

研究报告

氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 还原 Cr(VI)能力的影响

吴颖 邓鹏 贾燕 白群华 肖虹*

(重庆医科大学公共卫生与管理学院 医学与社会发展研究中心
健康领域社会风险预测治理协同创新中心 重庆 400016)

摘要:【目的】研究氨氮(AN)与硝酸盐氮(NN)对沙雷氏菌 S2 还原 Cr(VI)能力的影响。【方法】在实验室中模拟常见的环境中氮污染, S2 在含 Cr(VI)培养的同时在培养体系中加入不同剂量的 AN 或/和 NN, 每隔一定时间测定培养体系的菌量(A_{600})、Cr(VI)还原率、AN 含量、NN 含量。【结果】低、中浓度 AN 能缓解 Cr(VI)对 S2 生长的抑制作用; 高浓度 NN 和 AN 可加快 S2 的衰亡。AN 独立作用时, 各组间 Cr(VI)去除率和氨氮含量无显著关联。NN 独立作用时, S2 的 Cr(VI)去除率在低浓度组降低 10.0%以上($P<0.05$), 在高浓度组增高 7.1% ($P<0.05$); S2 能在 4 h 内使 200 mg/L 的 NN 降至对照组水平。双氮联合作用时, 低浓度组对菌株除 Cr(VI)能力的影响与 AN 单独作用类似, 而高浓度组则类似 NN 单独作用。【结论】AN 的存在对 S2 的 Cr(VI)还原能力无明显影响, NN 浓度高低对 S2 的 Cr(VI)还原能力有不同影响, S2 具有很强的除 NN 能力, 可同时去除环境中 Cr(VI)和硝酸盐氮污染。

关键词: 沙雷氏菌, 除 Cr(VI), 氨氮, 硝酸盐氮

Effects of ammonia and nitrate nitrogen on Cr(VI) reduction ability of *Serratia* sp. S2

WU Ying DENG Peng JIA Yan BAI Qun-Hua XIAO Hong*

(School of Public Health and Management, Research Center for Medicine and Social Development, Innovation Center for Social Risk Governance in Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: [Objective] To study the effect of Cr(VI) reduction ability of *Serratia* sp. S2 under ammonia nitrogen (AN) and nitrate nitrogen (NN) with different concentration. [Methods] Simulated the nitrogen pollution of common environment in the laboratory and added different doses of AN or/and NN to the cultivation system in order to evaluate the effect of different types and concentrations of nitrogen, S2 was cultured in the premise of the Cr(VI) containing culture. Shake culture at constant 37 °C and measure A_{600} , removal rate of Cr(VI), amount of AN and NN at a regular intervals. [Results] The growth inhibition of Cr(VI) to S2 was remitted under the low and middle AN groups. The decline of S2 was accelerated under the high AN and NN groups. The removal rate of Cr(VI) and

Foundation item: Natural Science Foundation Project of Chongqing Municipal Science and Technology Commission (No. 2010BB5360)

*Corresponding author: Tel/Fax: 86-23-68485008; E-mail: xhk20@163.com

Received: February 28, 2015; Accepted: May 25, 2015; Published online (www.cnki.net): June 02, 2015
基金项目: 重庆市自然科学基金计划项目(No. 2010BB5360)

*通讯作者: Tel/Fax: 86-23-68485008; E-mail: xhk20@163.com

收稿日期: 2015-02-28; 接受日期: 2015-05-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-06-02

amount of AN among experience and control groups according to the independent effect of AN had no significant relationship. The removal rate of Cr(VI) of low concentration groups had a significant reduction of more than 10.0% and a increase of 7.1% in high concentration groups according to the independent effect of NN. S2 had the ability to reduce 200 mg/L NN to the level of control groups within 4 h. While AN and NN effect at the same time, AN played a leading role in low concentration groups and NN in high groups during the course of Cr(VI) reduction. **[Conclusion]** The presence of AN had no significant effect to the Cr(VI)-removal ability. Different concentrations of NN had different effect to Cr(VI)-removal ability. High concentration groups had an advantage effect. S2 had a significant ability of reducing NN.

Keywords: *Serratia* sp., Cr(VI) reduction, Ammonia nitrogen, Nitrate nitrogen

随着社会的进步和工业的发展, 导致人工合成的有机物种类多达十多万种以上, 并且以每年 2 000 种的速度递增^[1]。《2013 中国环境状况公报》^[2]中指出 2013 年全国废水排放总量中氨氮为 245.7 万 t; 三峡库区长江干流水质良好, 一级支流总氮超标断面比例为 90.7%。总氮是指水中各种状态的有机氮和无机氮, 无机氮又包括了氨氮 (Ammonia nitrogen, AN)、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮 (Nitrate nitrogen, NN), 而水中的有机氮在微生物作用下也可转变为无机氮, 最终都以硝酸盐氮的形式存在于水体中, 主要反映水体受污染的程度^[3]。

铬是工业废水中常见的重金属污染物, 许多行业如电镀、化工、印染、皮革、采矿等都会排放出大量的含 Cr(VI)废水及废渣^[4]。在治理 Cr(VI)污染的废水时可利用微生物将毒性大的 Cr(VI)转化为毒性低 100 倍的 Cr(III)^[5], 现在已经有不少的学者研究利用微生物菌株对 Cr(VI)进行生物解毒, 如大肠杆菌^[6-7]、苏云金芽孢杆菌^[8]、苍白杆菌^[9]、无色杆菌^[10-11]、铜绿假单胞菌^[12]、*Serratia proteamaculans*^[13]等。

