

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第7期

Vol.33 No.7

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

三峡库首秭归地区大气降水硫同位素组成及示踪研究 吴起鑫, 韩贵琳 (2145)

成都春季生物质燃烧和沙尘期间气溶胶散射特征及其重建 岳建华, 陶俊, 林泽健, 朱李华, 曹军骥, 罗磊 (2151)

太湖上空大气气溶胶光学厚度及其特征分析 饶加旺, 马荣华, 段洪涛, 姜广甲, 尚琳琳, 周琳 (2158)

环上海地区干霾气溶胶垂直分布的季节变化特征 徐婷婷, 秦艳, 耿福海, 陈勇航, 张华, 刘琼, 马晓骏 (2165)

南京冬季市区和郊区气溶胶中 PAHs 浓度的昼夜特征及粒径分布 张红亮, 樊曙先, 顾凯华, 朱彬, 范洋, 祖繁, 李红双, 孟庆紫, 何佳宝 (2172)

青岛大气气溶胶水溶性无机离子研究: 季节分布特征 刘臻, 祁建华, 王琳, 陈晓静, 石金辉, 高会旺 (2180)

城市污水处理厂生成的微生物气溶胶的污染特性 邱雄辉, 李彦鹏, 牛铁军, 李美玲, 马智慧, 苗莹, 王湘君 (2191)

基于 WEPS 模型的天津郊区土壤风蚀起尘及对中心城区迁移量估算 陈莉, 韩婷婷, 李涛, 姬亚芹, 白志鹏, 王斌 (2197)

浒苔绿潮与苏北近岸海域营养盐浓度的关系研究 高嵩, 石晓勇, 王婷 (2204)

福建沿海近 10 a 赤潮基本特征分析 李雪丁 (2210)

HSPF 水文水质模型应用研究综述 李兆富, 刘红玉, 李燕 (2217)

城市降雨径流模拟的参数不确定性分析 黄金良, 林杰, 杜鹏飞 (2224)

利用 CDOM 吸收系数估算太湖水体表层 DOC 浓度 姜广甲, 马荣华, 段洪涛 (2235)

嘉善地区水环境敏感点水质影响权重分析及风险等级判定 谢蓉蓉, 逢勇, 张倩, 陈可, 孙明园 (2244)

重庆市盘溪河水质不同季节日变化规律及水质评价 张千千, 王效科, 郝丽岭, 逯非, 欧阳志云, 侯培强, 张烨 (2251)

南京市湿地水质对城市化影响强度的响应研究 郝敬锋, 刘红玉, 胡和兵, 安静, 张小红 (2259)

宁夏沙湖浮游植物与水环境因子关系的研究 邱小琼, 赵红雪, 孙晓雪 (2265)

影响太子河流域鱼类空间分布的不同尺度环境因子分析 丁森, 张远, 渠晓东, 孔维静, 刘思思, 孟伟 (2272)

大型底栖动物生物评价指数比较与应用 耿世伟, 渠晓东, 张远, 林坤德 (2281)

青藏高原纳木错流域水体总汞的时空分布特征 王康, 康世昌, 郭军明, 张强弓, 黄杰, 郑伟 (2288)

青藏高原纳木错湖水主要化学离子的时空变化特征 郭军明, 康世昌, 张强弓, 黄杰, 王康 (2295)

用物理-生态集成技术局部控制富营养化 李秋华, 夏品华, 吴红, 林陶, 张友春, 李存雄, 陈丽丽, 杨帆 (2303)

太湖氮素出入湖通量与自净能力研究 陈小锋, 揣小明, 曾巾, 刘涛, 杨柳燕 (2309)

富营养湖泊沉积物中磷组分对硫酸盐的响应 袁探, 华玉妹, 朱端卫, 赵建伟, 蔡建波 (2315)

巢湖表层沉积物磷的空间分布差异性研究 温胜芳, 单保庆, 张洪 (2322)

南京地区典型有机污染物长距离输送潜力研究 方利江, 吴有方, 丁中原, 马子龙, 柳敏, 高宏 (2330)

东海内陆架沉积物中黑碳分布及其与持久性有机污染物的相关性研究 林田, 方引, 陈颖军, 胡利民, 郭志刚, 张干 (2335)

嘉陵江重庆段表层水体多环芳烃的污染特征 蔡文良, 罗固源, 许晓毅, 杜炯 (2341)

电子废物拆解区河流沉积物中多氯联苯的污染水平、分布及来源 王学彤, 李元成, 缪绎, 张媛, 孙阳昭, 吴明红, 盛国英, 傅家谟 (2347)

基于梯形模糊数的沉积物重金属污染风险评价模型与实例研究 李飞, 黄瑾辉, 曾光明, 唐晓娇, 白兵, 蔡青, 祝慧娜, 梁婕 (2352)

渤海湾海岸带开发对近岸沉积物重金属的影响 秦延文, 郑丙辉, 李小宝, 张雷, 时瑶, 曹伟 (2359)

崇明东滩表层沉积物重金属空间分布特征及其污染评价 李雅娟, 杨世伦, 侯立军, 周菊珍, 刘英文 (2368)

白洋淀底泥重金属形态及竖向分布 李必才, 何连生, 杨敏, 孟睿, 袁冬海, 席北斗, 舒俭民 (2376)

西南涌酸挥发硫化物浓度水平及影响因素研究 刘晓冰, 温琰茂, 利锋, 吴昌华, 段志鹏 (2384)

氨氮在饮用水生物滤池内的去除机制 刘冰, 范辉, 余国忠, 于鑫, 赵承美, 李清飞, 张舒婷, 魏博 (2394)

Cu(II) 印迹壳聚糖交联膜的表征及其吸附热力学特性 张玉红, 张爱丽, 周集体, 孙筱雨 (2403)

声电氧化处理扑热息痛的研究 戴启洲, 马文姣, 沈宏, 陈浚, 陈建孟 (2410)

粉煤灰吸附-Fenton 及热再生处理亚甲基蓝废水的特性研究 白玉洁, 张爱丽, 周集体 (2419)

利用双室微生物燃料电池处理模拟废水的产电特性研究 张永娟, 李永峰, 刘春研, 王艺璇, 李龙, 王籽人, 董义兴 (2427)

