ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版

中国期刊方阵 双奖期刊 中华人民共和国新闻出版总署

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第34卷 第2期
2013年2月15日

目 次

16届亚运会期间广州城区 $PM_{2.5}$ 化学组分特征及其对霾天气的影响 …… 陶俊,柴发合,高健,曹军骥,刘随心,张仁健(409)
北京地区秋季雾霾天 $PM_{2.5}$ 污染与气溶胶光学特征分析 …… 赵秀娟,蒲维维,孟伟,马志强,董璠,何迪(416)
上海市秋季大气 VOCs 对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究 …… 王倩,陈长虹,王红丽,周敏,楼晟荣,乔利平,黄成,李莉,苏雷燕,牟莹莹,陈宜然,陈明华(424)
杭州市大气超细颗粒数浓度谱季节性特征 …… 谢小芳,孙在,付志民,杨文俊,林建忠(434)
保定市大气气溶胶中正构烷烃的污染水平及来源识别 …… 李杏茹,杜熙强,王英锋,王跃思(441)
春节期间西安城区碳气溶胶污染特征研究 …… 周变红,张承中,王格慧(448)
华东区域高山背景点 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 背景值及污染特征 …… 苏彬彬,刘心东,陶俊(455)
基于电子鼻土壤与地下水污染修复现场 TVOC 和恶臭的评估 …… 田秀英,蔡强,刘锐,张永明(462)
积融雪控制下土壤大气间汞交换通量特征 …… 张刚,王宁,艾建超,张蕾,杨净,刘子琪(468)
靖海湾重金属污染及铅稳定同位素溯源研究 …… 徐林波,高勤峰,董双林,刘佳,傅秀娟(476)
正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究 …… 欧杰,王延华,杨浩,胡建芳,陈霞,邹军,谢云(484)
干旱区城市昌吉降雪及积雪中 PGEs 含量分布及其影响因素 …… 刘玉燕,刘浩峰,张兰(494)
降尘收集方法对降尘效率的影响 …… 张正偲, 董治宝(499)
海河流域水生态功能一级二级分区 …… 孙然好,汲玉河,尚林源,张海萍,陈利顶(509)
长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究 …… 时志强,张运林,王明珠,刘笑菡(517)
内陆水体叶绿素反演模型普适性及其影响因素研究 …… 黄昌春,李云梅,徐良将,杨浩,吕恒,陈霞,王延华(525)
溶氧对富集培养的河口湿地表层沉积物氨氧化菌多样性及氨氧化速率的影响 …… 邱昭政,罗专溪,赵艳玲,颜昌宙(532)
自然条件下盐城海滨湿地土壤水分/盐度空间分异及其与植被关系研究 …… 张华兵,刘红玉,李玉凤,安静,薛星宇,侯明行(540)
淮河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制 …… 周亮,徐建刚,孙东琪,倪天华(547)
高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征 …… 崔玉洁,刘德富,宋林旭,陈玲,肖尚斌,向坤,张涛(555)
城市雨水径流水质演变过程监测与分析 …… 董雯,李怀恩,李家科(561)
复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果 …… 任峰,陆忆夏,刘琴,汤杨杨,王世和,高海鹰,乔红杰,王为进(570)
给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究 …… 郑琦,陈超,张晓健,陆品品,刘源源,陈雨乔(576)
1 株溶藻菌的部分生物学特性及溶鱼腥藻作用 …… 李三华,张奇亚 (583)
水生植物热解生物油对中肋骨条藻抗氧化酶活性的影响 …… 姚远,李锋民,李媛媛,单时,李杰,王震宇(589)
TiO_2 光催化联合技术降解苯酚机制及动力学 …… 张轶,黄若男,王晓敏,王齐,丛燕青(596)
皮革废水有机污染物生物降解特性研究 …… 王勇,李伟光,杨力,宿程远(604)
链霉菌 FX645 对偶氮染料红 AR30 的降解机制研究 …… 谢练武,方继前,郭亚平(611)
一种负载型生物载体的制备及性能研究 …… 杨基先,曾红云,周义,邱珊,马放,王蕾,肖大伟(616)
基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)培养研究 …… 嵇雯雯,夏会龙,方治国,刘惠君(622)