已有文献报道被 Cr(VI)污染的环境一般会伴随硝酸盐氮污染^[14], 近年来研究者们开始针对氮对于微生物除 Cr(VI)效果的影响进行研究^[15-16]。本研究小组从长期 Cr(VI)和氮污染的环境^[17-18]中分离培养出具有除 Cr(VI)能力的沙雷氏菌 S2^[19]。本文于实验室中模拟常见的环境氮污染物——氨氮(AN)和硝酸盐氮(NN), 研究 AN 和 NN 对 S2 的除 Cr(VI)能力的影响, 为进一步利用该菌治理环境污染和更加

深入地研究细菌除 Cr(VI)机制提供帮助。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株: 沙雷氏菌 S2 是研究者从重庆市某长期 Cr(VI)污染区域^[17]中分离筛选出的除 Cr(VI)菌株^[18], 实验室-80 °C 保存备用。

1.1.2 培养基: LB 肉汤(g/L): 胰蛋白胨 10, 酵母提取物 5, NaCl 5, 调节 pH 值至 7.0。

1.2 实验方法

1.2.1 菌液的制备: 取冻存的沙雷氏菌 S2 菌种接入 LB 肉汤中, 30 °C 静置培养 24 h 为种子液。种子液接种于培养体系前均用无菌 LB 肉汤调节 A_{600} 至约 0.09。

1.2.2 氨氮对沙雷氏菌 S2 的独立影响: 配制 18 瓶 LB 液体培养基, 随机分为 6 组, 每组 3 个平行样。其中 1 组为 LB 对照组, 1 组为 Cr 对照组(LB+Cr), 4 组为实验组(LB+Cr+AN)。在实验组和(LB+Cr)组中加入 $K_2Cr_2O_7$, 使其 Cr(VI)浓度为 50 mg/L, 再在实验组中加入不同剂量的 NH_4Cl , 使其 AN 浓度分别为 20、50、100、200 mg/L。将 100 μL 的 S2 种子液加入到各组培养体系中, 37 °C、200 r/min 培养, 分别于 0、4、8、12、24、36、48 h 测定培养液的 A_{600} 、Cr(VI)含量和 AN 含量。

1.2.3 硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 的独立影响: 培养体系的制备同 1.2.2, 仅将加入实验组的 NH_4Cl 更换为 KNO_3 , 使其 NN 浓度分别为 20、50、100、200 mg/L。培养后测定培养液的 A_{600} 、Cr(VI)含量

和 NN 含量。

1.2.4 氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 的联合影响: 培养体系的制备同 1.2.2 和 1.2.3, 仅更换为实验组中同时加入 NH_4Cl 和 KNO_3 , 使其 AN 和 NN 浓度均为 20、50、100、200 mg/L。培养后测定培养液的 A_{600} 、Cr(VI)、AN 和 NN 含量。

1.2.5 检测方法: 采用 600 nm 吸光度值(A_{600})测定培养液中的菌量; 用二苯碳酰二肼分光光度法(GB 7467-87)测定培养体系上清液中 Cr(VI)含量, 并计算体系中的 Cr(VI)还原率(%); 用水杨酸分光光度法(HJ536-2009)测定培养体系上清液中 AN 含量; 用麝香草酚分光光度法(GB/T5750.5-2006)测定培养体系上清液中 NN 含量。

1.3 数据处理

数据输入 Excel, 用 SPSS 17.0 进行数据的统计学分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 氨氮对沙雷氏菌 S2 的影响

2.1.1 氨氮对沙雷氏菌 S2 含 Cr(VI)生长曲线的影响: 在 AN 独立作用条件下, 沙雷氏菌 S2 含 Cr(VI)培养的生长曲线见图 1。LB 组培养 4 h 后进入对数生长期, 48 h 前 LB 组菌量始终大于其他组 ($P < 0.05$), 说明 Cr(VI)对菌株生长有抑制作用; (LB+Cr)组及实验组培养 8 h 后逐渐进入对数生长期, 其中(LB+Cr)组和高浓度 AN 组(200 mg/L)最慢进入对数生长期, 说明低、中浓度 AN 可缓解 Cr(VI)对菌株生长的抑制; 所有组培养 24–36 h 后体系中细菌含量达到最高, 随后逐渐下降; 24 h 时(LB+Cr)组及实验组间菌量无显著差异 ($P > 0.05$), 说明 AN 的存在与否对菌株稳定期的含 Cr(VI)生长无明显影响; 36–48 h 时 LB 组和(LB+Cr)组的菌量大于各含 AN 的实验组 ($P < 0.05$), 说明 AN 的存在会加快菌株的衰亡进程。

2.1.2 氨氮独立作用下对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的影响: 在 AN 独立作用下, 沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原率(%)结果见图 2。各组对 Cr(VI)的还原率(%)

