样方法的天津市春季道路扬尘PM ₁₀ 中水溶性离子特征及来源解析	赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋 (1994)
广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析	田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光 (2000)
基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径	韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬 (2010)
区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用	樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (2015)
典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征	林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林 (2023)
多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究	庞树江, 王晓燕, 马文静 (2030)
氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源	金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里 (2039)
白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价	高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰 (2048)
太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义	吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏 (2056)
长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点	朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平 (2067)
桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征	卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂 (2075)
青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性	马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜 (2086)
城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性	梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋 (2095)
溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析	张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉 (2104)
三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析	赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊 (2117)
澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析	望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩 (2126)
蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征	苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿 (2135)
两种沉水植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响	杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢 (2145)
于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量	文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承 (2154)
岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征	杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨 (2165)
农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析	李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广洲 (2174)
不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响	向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影 (2184)
真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质	孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓 (2195)
石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G	夏文君, 刘峰, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌 (2202)
载铜或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制	李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新 (2211)
DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验	梁雨, 何江涛, 张思 (2219)
污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征	孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东 (2230)
低温污水前置强化混凝	刘海龙, 任宇霞, 张忠民 (2239)
印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性	谭玉琨, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文 (2249)
生物膜CANON反应器性能的优化:从FBBR到MBBR	付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国 (2256)
两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化	高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲 (2265)
铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较	王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟 (2274)
热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响	代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益 (2283)
曝气时间比对亚硝化颗粒污泥形成的影响	李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰 (2289)
中国城市污泥中汞含量的时空分布特征	王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔 (2296)
夏季太湖湖/藻型湖区N ₂ O生成与迁移特征及其影响因素	郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承 (2306)
太湖藻型湖区CH ₄ 、CO ₂ 排放特征及其影响因素分析	贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥 (2316)
内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO ₂ 、N ₂ O特征	李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭 (2330)
黄土高原成龄苹果园生态系统CO ₂ 通量特征	杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森 (2339)
生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响	祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群岭, 汤铭豪 (2351)
不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响	李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯 (2360)
ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征	张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇 (2368)
不同排海方式城市尾水微生物扩散规律	郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月 (2380)
旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例	吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘 (2389)
不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析	朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2400)
生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响	阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺 (2412)
铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征	房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰 (2420)
湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构	康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾亮宇 (2431)
反硝化菌群的蔡代谢与反硝化偶联机制	张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰 (2438)
广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价	张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹 (2446)
三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响	陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇 (2456)
水稻不同生长时期不同组织中抗砷内生菌的筛选与鉴定	王伯勋, 王学东, 段桂兰 (2464)
汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征	李雨岑, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇 (2472)
华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价	徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法 (2480)
基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM _{2.5} 健康效应	宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟 (2489)
中国PM _{2.5} 污染空间分布的社会经济影响因素分析	段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波 (2498)

反硝化菌群的萘代谢与反硝化偶联机制

张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰*

(西南大学资源环境学院, 重庆 400715)

摘要: 为探寻反硝化与萘代谢过程的偶联机制, 从潜在 PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) 污染的土壤中富集获取了萘的反硝化降解菌群。通过 Illumina MiSeq 测序对其细菌群落结构进行了解析, 并研究其萘代谢过程中反硝化电子受体[硝酸根(NO_3^-)、亚硝酸根(NO_2^-)]浓度、气态还原产物[氧化亚氮(N_2O)、氮气(N_2)]产生速率及反硝化微生物相关的 *narG* (periplasmic nitrate reductase gene) 和 *nirS* (*cd*₁-nitrite reductase gene) 基因丰度的动态变化。Illumina MiSeq 测序结果表明, 变形菌门中的 *Pseudomonas* 是该富集菌群中丰度最高的菌属。富集获取的萘反硝化降解菌群 9 d 内对萘的降解率为 49.11%, 培养初期(1~3 d)及末期(7~9 d)萘的降解速率无差异, 但它们均显著高于培养中期(3~7 d)的降解速率($P < 0.05$)。培养期间, 培养液中 NO_3^- 浓度呈逐渐下降趋势, 而 NO_2^- 积累出现在第 1~3 d。培养的 3~9 d, NO_2^- 浓度迅速下降, 但在培养中期(3~7 d)未检测到气体产生, 只在培养末期(7~9 d)检测到明显的 N_2O [$3.39 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] 和 N_2 [$8.97 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] 的产生。在培养期间 *narG* 及 *nirS* 基因的丰度均随培养时间而上升, 表明该富集菌群中反硝化微生物丰度的逐渐增加。综上, NO_3^- 还原过程及随后的 NO_2^- 还原过程等产气过程均可能与萘的厌氧降解过程相偶联, 该结果可为进一步深入探讨萘的反硝化代谢机制打下基础。

关键词: 萘; 富集菌群; 反硝化; 厌氧降解; 偶联机制

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2438-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201709074

Investigation of the Coupling Mechanism Between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification

ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, ZHOU Zhi-feng*

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: To investigate the coupling mechanism between naphthalene degradation and denitrification using a liquid media containing naphthalene (sole carbon source) and nitrate, a naphthalene degradation bacterial consortium under denitrification was enriched from a soil with potential risk of PAH (polycyclic aromatic hydrocarbon) contamination. The bacterial community composition of the enriched consortium was analyzed by Illumina MiSeq Sequencing. Subsequently, the enriched consortium was cultured under anaerobic conditions for 9 days, and the concentrations of electron acceptors (nitrate and nitrite) for denitrification, gaseous reduction products (N_2O and N_2) involved in denitrification, and abundances of denitrification concerned genes (*narG*: periplasmic nitrate reductase gene; *nirS*: *cd*₁-nitrite reductase gene) were detected at days 1, 3, 7, and 9. The result of Illumina MiSeq Sequencing showed that *Pseudomonas* (Proteobacteria) was the most dominant genus in this enriched consortium. Under anaerobic conditions, the naphthalene removal rate of this enriched consortium was 49.11% within 9 days. Relative higher naphthalene degradation rates were found both at the beginning (day 1-3) and the end (day 7-9) of incubation, and these were significantly higher than at the middle (day 3-7) of the incubation stage ($P < 0.05$). The concentration of nitrate decreased during the whole culture period, while the concentration of nitrite increased during the initial incubation (day 1-3) and rapidly decreased from day 3 to 9. Furthermore, obvious productions of N_2O [$3.39 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] and N_2 [$8.97 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] were only measured at the end of incubation (day 7-9). The abundances of both *narG* and *nirS* increased during the incubation, indicating the continuous growth of denitrifiers in the enriched consortium during the incubation period. In summary, this study illustrated that both the nitrate reducing stage and gas producing steps of denitrification could be coupled with anaerobic naphthalene degradation, which might be helpful for a deeper investigation regarding the coupling mechanism between denitrification and anaerobic PAH degradation.

Key words: naphthalene; enriched bacterial consortium; denitrification; anaerobic degradation; coupling mechanism

萘(naphthalene)是一种含两个苯环的、在自然界广泛分布的典型低分子量多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs), 长期接触萘会引起人体内血液成分的变化, 肝转氨酶活性升高, 出现黄疸, 严重威胁人体健康, 因而被美国环保署

收稿日期: 2017-09-09; 修订日期: 2017-10-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(41371477); 重庆市基础科学与前沿技术研究项目(cstc2017jcyjAX0354)

作者简介: 张泽宇(1990~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: 892013674@qq.com

* 通信作者, E-mail: zhouzhf@swu.edu.cn

(USEPA)列为优先控制的 PAHs 之一^[1]。由于萘结构简单且容易从自然界分离得到其降解菌株,常被用作研究 PAHs 生物降解的模式化合物^[2]。

当前的研究表明萘在有氧及厌氧条件下均能够被微生物降解,其中其有氧降解的机制早已被阐明^[3-5]。然而,包括萘在内的一些典型 PAHs 的厌氧降解被认为在土壤、沉积物等富含厌氧微环境的生境中起到不可忽视的作用^[6]。萘的厌氧降解可能存在两种不同的起始路径,即羧化作用和甲基化作用,并且长期以来一直存在争议^[7]。当前,被多数人接受的萘降解过程是通过羧化作用形成 2-萘甲酸^[8,9]。尤其是 Mouttaki 等^[9]对 N47 富集培养物的体外研究表明,¹³C 标记的重碳酸盐与 2-萘甲酸进行了碳(C)的交换,这有力地证明了萘的确进行了酶催化的羧化作用。萘经过羧化反应转化为 2-萘甲酸,随后被未被证实的 ATP 酶激活转化为 2-萘甲酰-CoA,然后由 2-萘甲酰-CoA 还原酶催化 2-萘甲酰-CoA 形成 5,6,7,8-四氢萘甲酰-CoA^[7,10],5,6,7,8-四氢萘甲酰-CoA 可进一步还原成为六氢萘甲酰-CoA 产物。最后,经过羧化开环作用,进而逐步转变为较易被微生物厌氧代谢的化合物。

一般说来,萘的厌氧代谢需要以具备高氧化还原电位的无机化合物作为其降解过程中的电子受体,常见的电子受体有 NO_3^- 、 Fe^{3+} 、 CO_2 及 SO_4^{2-} 等^[11]。其中硝酸盐在土壤、沉积物及水体等含有较多微氧及厌氧的环境中大量存在,因此以其为电子受体的反硝化过程被认为可能在上述环境萘的去除中起到不可忽视的作用^[12,13]。早在 1988 年, Mihelcic 等^[14]就首次报道了萘可以以硝酸根作为电子受体进行氧化分解,开启了萘及其它 PAHs 厌氧代谢研究的大门。随后,一些典型的萘反硝化降解菌群及纯培养菌株也被富集或分离,从而极大地推进了萘厌氧代谢机制的研究^[11,15,16]。但关于萘的矿化是与完整的反硝化过程偶联或是只能与硝酸盐的还原(产生亚硝酸盐)相偶联的问题,仍不明确^[15]。可见,具备反硝化降解萘的微生物在土壤、沉积物等环境中普遍存在,且反硝化过程与萘厌氧代谢的偶联机制还不确定。然而,当前的研究多集中于萘反硝化相关微生物的获取、降解效率及萘代谢的相关分子生物学等方面,关于反硝化与萘降解过程相互关系的报道还不多见。因此,本研究从油田区域的农田土壤中富集萘反硝化降解菌群,分析该菌群代谢萘过程中反硝化相关物质(N_2O 、 N_2 、 NO_3^- 、 NO_2^-)浓度及反硝化相关的功能基因(*narG*;

periplasmic nitrate reductase gene; *nirS*: *cd*₁-nitrite reductase gene)丰度的动态变化,探讨反硝化过程与萘降解之间的偶联关系,以期为进一步深入探究萘的反硝化降解机制提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 土壤萘反硝化降解菌群的富集及培养

富集用土壤样品采集于湖北省潜江市境内江汉油田区的农田 0~20 cm 表层(112°29'E, 30°49'N)。主要理化性质如下:pH 8.18,有机质 24.95 g·kg⁻¹,硝态氮 21.84 mg·kg⁻¹,铵态氮 4.16 mg·kg⁻¹,有效磷 15.94 mg·kg⁻¹,总 PAHs 0.80 mg·kg⁻¹。