Zn/Cr 型阴离子黏土的制备、表征及其对活性艳橙 X-GN 的去除性能研究 王小蓉, 吴平霄 (2432)

核电站低放射性废水在封闭水体中的输移规律研究 武国正, 徐宗学 (2438)

A + OSA 污泥减量工艺碳元素平衡与减量机制研究 翟小敏, 高旭, 张曼曼, 贾丽, 郭劲松 (2444)

系列混合碳源在 EBPR 系统颗粒化进程中的影响研究 蒋涛, 孙培德, 徐少娟 (2451)

氧化还原介体催化强化 *Paracoccus versutus* 菌株 GW1 反硝化特性研究 李海波, 廉静, 郭延凯, 赵丽君, 杜海峰, 杨景亮, 郭建博 (2458)

1 株转座子插入突变菌株 TB34 的筛选及产氢分析 刘洪艳, 王广策, 侍浏洋, 朱大玲 (2464)

蜜环菌漆酶对氯酚类污染物催化降解条件优化 秦仁炳, 朱显峰, 吴珂, 张晶晶, 赵海康 (2470)

双季稻田 CH₄ 和 N₂O 排放特征及品种筛选研究 傅志强, 朱华武, 陈灿, 黄璜 (2475)

闽江河口短叶茳芰湿地 CH₄ 和 N₂O 排放对氮输入的短期响应 牟晓杰, 刘兴土, 仝川, 孙志高 (2482)

青海三江源地区退化草地土壤全氮的时空分异特征 彭景涛, 李国胜, 傅瓦利, 易湘生, 蓝家程, 袁波 (2490)

不同降雨条件下侵蚀泥沙黏粒含量的变化规律 吴凤至, 史志华, 方怒放, 岳本江 (2497)

土壤性质对单一及复合污染下外源镉稳定化过程的影响 吴曼, 徐明岗, 张文菊, 武海雯 (2503)

多氯联苯污染农田土壤的原位生态调控修复效应 潘澄, 滕应, 骆永明, 涂晨, 李秀芬, 马婷婷, 张满云, 李振高, 宋静 (2510)

不同作物根系多环芳烃吸收特征差异的比较研究 梁宵, 占新华, 周立祥 (2516)

废气和废渣协同作用脱钠反应特性及机制研究 伊元荣, 韩敏芳 (2522)

中国第三产业能源碳排放影响要素指数分解及实证分析 卢愿清, 史军 (2528)

《环境科学》征稿简则(2431) 《环境科学》征订启事(2532) 信息(2157, 2271, 2367, 2418)

1 株转座子插入突变菌株 TB34 的筛选及产氢分析

刘洪艳¹, 王广策², 侍浏洋¹, 朱大玲¹

(1. 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要: 以分离自红树林污泥的厌氧发酵产氢细菌 *Pantoea agglomerans* BH18 为出发菌株, 利用转座子 Tn7 构建突变体文库. 通过卡那霉素抗性筛选与 PCR 扩增, 鉴定转座子插入突变菌株. 通过初筛和复筛, 获得 1 株突变菌 TB34, 其产氢量较野生菌株明显提高. 在初始 pH 为 7.0 和葡萄糖浓度 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的海水培养条件下, 产氢量 ($\text{H}_2/\text{葡萄糖}$) 为 $(2.04 \pm 0.04) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 相比野生菌株产氢量提高 43%. 经过 5 次连续传代培养, 突变菌株 TB34 表现出稳定的产氢特性. 测定突变菌株 TB34 在不同碳源培养条件下的产氢量. 结果表明, 突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 都能利用蔗糖、葡萄糖和果糖发酵产氢. 与野生菌株 BH18 不同, 突变菌株 TB34 在以木糖为底物培养条件下仍能够发酵产氢, 产氢量 ($\text{H}_2/\text{木糖}$) 为 $(1.34 \pm 0.09) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 扩大了底物利用范围.

关键词: 转座子; Tn7; 成团泛菌; 碳源; 产氢量

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)07-2464-06

Isolation of a High Hydrogen-producing Mutant TB34 Generated by Transposon Insertion and Analysis of Hydrogen Production

LIU Hong-yan¹, WANG Guang-ce², SHI Liu-yang¹, ZHU Da-ling¹

(1. Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: To increase the hydrogen-producing capacity of *Pantoea agglomerans* BH18, isolated from mangrove sludge, we constructed a stable transposon mutagenesis library of this strain. A Tn7-based transposon was randomly inserted into the genomic DNA. Mutants were screened by kanamycin resistance and identified by amplification of the inserted transposon sequences. A mutant strain TB34 was isolated, whose hydrogen production capacity was significantly improved compared to the wild type strain. In seawater-containing medium supplemented with $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ glucose and had an initial pH of 7.0, the hydrogen yield ($\text{H}_2/\text{glucose}$) of the mutant strain was $(2.04 \pm 0.04) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, which was 43% higher than that of the wild type strain. The mutant TB34 showed steady hydrogen production capacity for five consecutive passages. Different carbon sources were tested in the hydrogen production by the mutant TB34 and the results showed that both the mutant strain TB34 and the wild type strain BH18 were able to produce hydrogen on sucrose, glucose and fructose. However, different from the wild type strain, the mutant strain TB34 was also able to produce hydrogen using xylose as substrate, with a hydrogen yield (H_2/xylose) of $(1.34 \pm 0.09) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, indicating a broader substrate spectrum in the mutant.

Key words: transposon; Tn7; *Pantoea agglomerans* BH18; carbon source; hydrogen production

生物制氢是目前化石能源燃料的替代途径之一, 有较好的应用前景. 生物制氢技术主要包括藻类、光合细菌和厌氧发酵细菌制氢. 厌氧发酵细菌能够处理废物的同时获取氢气, 具有更广阔的应用前景^[1]. 已报道的厌氧发酵产氢菌主要有 *Enterobacter*、*Bacillus* 和 *Clostridium*^[2-4]. 然而发酵细菌的产氢能力不高是制约产氢发酵工业发展的影响因素之一^[5]. 为解决这一难题, 国内外研究者广泛分离和筛选产氢菌株, 以期拓宽产氢微生物种质资源.