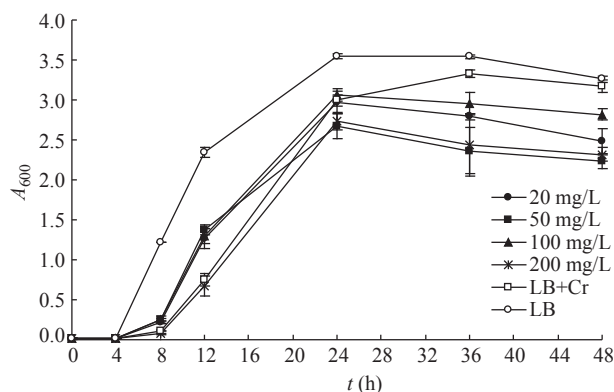


图 1 氨氮对沙雷氏菌 S2 生长曲线的独立影响

Figure 1 Independent effect of ammonia nitrogen on growth curve of S2

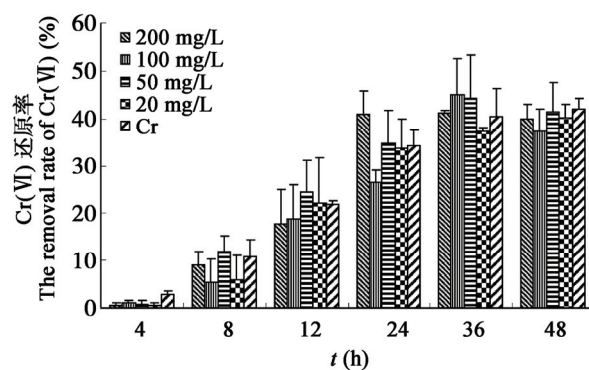


图 2 氨氮对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的独立影响

Figure 2 Independent effect of ammonia nitrogen of S2 on Cr(VI) reduction rate

都随着培养时间的延长显著增加 ($P < 0.05$), 培养 24–36 h 后各组 Cr(VI)还原率达到最高, 约为 40% 左右。但培养 8 h 后, (LB+Cr)组和实验组以及各实验组之间在每一时间点的 Cr(VI)还原率差异不显著 ($P > 0.05$), 即 AN 的存在对沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原能力无明显影响。

2.1.3 氨氮独立作用下反应体系中氨氮含量的变化: AN 独立作用下, 各反应体系中 AN 含量在培养过程中的变化见图 3。培养过程中, 各组的 AN 都显著增加 ($P < 0.05$), 这可能是由于培养过程中培养基中有机氮被 S2 转化为无机氮 AN, 说明 S2 具有一定的氨化作用, 对有机氮有去除效果。由于各

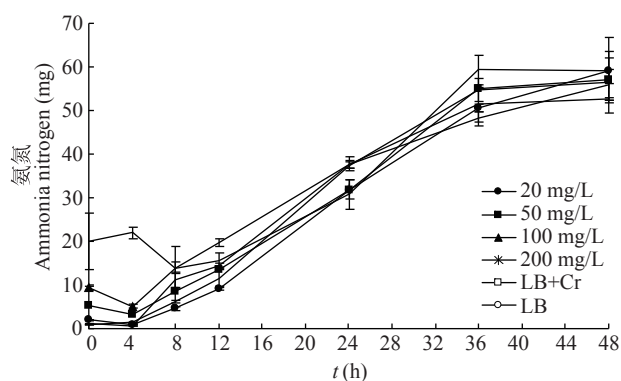


图3 氨氮独立作用下反应体系中氨氮含量变化
Figure 3 Change of ammonia nitrogen in the reaction system under independent effect

组中加入量的不同,在培养过程初期(0 h 和 4 h)各组的 AN 含量是有显著差异的($P<0.05$);但培养 8 h 后,到培养 24 h 和 48 h,各组间 AN 含量差异逐渐不显著($P>0.05$),即各组间 AN 含量无明显差别。说明体系中 Cr(VI)和初始 AN 含量与 S2 培养过程中 AN 变化没有关系。

2.2 硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 的影响

2.2.1 硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 生长曲线的影响:

在 NN 独立作用条件下,沙雷氏菌 S2 含 Cr(VI)培养的生长曲线见图 4。培养 24 h 前, S2 的生长曲线和图 1 相似,即 LB 组菌量始终大于其他组, LB 组的 S2 先于其他组进入对数生长期; (LB+Cr)组和实验组培养 8 h 后进入对数生长期;所有组培养 24–36 h 后体系中细菌含量达到最高,随后逐渐下降;培养 36、48 h 后,高浓度(200 mg/L) NN 组的菌量显著小于其他组($P<0.05$)。说明 Cr(VI)对菌株生长有抑制作用,而 NN 的存在与否对 S2 的生长在稳定期以前无明显影响,但高浓度 NN 可能会加快沙雷氏菌 S2 的衰亡进程。

2.2.2 硝酸盐氮独立作用下对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的影响:在 NN 独立作用下,沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原率(%)结果见图 5。各组的 Cr(VI)还原率(%)都随着培养时间的延长显著增加($P<0.05$),培养 36 h 后各组 Cr(VI)还原率达到最高。但每组的 Cr(VI)还原率不一致,在培养 48 h 后,低浓度 NN

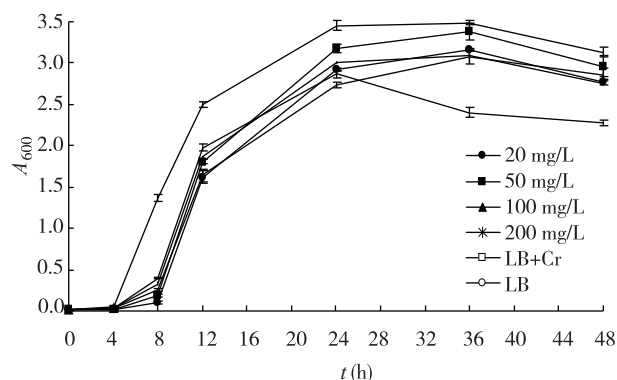


图4 硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 生长曲线的独立影响
Figure 4 Independent effect of nitrate nitrogen on growth curve of S2

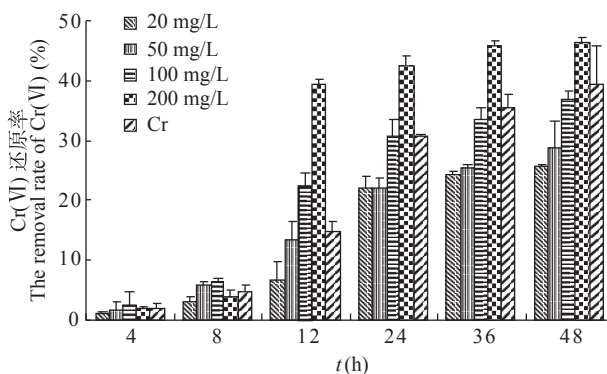


图5 硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的独立影响
Figure 5 Independent effect of nitrate nitrogen of S2 on Cr(VI) reduction rate