本研究中,通过以萘为单一碳源的无机盐培养基来富集土壤中的萘反硝化降解菌群。富集用的无机盐培养基参照 Lu 等^[11]的方法进行配制,并灭菌备用。富集过程简述如下:吸取 50 μL 萘的丙酮溶液(20 mg·L⁻¹)于 100 mL 的血清瓶中,室温下在通风橱中挥发 20 min,然后依次加入 45 mL 培养基和 5 g 鲜土,用丁基胶塞和铝盖封口后,连续通入高纯氮气(每瓶 5 min),再用加水的注射器调节瓶内的气压至大气压。最后,于 25℃ 摇床(160 r·min⁻¹)避光培养。在培养的第 5 d 通入高纯氮气进行换气,9 d 后,抽取 5 mL 菌液转接至含新鲜培养基的血清瓶内,进行下一轮富集。初次的加土富集处理设置了 4 次重复,同时以只接种 5 mL 无菌水的处理为对照(CK)。进行 4 轮富集后,获取到的富集菌群对萘的降解率在 50% 左右。提取混合富集菌液的 DNA 用于 Illumina MiSeq 测序,剩余菌液保藏于 4℃ 用于后续的再培养实验。

1.2 培养物基因组 DNA 的提取及 Illumina MiSeq 测序

取富集培养液(20 mL)于 20℃, 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 收集菌体(上清液回收用于萘的提取),用 Fast DNA® SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals, 美国)试剂盒参照说明书提取各样品中的 DNA,并用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,最后保存于 -20℃ 备用。

本研究中,提取 4 轮富集后的菌液总 DNA,交上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina MiSeq 测序。简要流程如下:以样品 DNA 为模板用引物对 338F(ACHYCTACGGGAGGCHGC)和 806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)对细菌 16S rDNA 基因序列的 V3~V4 高变区进行 PCR 扩增,用 2%

琼脂糖凝胶电泳检测后进行切胶回收;参照电泳初步定量结果,用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega, 美国)对 PCR 产物进行定量,按照测序量要求进行相应比例的混合,并构建 Illumina 平台文库测序. 使用 mothur(version v. 1. 30. 1)软件处理所得序列,按照 97% 相似性对非重复序列(不含单序列)进行 OTU (Operational Taxonomic Unit) 聚类,在聚类过程中去除嵌合体,得到 OTU 的代表序列,进行 OTU 聚类分析^[17]. OTU 聚类后,获取的代表性 OTU 在 Silva 数据库(www. arb-silva. de) 对进行比对,进行物种注释,最后在门和属水平上进行群落结构的分析.

1.3 富集菌群的再培养及萘的提取和测定

按 1.1 节的方法将原始菌液再次转接至新鲜培养基中,密封后,设置了充入 10% (体积比)的乙炔(抑制 N_2O 还原为 N_2) 和不充入乙炔的两组处理,同时以只接种 5 mL 无菌水的处理为对照处理(CK),各处理均设置 3 次重复. 按上述方法进行培养,期间不进行换气,并于培养的第 1、3、7、9 d 取样测定培养液中的萘浓度、硝酸盐、亚硝酸盐浓度、瓶内气体浓度,并参照 1.2 节的方法提取各时间段 DNA 用于后续的定量 PCR.

萘的提取参照国家标准(HJ 478-2009)^[18],采用整瓶萃取的方法进行. 主要步骤如下,①萃取:摇匀血清瓶中的富集液,将 45 mL 的样品全部倒入 250 mL 的分液漏斗中,加入 1.5 g 氯化钠,用 50 mL 正己烷分 3 次洗涤血清瓶后加入分液漏斗,振荡 5 min,静置分层,收集有机相,水相再用正己烷重复萃取 2 遍,弃去水相,合并有机相,加适量无水硫酸钠至萃取液澄清,轻摇静置;②浓缩:将萃取液转移至 250 mL 浓缩瓶中,用正己烷洗涤所盛有机相瓶 3 次,每次 5~10 mL,洗涤液也并入同一浓缩瓶中,于 -46 kPa, 45℃ 下旋蒸浓缩至 3~5 mL;③置换:加入 25 mL 甲醇(液相色谱纯)进行溶剂置换,再于 50~55℃ 旋蒸浓缩至 3~5 mL,并转移到比色管中,用甲醇定容至 5 mL;④上样:过 0.45 μm 滤膜,以萘的标准品(Dr. Ehrenstorfer, 德国)配制标准曲线,用高效液相色谱 HITACHI L-7100 (Hitachi High-Technologies Corporation, 日本)测定各样品中的萘浓度,并通过公式(1)和公式(2)分别计算萘的降解率(%)及降解速率 $[mg \cdot (L \cdot d)^{-1}]$.

$$\text{萘降解率} = [(c_{\text{tek}} - c_i)/20] \times 100\% \quad (1)$$

式中, c_{tek} 为各取样天 CK 中测得的萘浓度

$(mg \cdot L^{-1})$; c_i 为各取样天接种富集菌群中萘的浓度 $(mg \cdot L^{-1})$, 20 为添加的萘初始浓度 $(mg \cdot L^{-1})$.

$$\text{萘降解速率} = (c_{i1} - c_{i2}) / (t_2 - t_1) \quad (2)$$

式中, c_{i1} 和 c_{i2} 分别为前后两个连续的采样时间点测得的血清瓶中萘浓度 $(mg \cdot L^{-1})$, t_1 和 t_2 分别为前后两个连续取样测定的时间点(d).

1.4 硝酸根、亚硝酸根及气体浓度的测定

在上述各取样时间点,用注射器抽取 5 mL 富集培养液,过 0.45 μm 滤膜于离心管中,取 1.25 mL 定容至 25 mL,随后用离子色谱仪 ICS-1100 (Dionex Corporation, 美国)测定 NO_3^- 及 NO_2^- 的浓度.