获得高效产氢菌株的方法主要有野生型菌株的筛选, 基因工程菌株的构建和菌株的诱变等. 目前, 已筛选获得多株野生型高效厌氧发酵产氢

菌, 如 *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824^[6]、*Enterobacter cloacae* IIT-BT 08^[7]、*Enterobacter aerogenes*^[8,9]、*Ethanoligenens harbinense* YUAN-3^[10] 和 *Pantoea agglomerans* BH18^[11] 等. 然而野生型产氢菌株的筛选, 因实验周期长, 筛选成功率比较低等缺点, 研究者在筛选野生型产氢菌的同时, 不得不另辟蹊径. 采用基因工程技术对特定产氢相关基因进行重组改造, 获得的基因重组菌株在产氢

收稿日期: 2011-09-29; 修订日期: 2011-11-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(40906074); 天津市自然科学基金青年基金项目(12JCQNJC04200); 天津科技大学科学研究基金项目(20110101)

作者简介: 刘洪艳(1977~), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为海洋微生物制氢, E-mail: hongyanliu1214@163.com

量上有一定程度的提高^[12-14],但此种技术只能对已知遗传背景的基因进行改造,获得该基因的重组菌株.在野生型菌株基础上,通过生物或物理化学诱变手段获得产氢突变菌株的相关研究已经开展^[15-20].这些诱变方法主要集中于物理手段,然而关于分子生物学手段诱变,比如转座子插入突变技术,应用于厌氧发酵细菌的报道还比较少^[21].转座突变技术可利用已知的插入序列作为标记,在未知基因型和基因产物的条件下即可对未知基因进行结构和功能研究,是研究未知基因一种有效的途径.Fodor 等^[21]将随机转座子 Tn5 应用于紫色光合硫细菌 *Thiocapsa roseopersicina* BBS,筛选获得 6 株产氢量明显提高的突变菌株.该研究首次将转座子突变技术应用于生物制氢领域.

成因泛菌 *Pantoea agglomerans* BH-18 菌株分离自海洋环境——红树林,该菌株产氢量和产氢速率较高,与国际上已报道的高效产氢菌株的产氢能力相近^[2,11,22].另外,由于菌株的兼性厌氧、耐盐性、产氢效率高等特点使其成为利用沿海城市有机废水进行微生物制氢的候选工程菌株.本研究以产氢细菌 *Pantoea agglomerans* BH18 为出发菌株,采用转座子 Tn7 构建菌株突变文库,在此基础上筛选高效产氢突变菌株并进行产氢特性分析,以期为进一步构建高效产氢工程菌株奠定基础.

1 材料与方 法

1.1 菌种

厌氧发酵产氢细菌 *Pantoea agglomerans* BH18 (登录号:EU590682)分离自红树林污泥,由本实验室分离并保存.

1.2 培养基

菌株 BH18 的培养采用 LM-H 培养基^[23].菌株 BH18 的活化采用 LB 培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$):胰蛋白胨 10,酵母提取物 5,NaCl 10.菌株 BH18 感受态细胞的制备采用 $2\times\text{YT}$ 培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$):胰蛋白胨 16,酵母提取物 10,NaCl 4.电转化产物的复苏采用 SOC 培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$):胰蛋白胨 20,酵母提取物 5.0,NaCl 0.5,KCl 1.86,MgCl₂ 2.03,葡萄糖 3.6.

1.3 转座子突变体库的构建

1.3.1 转座

利用细菌基因组提取试剂盒(天根),提取 *Pantoea agglomerans* BH18 基因组 DNA,采用测定 A_{260} 和 A_{280} 值计算 DNA 纯度和浓度.DNA 浓度要求达到 $0.05\sim 0.10\ \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$.转座子突变系统试剂盒

购自 NEB(New England Biolabs no. E7101S),其中含转座质粒,大小为 4 293 bp,为卡那抗性和氨苄抗性.首先,反应体系中加入 $1\ \mu\text{L}$ 转座子质粒 pGPS3、 $1\ \mu\text{L}$ DNA 和 $1\ \mu\text{L}$ 转座酶 TnsABC,加水至总体积 $20\ \mu\text{L}$, 37°C 温育 1 h.然后,利用 DNA 聚合酶 I 填补转座插入反应产生的缺口.最后,利用稀有反应酶 PI-Sce I (VDE)酶切转座产物,即加入 $6\ \mu\text{L}$ PI-Sce I (6U), $5\ \mu\text{L}$ $10\times$ PI-Sce I 缓冲液, $0.5\ \mu\text{L}$ 牛血清蛋白, $18.5\ \mu\text{L}$ 水.酚/氯仿抽提后,转座产物于 -20°C 保存.

1.3.2 感受态细胞制备

菌株 *Pantoea agglomerans* BH18 活化后接种于 $50\ \text{mL}$ $2\times\text{YT}$ 培养基中, 18°C $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养.使细菌分光光度值达到 $0.4\sim 0.6$.冰浴预冷后于 4°C $2\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, $15\ \text{min}$ 收集菌体.然后分别用 25 、 10 、 $5\ \text{mL}$ 预冷双蒸水洗涤 3 次,于 4°C $2\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $15\ \text{min}$ 收集菌体.最后利用 $140\ \mu\text{L}$ 预冷双蒸水和 $2\ \mu\text{L}$ DMSO 悬浮细胞,菌液以 $40\ \mu\text{L}$ 等量分装, -80°C 保存.

1.3.3 电转化

将 $0.2\sim 0.5\ \mu\text{g}$ 转座产物加入 $40\ \mu\text{L}$ 感受态细胞中混匀.设置电转化仪(BIO-RAD)参数为电压 $1.8\ \text{kV}$,电击后,加入 $1\ \text{mL}$ SOC 培养基, 37°C $150\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 复苏 1 h.取 $100\ \mu\text{L}$ 细菌悬浮液涂布于含卡那霉素的 LB 培养基中, 37°C 过夜培养.