组(20、50 mg/L)的 Cr(VI)还原率分别低于(LB+Cr)组 13.8% ($P<0.05$)和 10.7% ($P<0.05$);中浓度 NN 组(100 mg/L)的 Cr(VI)还原率与(LB+Cr)组相似($P>0.05$),而高浓度 NN 组(200 mg/L)的 Cr(VI)还原率则显著大于(LB+Cr)组 7.1% ($P<0.05$),说明低浓度 NN 会降低 S2 的 Cr(VI)还原能力,而高浓度 NN 对 S2 的 Cr(VI)还原能力有促进作用。

2.2.3 硝酸盐氮独立作用下反应体系中硝酸盐氮含量的变化:NN 独立作用下,各反应体系中 NN 含量在培养过程中的变化见图 6。培养过程中, LB 组和(LB+Cr)组的 NN 含量无明显变化,一直维持在 0.5 mg 左右;而各实验组的 NN 含量于培养 8 h 后开始迅速降低;培养 12 h 后,各实验组的 NN 含

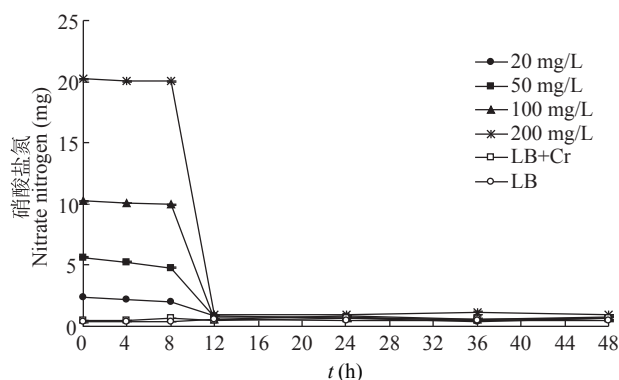


图 6 硝酸盐氮独立作用下反应体系中硝酸盐氮含量变化

Figure 6 Change of nitrate nitrogen in the reaction system under independent effect

量降低至对照组水平附近($P < 0.05$), 并保持在低水平后再无明显变化。本研究中, 实验组中的 NN 于 8 h 后急速降低, 这与 S2 的对数生长期一致, 说明 S2 具有很强的快速去除 NN 的能力。

2.3 氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 的联合影响

2.3.1 氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 生长曲线的联合影响: 在双氮联合作用下, 沙雷氏菌 S2 含 Cr(VI) 培养的生长曲线见图 7。双氮联合培养与独立培养的生长曲线有相似之处, 即 LB 组菌量始终大于其他组, 且所有组培养 24–36 h 后体系中菌量达到最高, 随后逐渐下降; 联合培养的前 24 h, (LB+Cr) 组和高浓度组(200 mg/L)最慢进入对数生长期, 与 AN 独立作用相似; 联合培养 36、48 h, (LB+Cr) 组和低浓度组(20、50 mg/L)菌量无明显差异($P > 0.05$), 中、高浓度组(100、200 mg/L)的菌量显著小于其他组($P < 0.05$)。说明 Cr(VI) 对 S2 生长有抑制作用, 而低浓度组对 S2 的生长无明显影响, 但中、高浓度组使沙雷氏菌 S2 的衰亡进程加快, 与 AN 和 NN 的独立作用都有相似之处。

2.3.2 氨氮和硝酸盐氮联合作用下对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的影响: 在双氮联合作用下, 沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原率(%)结果见图 8。各组的 Cr(VI)还原率(%)都随着培养时间的延长显著增加($P < 0.05$), 培养 24–36 h 后各组 Cr(VI)还原率达到最

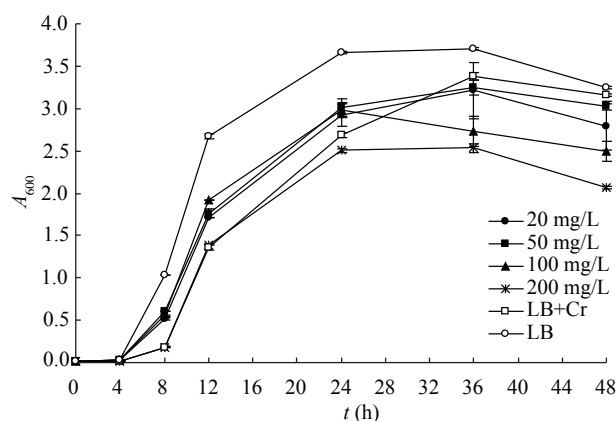


图 7 氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 生长曲线的联合影响

Figure 7 Join effect of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen on growth curve of S2

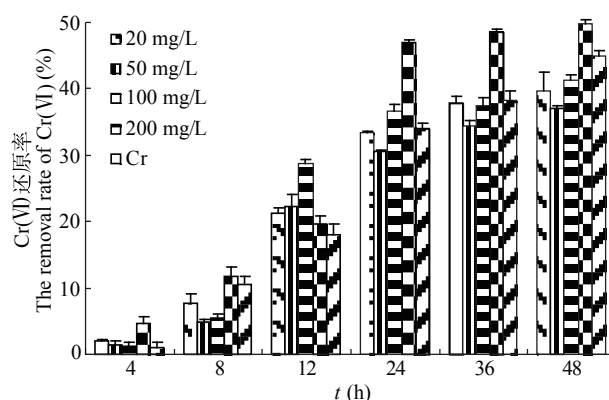


图 8 氨氮和硝酸盐氮对沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的联合影响

Figure 8 Change of Cr(VI) reduction rate under join effect

高。但各组的 Cr(VI)还原率不一致, 培养 48 h 后, 低、中浓度组(20、50、100 mg/L)的 Cr(VI)还原率均低于(LB+Cr)组($P < 0.05$), 而高浓度组(200 mg/L)的 Cr(VI)还原率则显著大于(LB+Cr)组($P < 0.05$)。说明当双氮同时存在时, 低浓度会降低 S2 的 Cr(VI)还原能力, 而高浓度则有促进作用, 此结果与 NN 独立作用结果相似。