温和热处理对低有机质污泥厌氧消化性能的影响 …… 陈汉龙,严媛媛,何群彪,戴晓虎,周琪(629)
天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放 CH_4 的影响 …… 姚敦璠,陈天虎,王进,周跃飞,岳正波(635)
蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征 …… 青宪,韩静磊,温炎燊(642)
基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究 …… 钟茂生,姜林,姚珏君,夏天翔,朱笑盈,韩丹,张丽娜(647)
区域地下水污染风险评价方法研究 …… 杨彦,于云江,王宗庆,李定龙,孙宏伟(653)
地下水有机污染源识别技术体系研究与示范 …… 王晓红,魏加华,成志能,刘培斌,纪轶群,张干(662)
祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究 …… 朱凌宇,潘剑君,张威 (668)
黑土有机碳、氮及其活性对长期施肥的响应 …… 骆坤,胡荣桂,张文菊,周宝库,徐明岗,张敬业,夏平平(676)
根茬连续还田对镉污染农田土壤中镉赋存形态和生物有效性的影响 …… 张晶,于玲玲, 辛术贞, 苏德纯(685)
长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究 …… 罗璐,周萍,童成立,石辉,吴金水,黄铁平(692)
外源Cr(Ⅲ)在我国22种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究 …… 郑顺安,郑向群,李晓辰,刘书田,姚秀荣(698)
某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征 …… 潘峰,王利利,赵浩,尤奇中,刘林(705)
大型炼锌厂周边土壤及蔬菜的汞污染评价及来源分析 …… 刘芳,王书肖,吴清茹,林海(712)
天津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征 …… 姚丹,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波,王艳萍,刘国卿(718)
沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚 A 的测定 …… 吴唯,史江红,陈庆彩,张晖,刘晓薇(724)
动物饲料中砷、铜和锌调查及分析 …… 姚丽贤,黄连喜,蒋宗勇,何兆桓,周昌敏,李国良(732)
氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究 …… 王点点,宋宁慧,吴文铸,由宗政,何健,石利利(740)
2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性 …… 倪雪,刘娟,高彦征,朱雪竹,孙凯(746)
嗜盐拟香味菌 Y6 降解硝基苯的特性研究 …… 厉阗,钱坤,肖伟,王进军,邓新平(753)
固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响 …… 唐阔,马安周,于清,邓雪梅,吕迪,庄国强(760)
16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性 …… 刘卫国,梁存珍,杨金生,王桂萍,刘苗苗(767)
氨氮浓度对 CANON 工艺功能微生物丰度和群落结构的影响 …… 刘涛,李冬,曾辉平,畅晓燕,张杰(773)
简青霉(*Penicillium simplicissimum*)对木质纤维素的降解及相关酶活性特征 …… 沈莹,胡天觉,曾光明,黄丹莲,尹璐,刘杨,吴娟娟,刘晖 (781)
石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究 …… 杨萌青,李立明,李川,李广贺(789)
土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响 …… 王桂珍,李兆君,张树清,马晓彤,梁永超(795)
生活垃圾填埋过程含水率变化研究 …… 李睿,刘建国,薛玉伟,张媛媛,岳东北,聂永丰(804)
动物消化机制用于木质纤维素的厌氧消化 …… 吴昊,张盼月,郭建斌,吴永杰(810)
《环境科学》征订启事(447) 《环境科学》征稿简则(493) 信息(508,588,610,731) 专辑征稿通知(788)