1.3.4 突变菌株的鉴定

根据转座子序列设计引物,P1:5'-TTAAGGATT ATTTAGGGAAG-3'; P2:5'-ACAATAAAGTCTTAAACTAG-3'.以野生菌株和突变菌株基因组 DNA 为模板分别进行 PCR 扩增,PCR 反应体系($50\ \mu\text{L}$):buffer $5\ \mu\text{L}$ ($10\times$),引物 P1 和 P2 各 $1\ \mu\text{L}$ ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),dNTP $1\ \mu\text{L}$ ($10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),Taq DNA 聚合酶 $1\ \mu\text{L}$ ($5\ \text{U}\cdot\text{L}^{-1}$),模板 $1\ \mu\text{L}$,超纯水 $40\ \mu\text{L}$.反应程序为 94°C $4\ \text{min}$; 94°C $30\ \text{s}$, 49°C $30\ \text{s}$; 72°C $1\ \text{min}$,30 个循环; 72°C ,延伸 $10\ \text{min}$.

1.4 突变菌株产氢量

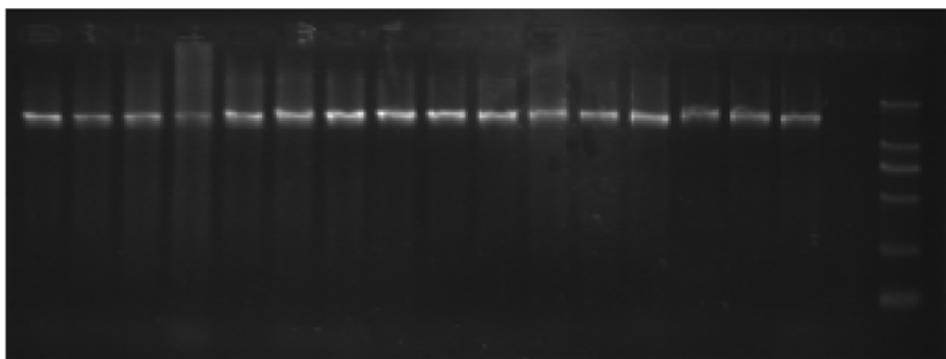
1.4.1 高效产氢突变菌株的筛选

突变菌株接种于含 LM-H 培养基的厌氧螺口管中进行液体培养,根据螺口管内置发酵管中的气体量,初步筛选突变菌株产氢量.将经过初筛的菌液按 1% 接种于 $150\ \text{mL}$ 血清瓶内,充氮气 $1\ \text{min}$, $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 37°C 恒温摇床培养,测定各突变菌株生长及产氢指标. D_{600} 采用岛津分光光度计.pH 采用 DLELTA-320 型酸度计进行测量.气体收集采用排水

法. 氢气含量的测定利用气相色谱仪(型号 6820, Agilent)测定发酵气体中氢气的含量. 氮气做载气, 流量为 $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 色谱柱填料为 5 A 分子筛(60/80 目), 柱长 2 m. 检测器为热导检测器(TCD), 柱温、进样器和检测器分别为 40、200、200℃.

1.4.2 碳源对突变菌株产氢影响

突变菌株和野生菌株 BH18 接种于含不同碳源(葡萄糖、果糖、木糖、蔗糖、乳糖、淀粉和纤维素) LM-H 培养基进行发酵产氢. 测定菌株生长及产氢指标(细菌生物量、发酵液的 pH 值, 葡萄糖利用率和产氢量).



从右至左依次为 Marker, 野生菌株 BH, 转座子质粒和 15 株突变菌

图 1 Tn7 的 PCR 检测

Fig. 1 PCR amplification of Tn7 from the genome of the mutants and the wild type strain

产氢突变菌株的初筛是通过挑取平板上直径较大单菌落, 接种于厌氧螺口管, 液体培养 2 d. 根据螺口管内置发酵管中气体量的增幅来确定是否进一步扩大培养. 获得 15 株产氢增幅在 20% ~ 40% 突变菌株. 通过对比突变菌株的产氢量, 得到 1 株产氢量相比野生菌株提高 43% 的突变菌株, 命名为突变菌株 TB34.

2.2 突变菌株 TB34 的生长特性

2.2.1 稳定性

将突变菌株 TB34 连续 5 次传代, 利用卡那霉素抗性筛选和 PCR 鉴定其转座子插入稳定性. 结果表明, 不同子代菌株在含(或不)卡那霉素的平板培养中都能生长, 具有卡那霉素抗性. 在不同子代菌株的 PCR 检测中, 均能扩增出转座子特异性序列(1699 bp). 说明转座子 Tn7 的插入具有稳定性及可遗传性, 这与 Nakta^[24] 验证转座子在 *Burkholderia glumae* 中稳定性的实验结果相一致. 突变菌株 TB34 的产氢稳定性是通过 5 代菌株之间产氢量的差异来确定. 突变菌株 TB34 连续传代 5 次, 产氢量(H_2 /葡萄糖)和氢气含量分别维持在 $(1.99 \pm 0.04) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $(47.56 \pm 5.69) \%$.

2 结果与讨论

2.1 转座子突变菌株的筛选及鉴定

在含卡那霉素($40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的 LB 琼脂平板上, 长出的单克隆即可能为转座子突变体, 阴性对照无菌落生长. 随机挑取 15 个单菌落, 提取基因组 DNA, 经 PCR 扩增验证, 这 15 个突变菌株的 PCR 扩增产物在 1699 bp 处具有特异性片段(图 1), 该片段大小与转座质粒阳性对照的扩增片段大小一致, 证实突变菌株含有 Tn7 转座子插入片段. 以野生菌株 BH18 的 DNA 为模板, PCR 产物无扩增片段.