2.3.3 氨氮和硝酸盐氮联合作用下反应体系中氨氮含量的变化: 双氮联合作用下, 各反应体系中 AN 含量变化见图 9。培养过程中, 体系中的 AN 含

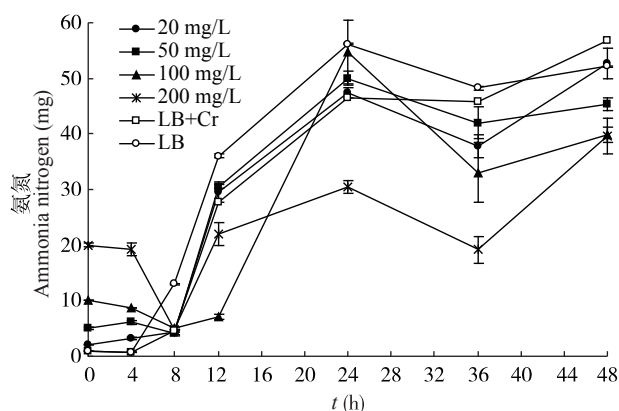


图 9 联合作用下反应体系中氨氮含量变化
Figure 9 Change of ammonia nitrogen in the reaction system under join effect

量变化不规律。培养 48 h 后, 各组的 AN 含量都显著增加($P<0.05$), 此结果与 AN 独立作用结果相似。但中、高浓度组(100、200 mg/L)的 AN 含量培养后显著低于对照组和低浓度组(20 mg/L) ($P<0.05$), 此结果与 AN 独立作用结果不同, 可能是由于体系中有硝酸盐氮共存所导致。

2.3.4 氨氮和硝酸盐氮联合作用下反应体系中硝酸盐氮含量的变化: 双氮联合作用下, 各反应体系中 NN 含量变化见图 10。联合作用与 NN 独立作用比较, 体系中 NN 含量变化在对照组和低、中浓度组是一致的, 即对照组的 NN 含量在培养过程中无明显变化, 低、中浓度组的 NN 含量于培养 8 h 后开始迅速降低; 培养 12 h 后, 低、中浓度组的 NN 含量降低至对照组水平附近($P<0.05$), 并保持在该水平无明显变化; 但高浓度组的 NN 含量变化较 NN 独立作用延后了数小时, 在 12 h 后才开始急剧下降, 并在 24 h 降至对照组水平($P<0.05$), 这可能与高浓度组 S2 最慢进入对数生长期有关。说明 S2 具有快速强力的除 NN 能力, 且此能力发挥作用与生长期(活菌量)相关。

2.4 双氮独立作用和联合作用下沙雷氏菌 S2 Cr(VI)还原率的比较

对培养 24 h 和 48 h 双氮独立作用和联合作用下沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原率(%)进行了比较, 结

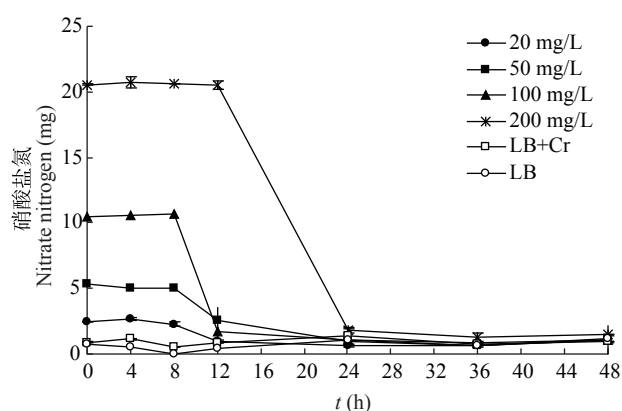


图 10 联合作用下反应体系中硝酸盐氮含量变化
Figure 10 Change of nitrate nitrogen in the reaction system under under join effect

果见表 1。由表 1 可知, AN 对 S2 的 Cr(VI)还原率无明显影响($P_2>0.05$); NN 独立作用和双氮联合作用下, S2 的 Cr(VI)还原率有显著变化($P_2<0.05$); NN 和双氮低浓度组(20 mg/L)的 Cr(VI)还原率降低($P_1<0.05$), 中浓度组(100 mg/L)无显著变化($P_1>0.05$), 高浓度组(200 mg/L)显著提高($P_1<0.05$)。低浓度组, 双氮与 AN 的 Cr(VI)还原率接近, 即低浓度组的 Cr(VI)还原作用以 AN 为主; 高浓度组, 双氮与 NN 的 Cr(VI)还原率接近, 即高浓度组的 Cr(VI)还原作用以 NN 为主。

3 讨论

环境污染少见某一种污染物独立作用, 常见多种污染物同时伴随存在。已有文献报道, 被 Cr(VI)污染的环境一般会伴随硝酸盐氮污染^[14]。微生物具有快速变异适应环境的能力, 在一定的污染压力下, 微生物可以获得与污染物相互作用的机制以适应不利的环境。本文的研究对象沙雷氏菌 S2 是从氮、Cr(VI)等多种污染同时存在的环境^[19]中分离筛选得到, 本研究中已证实它具有同时去除 Cr(VI)和硝酸盐氮的能力。