2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性

倪雪,刘娟,高彦征,朱雪竹*,孙凯
(南京农业大学资源与环境科学学院,土壤有机污染控制与修复研究所,南京 210095)

摘要: 为了获得具有菲降解特性的植物内生细菌,通过选择性富集培养,本研究从多环芳烃污染区植物体内分离得到 2 株能够降解液体培养基中高浓度菲(200 mg·L^{-1})的植物内生细菌(菌株 P_1 和 P_3). 经形态观察、生理生化特征鉴定和 16S rDNA 序列同源性分析,分别将菌株 P_1 和 P_3 鉴定为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)的细菌. 菌株 P_1 和 P_3 均为好氧生长, 28℃、150 r·min^{-1}摇床培养 7 d, 2 株菌对无机盐培养基中菲(100 mg·L^{-1})的降解率均高于 90%. 条件实验表明,温度 20~30℃,pH 6.0~8.0,盐含量 0%~4%,装液量 10~30 mL (100 mL 三角瓶) 2 菌株生长良好且对菲降解率高于 70%. 其最适生长和降解温度为 30℃,pH 为 7.0,盐含量≤4%,装液量≤30 mL. 综合比较 2 株菌对菲的降解特性,P_1 菌株高温耐受性稍强,而 P_3 菌株对环境 pH 改变和缺氧的耐受性稍强.

关键词:植物内生细菌; 菲; 16S rDNA 序列; 分离筛选; 菌株鉴定; 生物降解
中图分类号: X172; X53 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2013)02-0746-07

Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity

NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, ZHU Xue-zhu, SUN Kai
(College of Resource and Environmental Science, Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Two endophytic bacterial strains, which could degrade high concentration (up to 200 mg·L^{-1}) of phenanthrene in liquid, were isolated from plants grown in PAHs-contaminated soils by the selective enrichment culture. According to the results of morphology, physiology and the phylogenetic analyses of 16S rDNA sequence, stain P_1 was identified as *Stenotrophomonas* sp., and strain P_3 was identified as *Pseudomonas* sp.. Two strains were aerobic bacteria, the degradation rates of phenanthrene (100 mg·L^{-1}) by strain P_1 and strain P_3 were all greater than 90% at 28℃ on the rotation shaker at 150 r·min^{-1} for 7 days. The degradation rates of phenanthrene by two strains were greater than 70% when cultivated under the conditions as: 20-30℃, pH 6-8, 0%-4% NaCl, 10-30 mL/100 mL inventory. It suggested that the optimum culture condition was: 30℃, pH 7.0, NaCl≤4%, inventory≤30 mL/100 mL flask. Through comprehensive comparison analyses on the degradation capacity of two strains, it showed that the tolerance of strain P_1 to high temperature was higher than that of strain P_3, while the tolerance of strain P_3 to pH change and anoxic condition was higher than that of strain P_1.

Key words: endophytic bacterium; phenanthrene; 16S rDNA sequence; isolation; identification; biodegradation

我国土壤有机污染问题十分严峻. 其中多环芳烃(PAHs)因疏水性强、难于降解、易在土壤中累积的特点,成为土壤环境中一类重要污染物,威胁生态安全与人群健康[1,2]. 土壤有机污染已成为影响我国食品安全的重要障碍之一. 如何防止污染物在农作物中积累、降低土壤污染对人们健康的危害,是环境研究工作的重点.

具有降解特性植物内生细菌的发现,为降低植物 PAHs 积累开阔了思路[3]. 研究表明,具有降解污染物特性的植物内生细菌可以改变土壤有机物在植物体内的归宿,从而影响污染物在植物体内的积累[4,5]. 植物内生细菌具有丰富的生物多样性[6],不仅可通过调节植物体内激素、酶的分泌影响植物体内物质代谢[7~9],同时植物内生细菌可改善植物营养[10,11]、降低植物病菌感染[12]、提高植物抗逆性[13]等. 然而,虽然自然界中具有降解污染特性的植物内生细菌已被发现,但关于功能性植物内生细菌的筛选及其降解特性研究的报道很少.