2.2.2 生长特性

起始 pH 值 7.0, 葡萄糖浓度 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的海水培养培养条件下, 比较突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 生长与产氢, 见图 2. 突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 的生长, 发酵液 pH 变化和产氢量存在着较明显差异. 测定 D_{600} 作为指示细胞生长状态的间接指标, 突变菌株 TB34 在发酵 15 h 进入指数生长期,

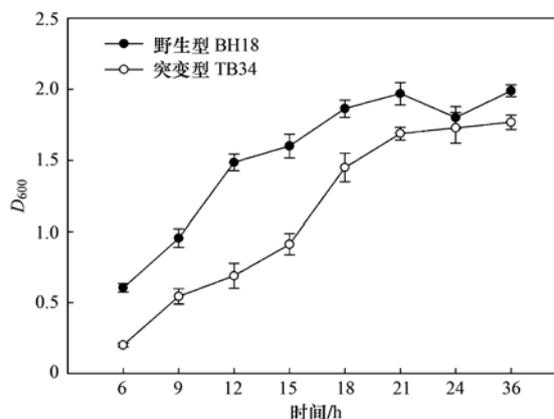


图 2 突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 生长曲线

Fig. 2 Growth curves of the mutant strain TB34 and the wild type strain BH18

D_{600} 最大值为 1.668. 野生菌株 BH18 在发酵 12 h 即进入指数生长, D_{600} 最大值为 1.879. 与此相比, 突变菌株 TB34 的生长相对缓慢. 海水培养条件下, 突变菌株 TB34 最高产氢量 (H_2 /葡萄糖) 可达到 $(2.04 \pm 0.04) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 相比野生菌株 BH18 提高 43%. 可见细胞的生长与产氢行为存在不一致, 这与 Zhu 等^[11] 的研究结果表明微生物在利用碳源发酵产氢过程中, 氢气的产生是不利于细胞生物量累积的研究结果相一致.

突变菌株 TB34 发酵液 pH 值在发酵 18 h 后开始明显下降, 在发酵时间 36 h 时发酵液 pH 值基本不再变化, 表明突变菌株 TB34 发酵产氢主要发生在 18~36 h, 产氢过程中 pH 值在 5.79~3.68. 与野生菌株 BH18 相比, 其 pH 值下降过程相对延长. 菌株发酵液 pH 值降低是由于有机酸的大量积累导致, pH 值下降迅速对菌株的生长以及产氢行为产生

了明显的抑制^[25].

2.3 碳源对突变菌株 TB34 的产氢影响

2.3.1 生长特性

微生物对底物的利用有一定的选择性, 底物种类是微生物发酵产氢的重要影响因素之一^[26], 是微生物进行生长和繁殖的基础. 用于微生物发酵产氢的常见底物是碳水化合物. 考察突变菌株 TB34 利用不同碳水化合物(葡萄糖、果糖、木糖、蔗糖、乳糖、淀粉和纤维素)发酵产氢能力. 由图 3 可以看出, 突变菌株 TB34 在不同底物培养条件下, 其生长存在差异. 蔗糖为底物时, 突变菌株发酵液 D_{600} 值最高(1.6956), 其次为葡萄糖, 果糖和木糖. 与野生菌株 BH18 不同, 野生菌株 TB34 能够利用木糖为底物生长 (D_{600} 为 1.0888). 在以乳糖、淀粉和纤维素为底物培养条件下, 两菌株均几乎不能生长.

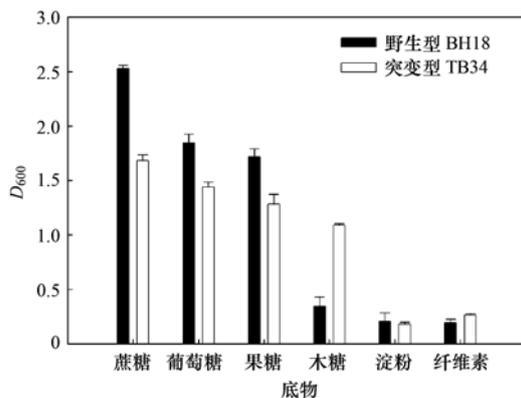


图 3 碳源对突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 D_{600} 和终 pH 值影响

Fig. 3 Effect of carbon sources on D_{600} and the end pH of the mutant strain TB34 and the wild type strain the BH18

相对比起始 pH, 突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 发酵液的终 pH 都有不同程度下降. 在以蔗糖、葡萄糖和木糖为底物发酵过程中, 菌株 TB34 发酵液 pH 值下降幅度较野生菌株大. 以乳糖、淀粉和纤维素为底物的发酵过程中, 两菌株发酵液的 pH 基本没有变化, 表明菌株不能利用这些底物发酵产氢.

2.3.2 产氢特性

突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 利用不同碳源的产氢情况, 见图 4. 从中可知, 两菌株都能够利用蔗糖、葡萄糖和果糖发酵产氢. 其中以蔗糖为碳源时产氢量最大, 突变菌株 TB34 产氢量 (H_2 /葡萄糖) 约为 $(2.46 \pm 0.12) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 野生菌株 BH18 的产氢量 (H_2 /葡萄糖) 为 $(1.89 \pm 0.15) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$. 在以乳糖、淀粉和纤维素的培养条件下, 突变菌株

TB34 和野生菌株 BH18 都不能进行产氢.

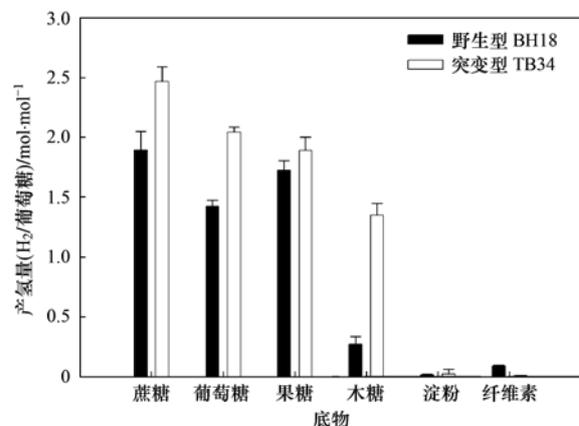


图 4 碳源对突变菌株 TB34 和野生菌株 BH18 产氢量的影响

Fig. 4 Effect of carbon sources on the hydrogen production capacity of the mutant strain TB34 and the wild type strain BH18

与野生菌株 BH18 不同,突变菌株 TB34 在以木糖为底物培养条件下能够发酵产氢,产氢量(H_2 /木糖)为 $(1.34 \pm 0.09) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$. 与野生菌株相比,突变菌株 TB34 扩大产氢底物利用范围. 高效产氢菌的显著特征之一是利用多种底物种类进行产氢^[27, 28]. 目前国内外学者分离得到的产氢菌,基本上都是以葡萄糖为底物的产氢菌. 有关利用木糖等五碳糖的产氢菌研究鲜有报道^[29]. 木质纤维素水解成分中单糖主要是以葡萄糖为主的六碳糖约占 60% ~ 70%, 以木糖为主的五碳糖约占 30% ~ 40%^[30]. 突变菌株 TB34 能够利用葡萄糖和木糖等纤维素主要水解产物发酵产氢,扩展了底物范围,有利于降低生物制氢成本,该突变菌株在利用木质纤维素水解液产氢方面应有较大的实际应用价值.