魏斐等^[8]研究苏云金芽孢杆菌 C2 时发现 0.5% NH₄Cl 为外加氮源时, 可降低其对 Cr(VI)的还原速率, 而本研究发现 20–200 mg/L 的 AN 存在对 S2

表 1 双氮独立作用和联合作用下的沙雷氏菌 S2 的 Cr(VI)还原率(%)比较
Table 1 Join effect of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen on Cr(VI) reduction of S2

时间 Time (h)	体系 System	实验组 Experience groups				LB+Cr 组 LB+Cr group	P ₂
		20	50	100	200		
24	AN	40.95±5.00 ^C	26.61±2.56 ^B	34.77±7.00	33.78±6.15 ^A	34.23±3.49	0.073 5
	NN	22.16±2.08 ^{Aa}	22.10±1.56 ^{Aa}	30.76±2.82 ^b	42.53±1.52 ^{Bc}	30.85±0.30 ^b	0.000 0
	双氮	33.33±0.27 ^{Bb}	30.47±0.38 ^{Ca}	36.64±1.08 ^c	46.92±0.37 ^{Bd}	34.11±0.71 ^b	0.000 0
	P ₁	0.001	0.003	0.317	0.012	0.155	
48	AN	39.82±3.17 ^{Bb}	37.25±4.74	41.49±6.12	40.17±2.71 ^{Aa}	41.90±2.42	0.669 4
	NN	25.62±0.49 ^{Aa}	28.67±4.56 ^a	37.02±1.27 ^b	46.47±0.88 ^{Bc}	39.37±6.59 ^b	0.000 0
	双氮	39.70±2.77 ^{Bb}	37.11±0.37 ^a	41.22±0.81 ^b	49.84±0.47 ^{Cd}	45.00±0.71 ^c	0.000 0
	P ₁	0.001	0.052	0.312	0.001	0.309	

注：同行小写字母相同者表示差异不显著，不同字母表示显著水平 $P<0.05$ ；同列大写字母相同者表示差异不显著，不同字母表示显著水平 $P<0.05$ ；数值大小按字母顺序排列。

Note: The same lower letter explained non-significant difference and different letters explained significant difference ($P<0.05$) in the same line; The same capital letter explained non-significant difference and different letters explained significant difference ($P<0.05$) in the same column; The numerical values are arranged in alphabetical order.

的 Cr(VI)还原能力无明显影响，与此结果不一致。这可能是由于菌株不同而造成的与 AN 的不同作用结果。Chovanec 等^[16]的研究发现 Cr(VI)对不同反硝化菌的生长有不同的影响，可抑制或不影响某些菌的生长，本研究结果与其研究中的 *Sulfurospirillum barnesii* 结果相似，即 NN 不影响菌株稳定期前的含 Cr(VI)生长。

在现有去除 NN 和 Cr(VI)的研究文献中^[14-15]，公认硝酸盐还原与 Cr(VI)还原有相互抑制作用。Viamajala 等^[15]研究发现硝酸盐氮和亚硝酸盐氮对希瓦氏菌 MR-1 的生物除 Cr(VI)效果有抑制作用，并通过构建动力学模型研究不同培养条件下的作用差别。Kourtev 等^[14]的研究结果表明 Cr(VI)能强烈抑制 NN 还原。这可能是因为 NN 与 Cr(VI)的还原均为得电子过程，二者之间存在竞争抑制关系，这与本研究中低浓度 NN 组 S2 的 Cr(VI)还原能力降低的结果是一致的。但在本实验中，高浓度 NN 能提高 S2 的 Cr(VI)还原能力，这种不同浓度 NN 对菌株的 Cr(VI)还原能力存在不同影响的现象，是以往文献中从未见过的。赵欣欣^[20]发现 *Bacillus cereus* 的亚硝酸盐还原酶活性与其除 Cr(VI)能力成正相

关，且某些亚硝酸盐还原酶与 Cr(VI)还原酶具有相似的活性。同时，弓湃等^[21]发现 NN 能诱导施氏假单胞菌亚硝酸盐还原酶基因的表达增强。因此，研究者推测 S2 中亚硝酸盐还原酶是否可能参与 Cr(VI)还原，且在一定的条件下(如高浓度 NN 或其他)，其亚硝酸盐还原酶活性被诱导增强表达，由于亚硝酸盐酶与铬还原酶具有相似活性，同时促进了该菌对 Cr(VI)的还原作用。这个亚硝酸盐还原酶的猜想能从理论上解释为什么本研究中高浓度 NN 能提高 S2 的 Cr(VI)还原能力，但还需要后续研究对此假设进行验证。

很多研究报告指出，环境中的硝酸盐氮含量已严重超标^[22-25]，尤其是在地下水中。例如，意大利 35%的井水硝酸盐氮含量都超过了 50 mg/L，法国巴黎部分地区的硝酸盐氮含量甚至超过了 180 mg/L^[23]。与杨小龙等^[26]研究的 *Acinetobacter* sp. 和辛玉峰等^[27]研究的不动杆菌 YF14 相比，S2 能在 4 h 内使 200 mg/L 的 NN 降低至对照组水平，除 NN 能力大大强于其他研究。由此可见，若是本实验的菌株 S2 在硝酸盐氮存在的条件下不仅能增强其 Cr(VI)去除能力，同时还能快速去除体系中高浓度硝酸盐氮，

那么对治理环境污染具有重大意义。

研究者后期会继续研究沙雷氏菌 S2 的脱氮特性,并结合 NN 和亚硝酸盐还原相关的还原酶基因、转运蛋白、调控子等基因组和还原酶活性研究 S2 的脱氮和还原 Cr(VI)机理,并利用基因敲除和蛋白表达等技术深入研究其相关分子机制。