在上述各取样天抽取瓶内气体,用气相色谱 (Agilent Technologies 7890A, 美国)测定血清瓶中的 N_2O 浓度,并按下列公式分别计算 N_2O [公式(3)] 及 N_2 [公式(4)] 的产生速率 $[\mu g \cdot (L \cdot h)^{-1}]$.

$$N_2O \text{ 产生速率} = (N_2O_{c_{i2}} - N_2O_{c_{i1}}) / (t_2 - t_1) \quad (3)$$

式中, $N_2O_{c_{i1}}$ 和 $N_2O_{c_{i2}}$ 分别为前后两个连续的采样时间点测得的血清瓶中 N_2O 浓度 $(\mu g \cdot L^{-1})$, t_1 和 t_2 分别为前后两个连续取样测定的时间点(h).

$$N_2 \text{ 产生速率} = [(N_2O_{\text{乙炔}c_{i2}} - N_2O_{c_{i2}}) - (N_2O_{\text{乙炔}c_{i1}} - N_2O_{c_{i1}})] / (t_2 - t_1) \quad (4)$$

式中, $N_2O_{\text{乙炔}c_{i1}}$ 和 $N_2O_{\text{乙炔}c_{i2}}$ 分别为前后两个连续的采样时间点测得的充入乙炔处理的血清瓶中 N_2O 浓度 $(\mu g \cdot L^{-1})$, $N_2O_{c_{i1}}$ 、 $N_2O_{c_{i2}}$ 、 t_1 和 t_2 同公式(3).

1.5 反硝化相关的 *narG* 及 *nirS* 的定量 PCR

反硝化相关的 *narG* 及 *nirS* 基因丰度的检测用 SYBR GREEN 法,在荧光定量 PCR 仪 (ABI7500, Applied Biosystems, 美国) 上进行. 引物对 1960F (TYAGTSGGSCARGARAA) 和 2650R (TYTCRTAC CABGTBGC)^[19], Cd3aF (GTSAACGTSAAAGGARA CSGG) 和 R3cd (GASTTCGGRTGSGTCTTGA)^[20] 分别用于 *narG* 及 *nirS* 基因的扩增. 定量 PCR 按照 Premix Ex Taq™ (TaKaRa Biotechnology, 日本) 的说明书进行,反应采用 25 μL 体系,其中含上下游引物各 1 μL , DNA 模板 1 μL . *narG* 基因的反应条件为:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 58℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 45 s, 共 40 个循环; 72℃ 延伸 10 min. *nirS* 基因的反应条件为:94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 52℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 40 个循环; 72℃ 延伸 10 min. 实验中的标准曲线参照 He 等^[21] 的方法进行,在各反应完成后,设置了

溶解曲线程序(60 ~ 90℃), 用来检测 real-time PCR 产物的特异性, 最后通过 ABI 7500 Software(version 2.0.6)来分析所得的数据并计算各样品中相关基因的拷贝数.

1.6 数据处理与分析

实验数据的统计分析在 SPSS 17.0 (SPSS, 美国)软件中, 用单因素方差分析的 S-N-K (Student-Newman-Keuls test)法检验不同样品之间的差异显著性 ($P < 0.05$ 表示差异显著). 用 SPSS 中的 Pearson 相关检验来完成各指标之间的相关性分析.

2 结果与分析

2.1 富集菌群的群落组成

通过 Illumina MiSeq 测序从该萘反硝化降解菌

群中共获取了30 454条有效序列, 在 97% 的相似度下可分为 17 个 OTUs, 它们分别属于变形菌门(9)、拟杆菌门(2)、放线菌门(3)和厚壁菌门(3). 其在门和属水平上的细菌群落结构见图 1. 可见, 该富集物中的细菌由变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和放线菌门(Actinobacteria)组成, 且 Proteobacteria (98.02%)是最明显的优势菌门[图 1(a)]. 该富集物中可检测的优势已知菌属(相对丰度 > 1%)则为变形菌门中的假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽单胞菌门中的芽单胞菌属(*Blastomonas*)和 *Blgi5_norank*[图 1(b)]. 其中 *Pseudomonas* 是富集菌群中的优势菌属, 也是一种具备反硝化能力的菌属, 其相对丰度为 90.89%.

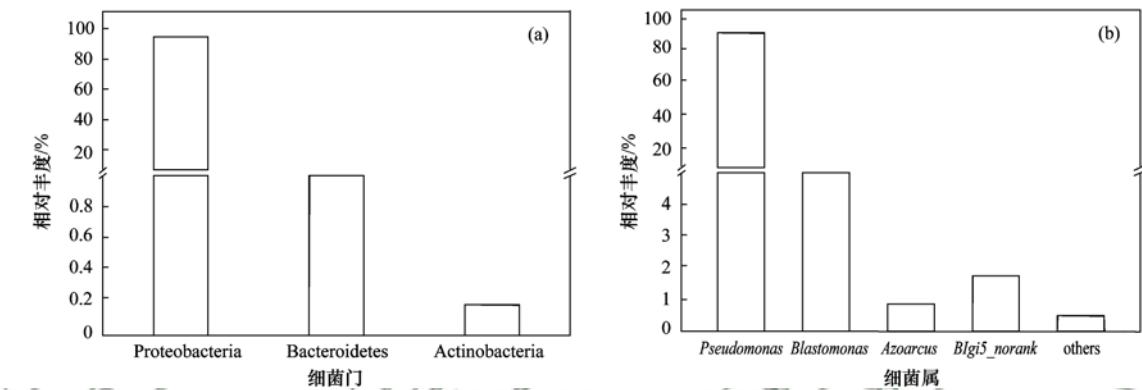


图 1 富集菌群在细菌门和属水平上的群落组成
Fig. 1 Bacterial community compositions based on phylum and genus in the enriched consortium