菲是环境中存在较广泛的 PAHs 污染[14],并具有典型的多环芳烃 K 区和湾区的致癌性特征结构. 本研究选择菲为目标污染物,从多环芳烃污染场地采集植物,旨在从植物体内分离筛选能以菲为唯一碳源和能源的高效菲降解细菌,并探索其在不同环

收稿日期: 2012-05-03; **修订日期**: 2012-06-12
基金项目: 国家自然科学基金项目(41071212, 41171380, 21077056);中国博士后科学基金项目(2011M501246);中央高校基本科研业务费专项(KYZ201109)
作者简介: 倪雪(1986~),女,硕士研究生,主要研究方向为环境生物技术,E-mail:2010103076@njau.edu.cn
* 通讯联系人,E-mail:zhuxuezhu@njau.edu.cn

境条件下对菲的降解能力,以期为利用菲降解特性植物内生细菌防治土壤污染提供菌种支持.

1　材料与方法

1.1　实验材料

化学试剂:菲(PHE,纯度≥97%)为德国 Fluka 公司出品.

供试植物:采集于江苏省南京市扬子石化芳烃厂厂区内部,品种为小飞蓬、三叶草等. 植物采集后4℃保存,7 d 内进行菲降解内生细菌的分离筛选.

1.2　培养基

LB 培养基(g·L^{-1}):蛋白胨 10,酵母粉 5,NaCl 10,pH 7.

无机盐培养基(MS)(g·L^{-1}):$(NH_4)_2SO_4$ 1.50, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1.91, KH_2PO_4 0.50, NaCl 0.50, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.20,微量元素溶液 2 mL,pH 7. 其中微量元素溶液成分(g·L^{-1}):$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.1, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.425, $ZnCl_2$ 0.05, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.01, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.015, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.01, $Na_2SeO_4 \cdot 2H_2O$ 0.01.

菲降解培养基:2 g·L^{-1}的菲丙酮溶液过 0.22 μm 滤膜除菌,取一定量置于灭菌的三角瓶中,待丙酮挥发完全后加入灭菌的无机盐培养液,使菲的最终浓度达到实验设计浓度.

1.3　内生细菌分离与筛选

将新鲜植物样品按下列程序进行表面灭菌[15]:自来水将植物表面冲洗干净后,用 75% 酒精漂洗 3 ~5 min,依次用无菌水冲洗 3 ~4 次, 0.1% $HgCl_2$ 漂洗 2 ~5 min,最后无菌水冲洗 5 次. 表面消毒后的植物样品在固体平板中培养 24 h,检测表面是否残留微生物.

分离筛选纯化:将经检测表面已消毒好的植物样本于 5 mL 无菌水中研磨,取上清液到含低浓度菲的降解培养基中,于 28℃振荡培养 7 d,进行 4 次转接,逐步提高菲降解培养基中菲浓度(达到 200 mg·L^{-1}). 将上述菌液稀释并涂布于 MS 培养基平板表面(培养基表面预先用 100 mg·L^{-1}菲丙酮溶液涂布),28℃恒温培养,待平板上长出菌落,用划线等分离方法,经过分离、筛选、纯化的反复过程,直至得到纯化的典型菌落. 挑选有明显降解圈且长势旺盛的菌株,进行鉴定与菲降解特性研究.

1.4　菌株的鉴定

对降解效率高的菌株进行菌体形态观察、生理生化实验、16S rDNA 序列同源性比对分析等,确定其分类地位. 菌株的形态及生理生化特性测定参照文献[16]进行. 16S rDNA 克隆所用正向引物为 16S-27F:5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′; 反向引物为 16S-1492R:5′-TACCTTGTTACGACTT-3′(上海英骏生物技术有限公司合成). PCR 扩增产物经电泳检测后,送南京金斯瑞测序有限公司进行纯化测序. 测序结果用 GenBank 进行 Blast 比对分析、整理后,采用 Clustalx 1.83 和 MEGA 5.0 软件构建系统发育树.