3 结论

(1) 利用 Tn7 转座子随机插入成团泛菌基因组 DNA, 获得一批产氢突变菌株. 通过产氢量筛选, 获得突变菌株 TB34, 在初始 pH 为 7.0 和葡萄糖浓度 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的海水培养条件下, 其产氢量(H_2 /葡萄糖)为 $(2.04 \pm 0.04) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 相比野生菌株提高 43%. 连续传代实验表明该突变菌株具有稳定的产氢遗传特性.

(2) 与野生菌株相比,突变菌株 TB34 能够利用木糖产氢,在起始 pH 值 7.0 的海水培养条件下,突变菌株 TB34 利用木糖发酵产氢量(H_2 /木糖)为 $(1.34 \pm 0.09) \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$. 与野生菌株相比,转座子突变菌株 TB34 扩大底物利用范围.

参考文献:

- [1] 邢德峰, 任南琪, 宫曼丽. PCR-DGGE 技术解析生物制氢反应器微生物多样性[J]. 环境科学, 2005, **26**(2): 172-176.
- [2] Shin J H, Yoon J H, Ahn E K, *et al.* Fermentative hydrogen production by the newly isolated *Enterobacter asburiae* SNU-1 [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, **32**(2): 192-199.
- [3] Kalia V C, Jain S R, Kumar A, *et al.* Fermentation of biowaste to H_2 by *Bacillus licheniformis* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1994, **10**(2): 224-227.
- [4] Chen W M, Tseng Z J, Lee K S, *et al.* Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2005, **30**(10): 1063-1070.
- [5] Wang C C, Chang C W, Chu C P, *et al.* Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation [J]. Water Research, 2003, **37**(11): 2789-2793.
- [6] Zhang H S, Bruns M A, Logan B E. Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor [J]. Water Research, 2006, **40**(4): 728-734.
- [7] Kumar N, Ghosh A, Das D. Redirection of biochemical pathways for the enhancement of H_2 production by *Enterobacter cloacae* [J]. Biotechnology Letters, 2001, **23**(7): 537-541.
- [8] Fabiano B, Perego P. Thermodynamic study and optimization of hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2002, **27**(2): 149-156.
- [9] Nakashimada Y, Rachman M A, Kakizono T, *et al.* Hydrogen production of *Enterobacter aerogenes* altered by extracellular and intracellular redox states [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2002, **27**(11-12): 1399-1405.
- [10] Xing D F, Ren N Q, Wang A J, *et al.* Continuous hydrogen production of auto-aggregative *Ethanoligenens harbinense* YUAN-3 under non-sterile condition [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, **33**(5): 1489-1495.
- [11] Zhu D L, Wang G C, Qiao H J, *et al.* Fermentative hydrogen production by the new marine *Pantoea agglomerans* isolated from the mangrove sludge [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, **33**(21): 6116-6123.
- [12] Morimoto K, Kimur T, Sakka K, *et al.* Overexpression of a hydrogenase gene in *Clostridium paraputrificum* to enhance hydrogen gas production [J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, **246**(2): 229-234.
- [13] Zhao H X, Ma K, Lu Y, *et al.* Cloning and knockout of formate hydrogen lyase and H_2 -uptake hydrogenase genes in *Enterobacter aerogenes* for enhanced hydrogen production [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, **34**(1): 186-194.
- [14] 林海龙, 付畅, 郑福帅, 等. 阴沟肠杆菌 flavocytochrome C 基因克隆及序列分析 [J]. 中国农学通报, 2011, **27**(18): 228-232.
- [15] 卢文玉, 闻建平, 陈宇, 等. 激光诱变选育耐酸产氢菌产气肠杆菌 [J]. 化工进展, 2006, **25**(7): 799-802.
- [16] Yokoi H, Ohkawara T, Hirose J, *et al.* Characteristics of hydrogen production by aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39 [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1995, **80**(6): 571-574.
- [17] 任南琪, 林明, 马汐平, 等. 厌氧高效产氢细菌的筛选及其耐酸性研究 [J]. 太阳能学报, 2003, **24**(1): 80-84.
- [18] Kondo T, Arakawa M, Hiral T, *et al.* Enhancement of hydrogen production by a photosynthetic bacterium mutant with reduced pigment [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002, **93**(2): 145-150.
- [19] 宋丽, 刘晓凤, 刘培旺, 等. 微波诱变选育耐酸高效厌氧产氢菌 [J]. 应用与环境生物学报, 2008, **14**(3): 427-431.
- [20] 郑国香, 任南琪, 李永峰, 等. 一株高效产氢突变体 RF-9 的筛选与产氢特性 [J]. 中国环境科学, 2007, **27**(2): 184-188.
- [21] Fodor B, Rákhely G, Kovács Á T, *et al.* Transposon mutagenesis in purple sulfur photosynthetic bacteria: identification of *hypF*, encoding a protein capable of processing [NiFe] hydrogenases in α , β , and γ subdivisions of the proteobacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(6): 2476-2483.
- [22] Long C N, Cui J J, Liu Z T, *et al.* Statistical optimization of