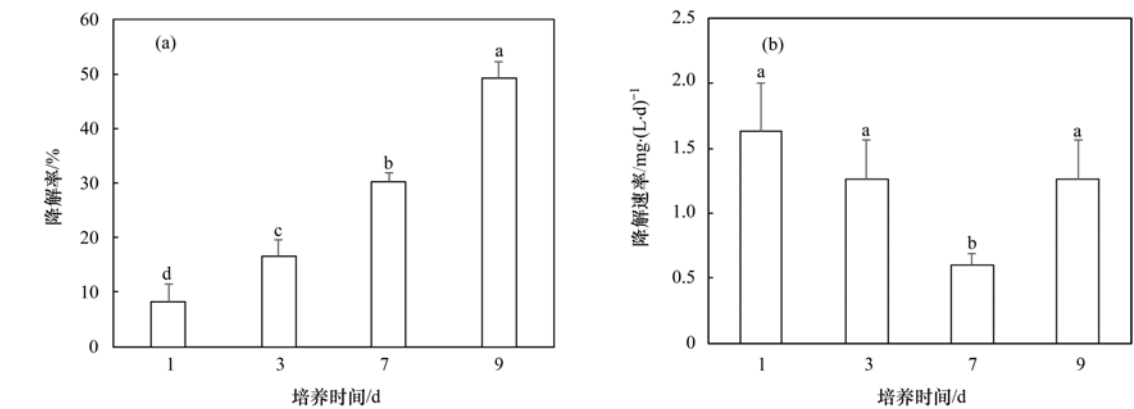
2.2 富集菌群萘降解率及降解速率的动态变化

培养的第 1、3、7 及 9 d, 富集培养液中萘降解率及萘降解速率的动态变化如图 2 所示. 可见, 富集菌群中萘的降解率在培养期间不断增加, 从第 1 d 的 8.16% 增加至第 9 d 的 49.11% [图 2(a)]. 第 1、3 及 9 d 时萘的降解速率显著高于第 7 d 的萘降

解速率 ($P < 0.05$), 其中第 1 d 的最高 [$1.63 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$], 而第 3 及 9 d 的降解速率与第 1 d 无显著差异[图 2(b)].

2.3 萘降解过程中 NO_3^- 、 NO_2^- 浓度及气体(N_2O 、 N_2)产生速率的动态变化

富集培养液中 NO_3^- 、 NO_2^- 浓度及气体产生速



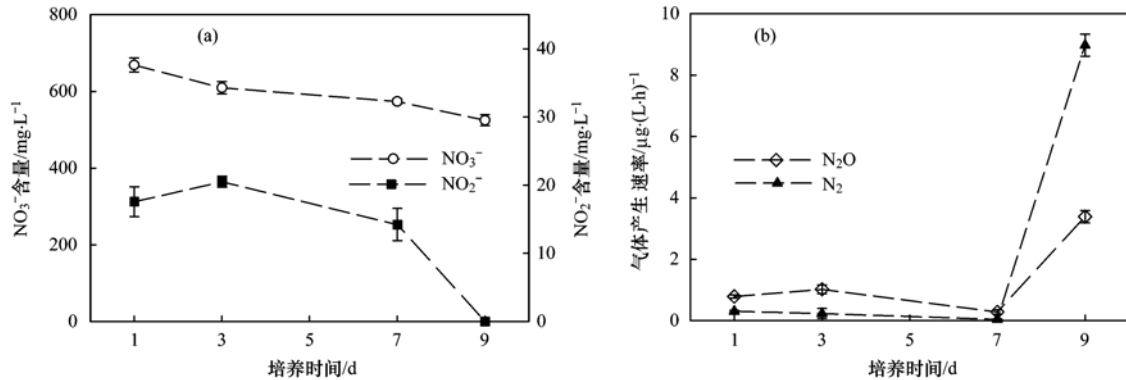
图中误差线为标准偏差 ($n = 3$), 其上方不同小写字母代表各取样天之间的差异性显著 ($P < 0.05$)

图 2 富集液中萘降解率及降解速率的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of the naphthalene degradation rate and degradation speed during incubation

率的动态变化如图3所示. 可知, 培养期间培养液中 NO_3^- 的浓度不断减少, 而 NO_2^- 在前3 d 有所累积, 之后迅速下降, 第9 d 培养液中已经检测不到 NO_2^- [图3(a)]. 培养期间富集培养血清瓶中 N_2O 和 N_2 产生速率的动态变化如图3(b)所示. 培养期间, 富集培养液中不论是 N_2O 还是 N_2 的产生速率

在培养的第1、3及7 d 差别均较小, 但是在培养的第9 d 它们的产生速率均显著高于前3个取样天 ($P < 0.05$). 对两种气体的产生速率进行比较, 培养的1、3及7 d, N_2O 的产生速率均高于 N_2 , 但第9 d 后者 [$8.97 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] 显著高于前者 [$3.39 \mu\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$] ($P < 0.05$).



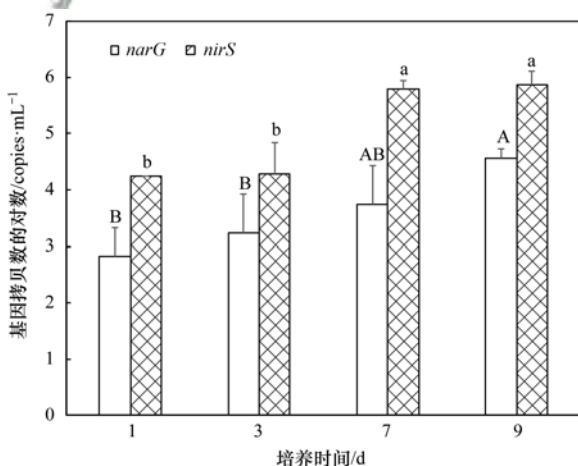
图中误差线为标准偏差 ($n=3$)

图3 富集液中 NO_3^- 、 NO_2^- 浓度及 N_2O 、 N_2 产生速率的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of NO_3^- and NO_2^- concentrations and production rates of N_2O and N_2 during incubation

2.4 萘降解过程中 *narG* 及 *nirS* 丰度的动态变化

图4为培养过程中 *narG* 及 *nirS* 丰度的动态变化. 可见, 在培养期间, *narG* 基因丰度低于 *nirS* 丰度, 且它们均呈现随时间的延续而增加的趋势. 其中, *narG* 基因丰度在培养的第9 d 达到最大 ($3.80 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$), 显著高于1、3 d 的 *narG* 丰度. 而后两次取样的 *nirS* 基因丰度 (第7及9 d) 显著高于第1及3 d ($P < 0.05$).