1.5　生长曲线测定

将菌株接种于 1/10 LB 培养基(LB 培养基稀释 10 倍). 每隔 2 h 取样测定 D_{600} 值,绘制 72 h 生长曲线.

1.6　菲降解实验

(1)菲降解效率的测定

在菲含量为 100 mg·L^{-1}的菲降解培养基中,按 1% 的接种量加入菌悬液(D_{600} 值为 1.0),28℃、150 r·min^{-1}摇床培养 7 d,每天定时取样,测定培养基的 D_{600} 值与菲浓度.

菲浓度测定采用定时整瓶提取培养基的方法[17]. 向培养基中加入等体积色谱甲醇,超声混匀,高速离心后过 0.22 μm 滤膜,用岛津高效液相色谱(LC-10AT)测定菲浓度. 高效液相色谱设定参数为: Inertsil ODS-SP-C_{18}反相色谱柱(150 mm ×4.6 mm,5 μm), 流动相: 甲醇∶水 = 90∶10, 流速 0.800 mL·min^{-1},柱温 40℃,检测波长 245 nm.

(2)环境条件对菲降解效率影响研究

培养条件、接种方法与(1)同,只改变相应环境条件进行菲降解实验.

温度的影响:分别在 15、20、25、30、35、40℃条件下摇床培养 7 d 后测定培养基 D_{600} 和菲浓度.

pH 值的影响:菲降解培养基 pH 值分别调至 4、5、6、7、8、9、10,摇床培养 7 d 后测定培养基 D_{600} 和菲浓度.

盐含量的影响[18]:在菲降解培养基中另添加 NaCl,含量增加值分别为 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%,对照是未另添加 NaCl 的菲降解培养基. 摇床培养 7 d 后测定培养基 D_{600} 和菲浓度.

通气量的影响:通过改变三角瓶中培养基的装液量来初步研究氧气供给对菲降解的影响[19]. 100 mL 三角瓶中菲降解培养基的装液量分别为 10、20、30、40、50、60、80 mL,摇床培养 7 d. 另设置 80 mL 装液量的静置对照组. 培养结束后测定培养基 D_{600} 和菲浓度.

1.7 数据分析

实验所得数据在 Microsoft office Excel 2003 中进行处理,用 SYSTAT 10 进行显著性 t-检验,显著性水平为 $\alpha = 0.05$. 菲的降解率计算公式如下:

菲降解率 = (对照样品中菲浓度 - 处理样品中菲残留浓度)/对照样品中菲浓度 ×100%

2 结果与讨论

2.1 菌株鉴定

2.1.1 菌落形态及其生理生化特性

P_1、P_3 菌株分别从 PAHs 污染场地采集的小飞蓬、三叶草中分离获得. 其在含菲的 MS 固体培养基上生长较好,并产生了明显降解圈. 试验确定 2 菌株均为革兰氏阴性细菌,菌体无芽孢,呈短杆状. 菌落外形隆起、光滑、边缘整齐,呈半透明状、有光泽,菌体易挑起. P_1 菌落为淡黄色,P_3 菌落为淡褐色. 其生理生化特性见表 1.

2.1.2 菌株 16S rDNA 序列测序

16S rDNA 序列测序结果表明,菌株 P_1 与 *Stenotrophomonas* sp. 多个菌株的序列相似性达到 99.70% 以上,其中与 *Stenotrophomonas maltophilia* 菌株的序列相似性达到 99.98%. 菌株 P_3 与 *Pseudomonas* sp. 多个菌株的序列相似性均达到 99.90% 以上,其中与 *Pseudomonas monteilii* 菌株的相似性达到 99.99%,与 *Pseudomonas plecoglossicida* 菌株的序列相似性达到 99.97%.