参考文献

- [1] Hou HG. Talking about water environment status and counter measures of organic pollutants in China[J]. Modern Agriculture, 2012(7): 87-88 (in Chinese)
侯洪刚. 浅谈中国水环境中有机污染物现状与防治对策[J]. 现代农业, 2012(7): 87-88
- [2] Ministry of Environmental Protection. China State of the Environment in 2013[R]. Beijing: Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China, 2014: 3-14 (in Chinese)
环境保护部. 2013 中国环境状况公报[R]. 北京: 中华人民共和国环境保护部, 2014: 3-14
- [3] Zhang KR. Physical and Chemical Testing on Water Quality[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006 (in Chinese)
张克荣. 水质理化检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006
- [4] Xue J. Research progress of electroplating waste water treatment technology[J]. Mechanical Management and Development, 2010, 25(3): 32-33 (in Chinese)
薛婧. 电镀废水处理技术的研究进展[J]. 机械管理开发, 2010, 25(3): 32-33
- [5] Ramírez-Díaz MI, Díaz-Pérez C, Vargas E, et al. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds[J]. Biometals, 2008, 21(3): 321-332
- [6] Xu YZ, Xiang RJ, Chai LY, et al. Column leaching and reduction of Cr(VI) by indigenous microorganism in the soils contaminated by chromium-containing slag[J]. Journal of Jishou University (Natural Science Edition), 2010, 31(3): 90-94 (in Chinese)
许友泽, 向仁军, 柴立元, 等. 土著微生物柱浸修复铬渣堆场土壤污染[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2010, 31(3): 90-94
- [7] Qin LL, Wang TG. Detoxification of chromium(VI) from aqueous solution by bacteria[J]. Chemical Engineer, 2010(10): 37-41 (in Chinese)
秦利玲, 王天贵. 用细菌解毒水溶液中六价铬的实验研究[J]. 化学工程师, 2010(10): 37-41
- [8] Wei F, Yang LR, Xue BG, et al. Study on the restore hexavalent chromium bacteria and its reductase[J]. China Biotechnology, 2012, 32(4): 53-59 (in Chinese)
魏斐, 杨丽荣, 薛保国, 等. 还原六价铬细菌及其还原酶的研究[J]. 中国生物工程杂志, 2012, 32(4): 53-59
- [9] Zhu LL, Cao JN, Zhang W, et al. Identification of a chromium-tolerant bacterial strain and analysis of its Cr(VI)-reducing ability[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(10): 2717-2723 (in Chinese)
朱玲玲, 曹佳妮, 张文, 等. 一株耐铬细菌的鉴定及其还原铬性能分析[J]. 环境科学学报, 2013, 33(10): 2717-2723
- [10] Chai LY, Zeng J, Su YR, et al. Identification and characteristics of a Cr(VI) reducing strain *Pannonibacter* sp. P[J]. Journal of Central South University (Science and Technology), 2011, 42(2): 300-304 (in Chinese)
- 柴立元, 曾娟, 苏艳蓉, 等. 一株 Cr(VI)还原菌的鉴定及其还原特性[J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2011, 42(2): 300-304
- [11] Zhang SC. Study on application of domesticated anti-alkaline Cr(VI)-reducing bacteria in microbial treatment of chromium-containing wastewater[J]. Liaoning Chemical Industry, 2010, 39(9): 906-908 (in Chinese)
张顺成. 驯化抗强碱性 Cr(VI)还原菌在微生物处理含铬废水的研究[J]. 辽宁化工, 2010, 39(9): 906-908
- [12] Liu J. The research on *P. aeruginosa* affecting on the reduction of EDTA and the removal of Cr(VI) with EDTA as the carbon source[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan University, 2011 (in Chinese)
刘君. 以 EDTA 为碳源条件下铜绿假单胞菌对络合状态下 EDTA 的降解及 Cr(VI)去除效果研究[D]. 长沙: 湖南大学硕士学位论文, 2011
- [13] Joutey NT, Bahafid W, Sayel H, et al. Hexavalent chromium removal by a novel *Serratia proteamaculans* isolated from the bank of Sebou River (Morocco)[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(4): 3060-3072
- [14] Kourtev PS, Nakatsu CH, Konopka A. Inhibition of nitrate reduction by chromium(VI) in anaerobic soil microcosms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(19): 6249-6257
- [15] Viamajala S, Peyton BM, Apel WA, et al. Chromate/nitrite interactions in *Shewanella oneidensis* MR-1: evidence for multiple hexavalent chromium [Cr(VI)] reduction mechanisms dependent on physiological growth conditions[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 78(7): 770-778
- [16] Chovanec P, Sparacino-Watkins C, Zhang N, et al. Microbial reduction of chromate in the presence of nitrate by three nitrate respiring organisms[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 416
- [17] Jia Y, Bai QH, Xiao H. Investigation of the status of chromium pollution at an electroplating industrial area in Chongqing[J]. Modern Preventive Medicine, 2014, 41(6): 978-980 (in Chinese)
贾燕, 白群华, 肖虹. 重庆市某电镀厂聚集区域铬污染状况调查[J]. 现代预防医学, 2014, 41(6): 978-980
- [18] Du LQ, Xia F, Zhang YZ, et al. Pollution control in small drainage area in mountainous region: A case study of Liangtan River Basin in Chongqing City[J]. Water Resources Protection, 2010, 26(4): 50-75 (in Chinese)
杜利琼, 夏非, 张永战, 等. 山区小流域污染与治理对策研究——以重庆市梁滩河流域为例[J]. 水资源保护, 2010, 26(4): 50-75
- [19] Tan XQ, Bai QH, Han LL, et al. Cloning and sequence analysis of FMN_red gene fragment from *Serratia* sp. CQMUS2[J]. Biotechnology, 2013, 23(5): 8-11 (in Chinese)
谭小庆, 白群华, 韩令力, 等. 耐铬沙雷氏菌 CQMUS2 FMN_red 基因片段的克隆与序列分析[J]. 生物技术, 2013, 23(5): 8-11
- [20] Zhao XX. Mechanism study on Cr(VI) removal by a strain of *Bacillus* sp. based on characteristics of NiR enzyme[D]. Guangzhou: Master's Thesis of Guangdong University of Technology, 2013 (in Chinese)
赵欣欣. 基于亚硝酸盐还原酶学特性的优势菌除 Cr(VI)机理研究[D]. 广州: 广东工业大学硕士学位论文, 2013
- [21] Gong P, Wang LY, Shang LG, et al. The transcriptional regulation and functional identification of nitrite reductase *nirS* in *Pseudomonas stutzeri* A1501[J]. Microbiology China, 2015, 42(1): 93-100 (in Chinese)
弓湃, 王丽英, 尚立国, 等. 固氮施氏假单胞菌亚硝酸盐还原酶基因 *nirS* 转录特性及功能鉴定[J]. 微生物学通报, 2015, 42(1): 93-100
- [22] Lin HT, Jiang LH, Song XZ, et al. Nitrate concentration of