- fermentative hydrogen production from xylose by newly isolated *Enterobacter* sp. CN1 [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2010, **35**(13): 6657-6664.
- [23] Liu H Y, Wang G C, Zhu D L, *et al.* Enrichment of the hydrogen-producing microbial community from marine intertidal sludge by different pretreatment methods [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, **34**(24): 9696-9701.
- [24] Nakata P A. The generation of a transposon-mutagenized *Burkholderia glumae* library to isolate novel mutants [J]. *Plant Science*, 2002, **162**(2): 267-271.
- [25] Valdez-Vazquez I, Ríos-Leal E, Muñoz-Páez K M, *et al.* Effect of inhibition treatment, type of inocula, and incubation temperature on batch H₂ production from organic solid waste [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, **95**(3): 342-349.
- [26] Kapdan I K, Kargi F. Bio-hydrogen production from waste materials [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, **38**(5): 569-582.
- [27] Kádár Z, De Vrijck T, van Noorden G E, *et al.* Yields from glucose, xylose, and paper sludge hydrolysate during hydrogen production by the extreme thermophile *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2004, **114**(1-3): 497-508.
- [28] Ueno Y, Haruta S, Ishii M, *et al.* Microbial community in anaerobic hydrogen-producing microflora enriched from sludge compost [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, **57**(4): 555-562.
- [29] 许继飞, 任南琪, 邱颖, 等. 木糖发酵产氢菌的筛选及其生长产氢特性研究 [J]. *微生物学通报*, 2009, **36**(4): 467-472.
- [30] Sun Y, Cheng J Y. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review [J]. *Bioresource Technology*, 2002, **83**(1): 1-11.