表 1 菌株 P_1、P_3 生理生化特性[1)]

Table 1 Physiological and biochemical characters of strain P_1 and P_3

测定项目	菌株	
	P_1	P_3
葡萄糖发酵试验	+	+
果糖发酵试验	+	+
蔗糖发酵试验	-	-
乳糖发酵试验	-	-
甘油发酵试验	-	-
过氧化氢酶试验	+	+
淀粉水解	-	-
吲哚试验	+	+
M. R 试验	-	-
V. P 试验	+	+
氧气	+	+
明胶水解	-	-
苯丙氨酸脱氨酶	+	-
柠檬酸盐利用	-	+
产 H_2S 试验	+	+

1) +: 表示发酵糖类只产酸不产气及其它试验中呈阳性反应, -: 为阴性反应

综合菌株 P_1、P_3 的生理生化特性和 16S rDNA 序列比对分析结果,可确定菌株 P_1 为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp.),菌株 P_3 为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.). 菌株 P_1、P_3 系统发育树分别见图 1、图 2.

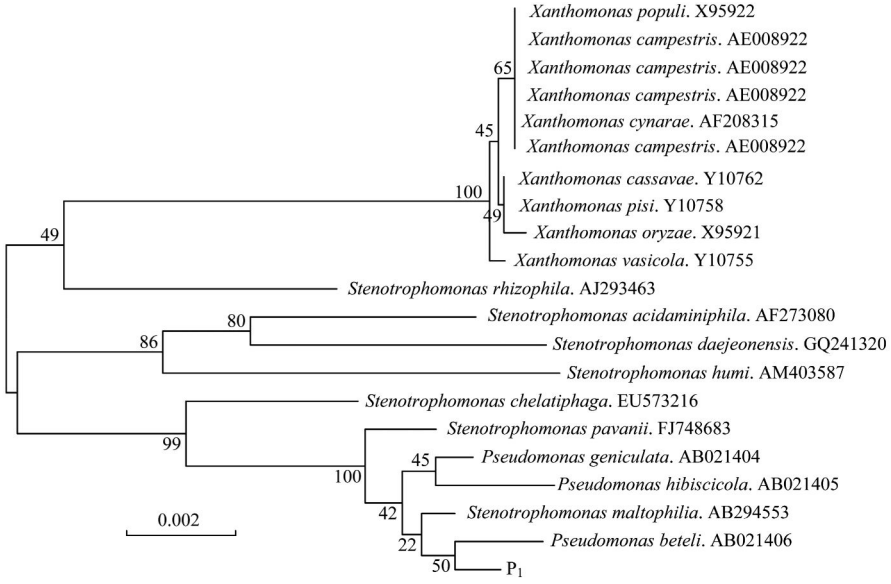

图 1 基于 16S rDNA 基因序列同源性的 P_1 系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of P_1 strain based on the 16S rDNA gene homology

2.2 菲降解内生菌生长曲线及菲降解能力测定

菌株 P_1 和 P_3 的生长特征存在差异(图 3),P_3 菌存在 2 个快速增长期. P_1 菌在培养 3 h 后进入对数生长期,20 h 后其进入平衡生长期,达到其最大 D_{600} 值; P_3 菌在培养 5 h 后进入对数生长期,20 ~ 30 h 经过第一次的短暂平衡生长阶段之后,又进入 30