图中误差线为标准偏差 ($n=3$), 其上方不同大写和小写字母分别指示 *narG* 及 *nirS* 基因在不同取样天的差异显著 ($P < 0.05$)

图4 培养期间富集培养液中 *narG* 及 *nirS* 基因的丰度

Fig. 4 Abundances of *narG* and *nirS* genes in the enriched consortium during incubation

3 讨论

Illumina MiSeq 测序的结果表明, 假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 是富集菌群中的最大优势微生物. 该菌是变形菌门的重要属, 在土壤、水、空气等潮湿的环境中广泛存在, 且可以以多数有机污染物作为碳源和能源进行生长^[22], 并具备较强的反硝化能力^[23]. 同时, 反硝化条件下假单胞菌属对典型 PAHs (萘、蒽) 的降解也已经为人们所证实^[24~26]. Liang 等^[26] 从汕头近海分离得到1株假单胞菌能够在缺氧反硝化条件下降解菲、荧蒽等 PAHs. 此外, 本研究的富集菌群中还检测到芽单胞菌属 (*Blastomonas*) 和固氮弓菌属 (*Azoarcus*), 其中有关 *Blastomonas* 对污染物的降解目前还鲜有报道, 其是否具备反硝化能力还有待进一步研究. 而 *Azoarcus* 被证实具备较强的复杂有机物降解能力^[27,28], 可见它们可能也在萘的反硝化代谢中起到了一定的协同作用.

本研究通过以萘为单一碳源的培养基, 厌氧条件下富集萘的反硝化降解菌群, 并初步探究其对萘的降解与反硝化过程的偶联关系. 结果表明, 该富集菌群9 d 内对萘的降解率可达49.11%, 且对萘的平均降解速率为 $1.189 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$. 已有的研究表明, 富集的反硝化菌群及纯培养菌株对萘的降解率在20.2%~96.3%^[11,15,16]. Dou 等^[16] 通过

厌氧条件下,从土壤中分离得到的纯培养菌对萘的降解速率达到 $1.8 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$,而且当萘起始浓度低于 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,几乎所有的萘在 25 d 内被降解.可见,本研究获取的反硝化菌群具备较强的萘代谢能力.该菌群代谢萘的过程中,培养液中 NO_3^- 浓度逐渐下降,表明 NO_3^- 的利用与萘的代谢直接相关.其原因在于,首先 NO_3^- 作为该富集菌群反硝化作用的电子受体被还原,其次 NO_3^- 还可作为微生物的氮源,通过同化型硝酸盐还原过程被微生物同化^[13].与 NO_3^- 不同, NO_2^- 浓度在培养初期有明显的积累,表明培养初期(1~3 d)由 NO_3^- 还原形成 NO_2^- 的过程(反硝化的第一步)占主导作用,而此时也具备较高的萘降解速率.这表明,萘的降解可能与反硝化过程的第一步具有密切的关系.当前,PAHs 反硝化降解过程中的亚硝酸盐积累现象在富集菌群及土壤复杂环境下均有报道^[16,29,30].如 Dou 等^[16]发现萘在反硝化条件下的降解过程中,主要为亚硝酸盐的积累.而 Chang 等^[29]在研究台湾龟山等地区土壤对 PAHs 的降解时发现,土壤中的菲、芘、蒽、芴、萘降解过程中伴随有大量的亚硝酸盐累积.可见,硝酸盐还原为亚硝酸盐的过程在萘的反硝化降解中具有重要的地位.本研究中,3 d 后培养液中 NO_2^- 浓度的急剧下降及后期(第 9 d)气体生成速率的急剧上升,均表明此后 NO_2^- 还原过程(反硝化过程中气态产物产生步骤)开始发生.与此同时,之后的 5、7 及 9 d 同样伴随了萘的降解,可见反硝化过程中的 NO_2^- 还原及气态产物产生过程也可能与萘的代谢相偶联.翟晓峰等报道^[31],无论以 NO_3^- 还是 NO_2^- 作为电子受体,反硝化菌均可产生 N_2O ,但以 NO_2^- 为电子受体时释放的 N_2O 更多.在反硝化阶段,各种还原酶对电子的竞争能力不同^[32],且 NO_2^- 可能对 N_2O 还原酶具有较强的抑制作用^[33],因此本研究在 NO_2^- 浓度急剧下降的后期,检测到大量的 N_2 产生.不同的菌群对萘的代谢与反硝化过程偶联的机制也可能不同.如 Rockne 等^[15]从海洋沉积物中分离到两株能够利用硝酸盐为电子受体降解萘的细菌,它们分别与 *Pseudomonas stutzeri* 及 *Vibrio pelagius* 有较近的亲缘关系.这两种菌株代谢过程存在明显的差别,前者能够将萘的部分矿化与完整的反硝化过程偶联,而后者只能将萘的矿化与硝酸盐的还原(产生亚硝酸盐)相偶联.