- groundwater and its affecting factors in Shandong province, China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(2): 353-357 (in Chinese)
- 林海涛, 江丽华, 宋效宗, 等. 山东省地下水硝酸盐含量状况及影响因素研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(2): 353-357
- [23] Wu YH. Progress of groundwater nitrate pollution and its alleviating methods in European and American countries[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(8): 284-290 (in Chinese)
- 吴雨华. 欧美国家地下水硝酸盐污染防治研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(8): 284-290
- [24] Yan LJ. Status, damage and removal technology of nitrate pollution in water[J]. Energy Environmental Protection, 2013, 27(3): 39-42 (in Chinese)
- 延利军. 水中硝酸盐污染现状、危害及脱除技术[J]. 能源环境保护, 2013, 27(3): 39-42
- [25] Xu CY, Li YZ, Li QZ, et al. Nitrate contamination and source tracing from NO_3^- - $\delta^{15}\text{N}$ in groundwater in Weifang, Shandong Province[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(21): 6579-6587 (in Chinese)
- 徐春英, 李玉中, 李巧珍, 等. 山东潍坊地下水硝酸盐污染现状及 $\delta^{15}\text{N}$ 溯源[J]. 生态学报, 2011, 31(21): 6579-6587
- [26] Yang XL, Li WM, Chen Y, et al. Identification and denitrification of an aerobic bacterium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(8): 1062-1070 (in Chinese)
- 杨小龙, 李文明, 陈燕, 等. 一株好氧反硝化菌的分离鉴定及其除氮特性[J]. 微生物学报, 2011, 51(8): 1062-1070
- [27] Xin YF, Qu XH, Yuan MD, et al. Isolation and identification of a heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying *Acinetobacter* sp. YF14 and its denitrification activity[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(12): 1646-1654 (in Chinese)
- 辛玉峰, 曲晓华, 袁梦冬, 等. 一株异养硝化-反硝化不动杆菌的分离鉴定及脱氮活性[J]. 微生物学报, 2011, 51(12): 1646-1654

科技信息摘录

埃博拉病毒研究取得重大突破

国际权威学术期刊《细胞》在线发表中国科学院微生物研究所、中国疾病预防控制中心高福院士研究团队的文章《埃博拉病毒糖蛋白结合内吞体受体 NPC1 的分子机制》。从分子水平阐释了一种新的病毒膜融合激发机制(第五种机制), 这种新型机制与之前病毒学家们熟知的四种病毒膜融合激发机制都大为不同, 成为近年来国际病毒学领域的一大突破; 该研究为抗病毒药物设计提供了新靶点。

2014 年, 埃博拉疫情在西非爆发, 高福受命任中国 CDC 实验室检测队前方工作组副组长, 主要负责与国际组织的沟通、外联等工作, 工作期间在《科学》(Science)杂志上发表了题为“On the ground in Sierra Leone”(《行走在塞拉利昂大地上》)的现场工作纪实文章, 并随后在《自然》(Nature)杂志上发表埃博拉病毒基因进化重大研究成果。

前不久, 高福团队的研究发现, 人 TIM 分子不与埃博拉病毒囊膜表面糖蛋白直接相互作用, 而是通过结合病毒囊膜上的磷脂酰丝氨酸分子来促进病毒感染。该成果以《埃博拉病毒入侵: 人 TIM 分子的结构与结合 PS 的分子基础》为题发表在《科学通报》上, 同时被该杂志收录为 2015 年第 35 期的封面文章。

在此基础上, 高福团队进一步探索埃博拉病毒进入细胞后在内吞体里发生的入侵机制。该研究团队率先解析了 NPC1 分子的腔内结构域 C 的三维结构, 发现其具有一个由 α 螺旋和 β 折叠组成的球状核心结构域和两个突出来的环状结构。随后, 研究人员解析出激活态糖蛋白与腔内结构域 C 的复合物三维结构, 发现结构域 C 主要利用两个突出来的环状结构插入激活态糖蛋白头部的疏水凹槽里, 从而发生相互作用。这一重大发现预示着人们能够针对激活态糖蛋白头部的疏水凹槽设计小分子或多肽抑制剂, 来阻断埃博拉病毒的入侵过程。进一步的分析发现, 激活态糖蛋白与腔内结构域 C 结合后, 会发生构象变化, 使得糖蛋白的融合肽更容易暴露出来, 插入内吞体膜上, 从而启动膜融合过程。

——摘自《中国生物技术信息网》2016-01-15

<http://www.biotech.org.cn/information/139347>