CONTENTS

Isotopic Composition and Isotope Tracing of Sulfur in Atmospheric Precipitation at the Head Area of the Three Gorges Reservoir, China	WU Qi-xin, HAN Gui-lin (2145)
Characterization and Reconstruction of Aerosol Light Scattering Coefficient at Chengdu During Biomass Burning and Dust Storm Period in Spring	YUE Jian-hua, TAO Jun, LIN Ze-jian, <i>et al.</i> (2151)
Aerosol Optical Thickness of the Atmospheric Aerosol over Taihu Lake and Its Features; Results of In-site Measurements	RAO Jia-wang, MA Rong-hua, DUAN Hong-tao, <i>et al.</i> (2158)
Seasonal Variations in the Vertical Distribution of Aerosols During Dry Haze Periods in Regions Around Shanghai	XU Ting-ting, QING Yan, GENG Fu-hai, <i>et al.</i> (2165)
Size Distributions and Diurnal Variations in the Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Winter in Urban and Suburban Nanjing, China	ZHANG Hong-liang, FAN Shu-xian, GU Kai-hua, <i>et al.</i> (2172)
Seasonal Distribution of Water-Soluble Inorganic Ions in the Atmospheric Aerosol in Qingdao	LIU Zhen, QI Jian-hua, WANG Lin, <i>et al.</i> (2180)
Pollution Characteristics of Microbial Aerosols Generated from a Municipal Sewage Treatment Plant	QIU Xiong-hui, LI Yan-peng, NIU Tie-jun, <i>et al.</i> (2191)
Estimation of the Effect Derived from Wind Erosion of Soil and Dust Emission in Tianjin Suburbs on the Central District Based on WEPS Model	CHEN Li, HAN Ting-ting, LI Tao, <i>et al.</i> (2197)
Variation of Nutrient Concentrations at the Inshore Coastal Area of Northern Jiangsu Province and the Occurrence of Green Tide Caused by <i>Enteromorpha prolifera</i>	GAO Song, SHI Xiao-yong, WANG Ting (2204)
Analysis on Characteristics of Red Tide in Fujian Coastal Waters During the Last 10 Years	LI Xue-ding (2210)
Review on HSPF Model for Simulation of Hydrology and Water Quality Processes	LI Zhao-fu, LIU Hong-yu, LI Yan (2217)
Parameter Uncertainty Analysis for Urban Rainfall Runoff Modelling	HUANG Jin-liang, LIN Jie, DU Peng-fei (2224)
Estimation of DOC Concentrations Using CDOM Absorption Coefficients; A Case Study in Taihu Lake	JIANG Guang-jia, MA Rong-hua, DUAN Hong-tao (2235)
Weight Parameters of Water Quality Impact and Risk Grade Determination of Water Environmental Sensitive Spots in Jiashan	XIE Rong-rong, PANG Yong, ZHANG Qian, <i>et al.</i> (2244)
Diurnal Variation and Evaluation of Water Quality in Different Seasons of Panxi River in Chongqing	ZHANG Qian-qian, WANG Xiao-ke, HAO Li-ling, <i>et al.</i> (2251)
Responses of Wetland Water Quality to Influence the Strengthness of Urbanization in Nanjing, China	HAO Jing-feng, LIU Hong-yu, HU He-bing, <i>et al.</i> (2259)
Studies on Relationship of Phytoplankton and Water Environmental Factors in Shahu Lake	QIU Xiao-cong, ZHAO Hong-xue, SUN Xiao-xue (2265)
Influence on the Spatial Distribution of Fish in Taizi River Basin by Environmental Factors at Multiple Scales	DING Sen, ZHANG Yuan, QU Xiao-Dong, <i>et al.</i> (2272)
Comparison and Application of Biological Indices of Macroinvertebrates in River Health Assessment	GENG Shi-wei, QU Xiao-dong, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2281)
Spatial and Temporal Distribution of Total Mercury (T-Hg) in Different Water Bodies of Nam Co, Tibetan Plateau	WANG Kang, KANG Shi-chang, GUO Jun-ming, <i>et al.</i> (2288)
Temporal and Spatial Variations of Major Ions in Nam Co Lake Water, Tibetan Plateau	GUO Jun-ming, KANG Shi-chang, ZHANG Qiang-gong, <i>et al.</i> (2295)
Eutrophication Control in Local Area by Physic-ecological Engineering	LI Qiu-hua, XIA Pin-hua, WU Hong, <i>et al.</i> (2303)
Nitrogenous Fluxes and Its Self-Purification Capacity in Lake Taihu	CHEN Xiao-feng, CHUAI Xiao-ming, ZENG Jin, <i>et al.</i> (2309)
Response of Phosphorus Components in Sediments from Eutrophic Lake to External Sulfate	YUAN Tan, HUA Yu-mei, ZHU Duan-wei, <i>et al.</i> (2315)
Spatial Distribution Character of Phosphorus Fractions in Surface Sediment from Chaohu Lake	WEN Sheng-fang, SHAN Bao-qing, ZHANG Hong (2322)
Long-range Transport Potential of Typical Organic Pollutants in Nanjing	FANG Li-jiang, WU You-fang, DING Zhong-yuan, <i>et al.</i> (2330)
Distribution of Black Carbon in the Surface Sediments of the East China Sea and Their Correlations with Persistent Organic Pollutants	LIN Tian, FANG Yin, CHEN Ying-jun, <i>et al.</i> (2335)
Contamination Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Surface Water from Jialing River in Chongqing	CAI Wen-liang, LUO Gu-yuan, XU Xiao-yi, <i>et al.</i> (2341)
Levels, Distribution and Possible Sources of Polychlorinated Biphenyls in River Sediments from an Electronic Waste Recycling Area	WANG Xue-tong, LI Yuan-cheng, MIAO Yi, <i>et al.</i> (2347)
Assessment Model for Heavy Metal Pollution in Sediment Based on Trapezoidal Fuzzy Numbers and Case Study	LI Fei, HUANG Jin-hui, ZENG Guang-ming, <i>et al.</i> (2352)
Impact of Coastal Exploitation on the Heavy Metal Contents in the Sediment of Bohai Bay	QIN Yan-wen, ZHENG Bing-hui, LI Xiao-bao, <i>et al.</i> (2359)
Spatial Distribution and Contamination Evaluation of Heavy Metals in the Intertidal Surface Sediments of Eastern Chongming	LI Ya-juan, YANG Shi-lun, HOU Li-jun, <i>et al.</i> (2368)
Speciation and Vertical Distribution of Heavy Metals in Sediments of Baiyangdian Lake	LI Bi-cai, HE Lian-sheng, YANG Min, <i>et al.</i> (2376)
AVS Concentrations in Xinan Creek and the Influencing Factors	LIU Xiao-bing, WEN Yan-mao, LI Feng, <i>et al.</i> (2384)
Mechanism of NH ₄ ⁺ -N Removal in Drinking Water Biofilter	LIU Bing, FAN Hui, YU Guo-zhong, <i>et al.</i> (2394)
Characterization and Thermodynamic Properties of Cu(II) Imprinted Chitosan Crosslinked Membrane	ZHANG Yu-hong, ZHANG Ai-li, ZHOU Ji-ti, <i>et al.</i> (2403)
Studies on the Degradation of Paracetamol in Sono-electrochemical Oxidation	DAI Qi-zhou, MA Wen-jiao, SHEN Hong, <i>et al.</i> (2410)
Study on Treatment of Methylene Blue Wastewater by Fly Ash Adsorption-Fenton and Thermal Regeneration	BAI Yu-jie, ZHANG Ai-li, ZHOU Ji-ti (2419)
Electricity Generation Performance of Two-Chamber Microbial Full Cell in the Treatment of Simulated Wastewater	ZHANG Yong-juan, LI Yong-feng, LIU Chun-yan, <i>et al.</i> (2427)
Preparation and Characterization of Zn/Cr-LDHs and Their Removal Performances of Reactive Brilliant Orange X-GN	WANG Xiao-rong, WU Ping-xiao (2432)
Transport Processes of Low-level Radioactive Liquid Effluent of Nuclear Power Station in Closed Water Body	WU Guo-zheng, XU Zong-xue (2438)
Analysis of Carbon Balance and Study on Mechanism in Anoxic-Oxic-Settling-Anaerobic Sludge Reduction Process	ZHAI Xiao-min, GAO Xu, ZHANG Man-man, <i>et al.</i> (2444)
Effect of Mixed Carbon Sources in the Granulation Process of EBPR System	JIANG Tao, SUN Pei-de, XU Shao-juan (2451)
Biocatalyst of Redox Mediators on the Denitrification by <i>Paracoccus versutus</i> Strain GW1	LI Hai-bo, LIAN Jing, GUO Yan-kai, <i>et al.</i> (2458)
Isolation of a High Hydrogen-producing Mutant TB34 Generated by Transposon Insertion and Analysis of Hydrogen Production	LIU Hong-yan, WANG Guang-ce, SHI Liu-yang, <i>et al.</i> (2464)
Condition Optimization for Degradation of Chlorophenols Using Laccase from <i>Amillariella mellea</i>	QIN Ren-bing, ZHU Xian-feng, WU Ke, <i>et al.</i> (2470)
Characterization of CH ₄ , N ₂ O Emission and Selection of Rice Cultivars in Double Cropping Rice Fields	FU Zhi-qiang, ZHU Hua-wu, CHEN Can, <i>et al.</i> (2475)
Short-term Effects of Exogenous Nitrogen on CH ₄ and N ₂ O Effluxes from <i>Cyperus malaccensis</i> Marsh in the Min River Estuary	MOU Xiao-jie, LIU Xing-tu, TONG Chuan, <i>et al.</i> (2482)
Temporal-spatial Variations of Total Nitrogen in the Degraded Grassland of Three-River Headwaters Region in Qinghai Province	PENG Jing-tao, LI Guo-sheng, FU Wa-li, <i>et al.</i> (2490)
Temporal Variations of Clay Content in Eroded Sediment Under Different Rainfall Condition	WU Feng-zhi, SHI Zhi-hua, FANG Nu-fang, <i>et al.</i> (2497)
Effects of Soil Properties on the Stabilization Process of Cadmium in Cd Alone and Cd-Pb Contaminated Soils	WU Man, XU Ming-gang, ZHANG Wen-ju, <i>et al.</i> (2503)
<i>In-situ</i> Remediation of Polychlorinated Biphenyls Polluted Soil by Ecological Controlling Measures; A Field Trial	PAN Cheng, TENG Ying, LUO Yong-ming, <i>et al.</i> (2510)
Characterization Comparison of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Uptake by Roots of Different Crops	LIANG Xiao, ZHAN Xin-hua, ZHOU Li-xiang (2516)
Characteristics and Mechanism of Sodium Removal by the Synergistic Action of Flue Gas and Waste Solid	YI Yuan-rong, HAN Min-fang (2522)
Decomposition Model of Energy-Related Carbon Emissions in Tertiary Industry for China	LU Yuan-qing, SHI Jun (2528)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

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 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 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)

2012年7月15日 33卷 第7期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 7 Jul. 15, 2012

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	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
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	中国国际图书贸易总公司 (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: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行