本研究中,反硝化相关的硝酸盐还原酶基因

(*narG*)和亚硝酸盐还原酶基因(*nirS*)的丰度均随培养时间而增加,表明富集菌群中的反硝化细菌数目随培养时间延长而快速增加.值得注意的是 *narG* 基因的丰度与硝酸根($r = -0.862$, $P < 0.01$)的浓度呈显著负相关,而 *nirS* 基因丰度则与亚硝酸根($r = -0.725$, $P < 0.01$)的浓度呈显著负相关,表明上述基因的丰度并不与其对应底物浓度成正比,而是随底物的消耗而增长.虽然培养后期,相关基因丰度增加的同时也检测到较高气体生产速率,但仅在 *narG* 基因丰度与 N_2O 的产生速率之间有显著正相关($r = 0.632$, $P < 0.05$),表明反硝化基因丰度与反硝化活性存在一定的联系,但基于 DNA 水平的定量 PCR 还不足以反映环境中反硝化微生物的真实活性^[34,35].因此,要充分考察基因丰度与反硝化活性的关系,基于 mRNA 的定量 PCR 可能是未来进一步深入研究 PAHs 厌氧代谢与反硝化偶联机制的有效手段.

4 结论

(1)变形菌门中的 *Pseudomonas* 是该富集菌群中最大优势微生物,同时 *Blastomonas* 和 *Azoarcus* 可能在萘降解过程中起到一定的协助作用.

(2)富集获取到萘的反硝化降解菌群,平均降解速率为 $1.189 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$,其 9 d 对萘的降解率可达 49.11%.

(3)该菌群代谢萘的过程不仅与反硝化的第一步反应硝酸盐还原过程有密切的偶联关系,还可能与亚硝酸盐还原的含氮气体产生过程相关.

参考文献:

- [1] 王艳,辛嘉英,宋昊,等.生物降解萘的研究进展[J].中国生物工程杂志,2009,29(9):119-124.
Wang Y, Xin J Y, Song H, et al. Advances in biodegradation of naphthalene[J]. China Biotechnology, 2009, 29(9): 119-124.
- [2] Seo J S, Keum Y S, Li Q X. Bacterial degradation of aromatic compounds[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2009, 6(1): 278-309.
- [3] Harayama S, Rekik M, Wasserfallen A, et al. Evolutionary relationships between catabolic pathways for aromatics: conservation of gene order and nucleotide sequences of catechol oxidation genes of pWWO and NAH7 plasmids[J]. Molecular and General Genetics MGG, 1987, 210(2): 241-247.
- [4] Baboshin M, Akimov V, Baskunov B, et al. Conversion of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. VKM B-2434[J]. Biodegradation, 2008, 19(4): 567-576.
- [5] Lee H J, Kim J M, Lee S H, et al. Gentisate 1,2-dioxygenase, in the third naphthalene catabolic gene cluster of *Polaromonas naphthalenivorans* CJ2, has a role in naphthalene degradation[J]. Microbiology, 2011, 157(10): 2891-2903.

- [6] 姚炎红, 王明霞, 左小虎, 等. 典型油田多环芳烃污染对土壤反硝化微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2016, **37**(12): 4750-4759.
Yao Y H, Wang M X, Zou X H, *et al.* Effects of PAHs pollution on the community structure of denitrifiers in a typical oilfield[J]. Environmental Science, 2016, **37**(12): 4750-4759.
- [7] Meckenstock R U, Mouttaki H. Anaerobic degradation of non-substituted aromatic hydrocarbons [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2011, **22**(3): 406-414.
- [8] Musat F, Galushko A, Jacob J, *et al.* Anaerobic degradation of naphthalene and 2-methylnaphthalene by strains of marine sulfate-reducing bacteria [J]. Environmental Microbiology, 2009, **11**(1): 209-219.
- [9] Mouttaki H, Johannes J, Meckenstock R U. Identification of naphthalene carboxylase as a prototype for the anaerobic activation of non-substituted aromatic hydrocarbons [J]. Environmental Microbiology, 2012, **14**(10): 2770-2774.
- [10] Eberlein C, Johannes J, Mouttaki H, *et al.* ATP-dependent/-independent enzymatic ring reductions involved in the anaerobic catabolism of naphthalene [J]. Environmental Microbiology, 2013, **15**(6): 1832-1841.
- [11] Lu X Y, Zhang T, Fang H H P, *et al.* Biodegradation of naphthalene by enriched marine denitrifying bacteria [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, **65**(1): 204-211.
- [12] Burgin A J, Hamilton S K. Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? A review of nitrate removal pathways[J]. Frontiers in Ecology and the Environment, 2007, **5**(2): 89-96.
- [13] 江利梅, 陈杏娟, 马连营, 等. 硝酸盐还原促进毒害性有机污染物降解的研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, **41**(8): 1661-1666.
Jiang L M, Chen X J, Ma L Y, *et al.* Perspectives on the nitrate reduction coupling biodegradation of toxic organic contaminants [J]. Microbiology China, 2014, **41**(8): 1661-1666.
- [14] Mihelcic J R, Luthy R G. Microbial degradation of acenaphthene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, **54**(5): 1188-1198.
- [15] Rockne K J, Chee-Sanford J C, Sanford R A, *et al.* Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(4): 1595-1601.
- [16] Dou J F, Liu X, Ding A Z. Anaerobic degradation of naphthalene by the mixed bacteria under nitrate reducing conditions[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **165**(1-3): 325-331.
- [17] Schloss P D, Gevers D, Westcott S L. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies[J]. PLoS One, 2011, **6**(12): e27310.
- [18] 中华人民共和国环境保护部. HJ 478-2009, 水质 多环芳烃的测定 液液萃取和固相萃取高效液相色谱法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [19] Philippot L, Piutti S, Martin-Laurent F, *et al.* Molecular analysis of the nitrate-reducing community from unplanted and maize-planted soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(12): 6121-6128.
- [20] Michotey V, Méjean V, Bonin P. Comparison of methods for quantification of cytochrome *cd₁*-denitrifying bacteria in environmental marine samples[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(4): 1564-1571.
- [21] He J Z, Shen J P, Zhang L M, *et al.* Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices[J]. Environmental Microbiology, 2007, **9**(9): 2364-2374.
- [22] Ridgway H F, Safarik J, Phipps D, *et al.* Identification and catabolic activity of well-derived gasoline-degrading bacteria from a contaminated aquifer [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, **56**(11): 3565-3575.
- [23] 孟婷, 杨宏. 高效反硝化细菌的快速培养及群落结构多样性分析[J]. 环境科学, 2017, **38**(9): 3816-3822.
Meng T, Yang H. Rapid culture, microbial community structure, and diversity of high-efficiency denitrifying bacteria [J]. Environmental Science, 2017, **38**(9): 3816-3822.
- [24] Lee K, Park J W, Ahn I S. Effect of additional carbon source on naphthalene biodegradation by *Pseudomonas putida* G7 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2003, **105**(1-3): 157-167.
- [25] Jacques R J S, Santos E C, Bento F M, *et al.* Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. isolated from a petrochemical sludge landfarming site [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, **56**(3): 143-150.
- [26] Liang L, Song X H, Kong J, *et al.* Anaerobic biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a facultative anaerobe *Pseudomonas* sp. JP1 [J]. Biodegradation, 2014, **25**(6): 825-833.
- [27] Rhee S K, Lee G M, Yoon J H, *et al.* Anaerobic and aerobic degradation of pyridine by a newly isolated denitrifying bacterium [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, **63**(7): 2578-2585.
- [28] Ma Q, Qu Y Y, Shen W L, *et al.* Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing [J]. Bioresource Technology, 2015, **179**: 436-443.
- [29] Chang B V, Shiung L C, Yuan S Y. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil [J]. Chemosphere, 2002, **48**(7): 717-724.
- [30] Rockne K J, Strand S E. Anaerobic biodegradation of naphthalene, phenanthrene, and biphenyl by a denitrifying enrichment culture [J]. Water Research, 2001, **35**(1): 291-299.
- [31] 翟晓峰, 蒋成爱, 吴光学, 等. 以甲醇为碳源生物反硝化过程释放一氧化二氮的试验研究[J]. 环境科学, 2013, **34**(4): 1421-1427.
Zhai X F, Jiang C A, Wu G X, *et al.* Nitrous oxide emission during denitrification for activated sludge acclimated with methanol as the organic carbon [J]. Environmental Science, 2013, **34**(4): 1421-1427.
- [32] Schalk-Otte S, Seviour R J, Kuenen J G, *et al.* Nitrous oxide (N_2O) production by *Alcaligenes faecalis* during feast and famine regimes[J]. Water Research, 2000, **34**(7): 2080-2088.
- [33] 王莎莎, 彭永臻, 巩有奎, 等. 不同电子受体低氧条件下生物反硝化过程中氧化亚氮产量[J]. 水处理技术, 2011, **37**(8): 58-60, 67.

- Wang S S, Peng Y Z, Gong Y K, *et al.* Production of N_2O in different electron acceptors during denitrification process under low dissolved oxygen concentration [J]. *Technology of Water Treatment*, 2011, **37**(8): 58-60, 67.
- [34] Boyle S A, Rich J J, Bottomley P J, *et al.* Reciprocal transfer effects on denitrifying community composition and activity at forest and meadow sites in the Cascade Mountains of Oregon[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**(5): 870-878.
- [35] Zhou Z F, Zheng Y M, Shen J P, *et al.* Responses of activities, abundances and community structures of soil denitrifiers to short-term mercury stress [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, **24**(3): 369-375.

《环境科学》连续 6 次荣获 “中国最具国际影响力学术期刊”称号

2017 年 11 月 22 日,中国学术期刊(光盘版)电子杂志社(CNKI)等机构发布“2017 中国最具国际影响力学术期刊”评选结果.《环境科学》荣获“2017 中国最具国际影响力学术期刊”称号,是唯一入选的环境科学与资源科学类中文期刊,也是自首次评选以来连续 6 次获此殊荣.评选以期刊国际影响力指数进行排序,遴选出排名前 5% (Top5%) 的期刊获评“中国最具国际影响力学术期刊”.

环境科学

CONTENTS

Estimation of Fine Particle ($PM_{2.5}$) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)
Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in $PM_{2.5}$ in summertime Shanghai, China	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in $PM_{2.5}$ in the Southern Suburbs of Beijing	GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust $PM_{2.5}$ During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method	ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)
HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China	TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)
Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes	HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)
Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)
Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers	LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)
Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales	PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)
Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR	JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)
Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)
Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary	ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)
Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China	LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)
Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau	MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)
Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River	LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)
Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors	ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)
Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir	ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)
Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin	WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)
Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR	SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)
Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)
Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir	WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)
Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams	YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)
Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch	LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)
Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions	XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)
Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate	SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)
Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a $MnFe_2O_4$ -graphene Hybrid	XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars	LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior	LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)
Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant	SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)
Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater	LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)
Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater	TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)
Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR	FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)
Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes	GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)
Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants	WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)
Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge	DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)
Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules	LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)
Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China	WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)
Characteristics of N_2O Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer	ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)
Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu	JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)
Dynamics of CO_2 and N_2O in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia	LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)
Characteristics of CO_2 Flux in a Mature Apple (<i>Malus domestica</i>) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau	YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)
Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)
Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil	LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)
Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)
Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater	LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)
Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing	LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)
Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology	ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)
Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil	YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)
Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings	FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)
Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments	KANG Peng-liang, ZHANG Hai-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431)
Investigation of the Coupling Mechanism between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification	ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)
Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)
Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)
Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues (<i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages	WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)
Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area	LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)
Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain	XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)
Health Effects of $PM_{2.5}$ Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice	SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)
Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of $PM_{2.5}$ Concentrations in China: An Exploratory Analysis	DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)