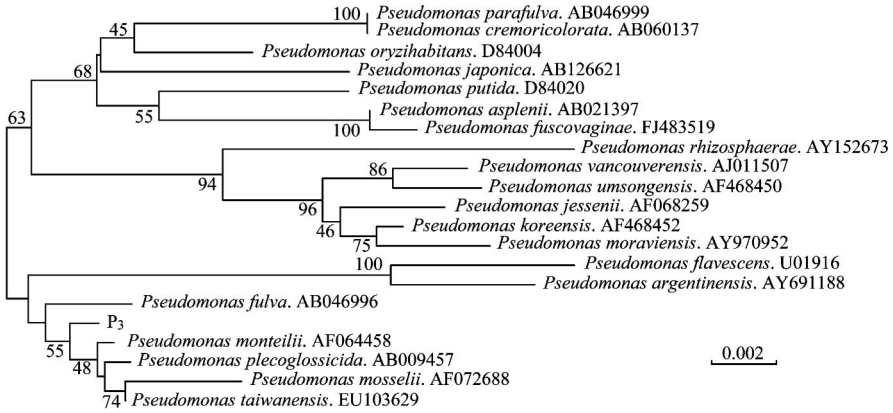

图 2　基于 16S rDNA 基因序列同源性的 P_3 系统发育树

Fig. 2　Phylogenetic tree of P_3 strain based on the 16S rDNA gene homology

~35 h 的第二次的快速增长期,40 h 后再次进入平衡生长期,达到其最大 D_{600}值.

从图 4 可以看出 P_1 和 P_3 菌均具有较高的菲去除能力,前 7 d 总的菲降解率分别达到 90.2% 和 91.7%.其中,前 5 d 菲的降解速率较快,前 5 d 总的菲降解率分别为 83.0% 和 81.6%.经菲代谢动力学分析,P_1 菌对菲的降解动力学方程为 $c = 167.61e^{-0.4075t}$ ($r = 0.9738$);P_3 菌对菲的降解动力学方程为 $c = 156.21e^{-0.4099t}$ ($r = 0.9871$).式中,c 为残留浓度,mg·L^{-1};t 为培养时间,d.经计算,菲在 P_1 和 P_3 菌培养基中的半衰期分别为 1.70 d、1.69 d,P_3 菌降解菲的速度比 P_1 菌稍快.分析其原因,这可能与 P_3 菌在 30 ~ 35 h 间的快速增长有关.通过相关性分析,可见培养基中细菌数量与菲残留呈显著负相关,相关系数在 0.985 ~ 0.973.

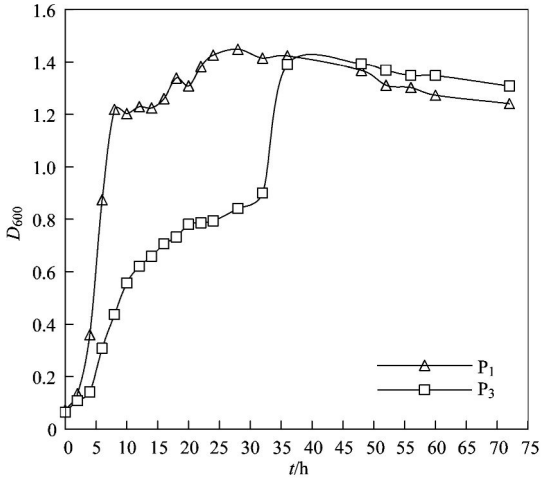

图 3　菌株 P_1 和 P_3 的生长曲线

Fig. 3　Growth curves of strain P_1 and P_3

2.3　环境条件对菌株降解菲的影响

2.3.1　温度影响

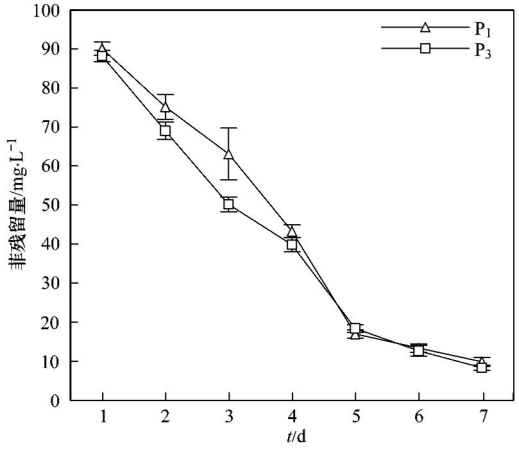

图 4　P_1 和 P_3 培养液中菲残留随时间的变化

Fig. 4　Residue of PHE in media at different time

由图 5 可见,2 菌株降解菲具有较广的温度适宜范围,且温度对菌株生长和菲降解的影响一致.在 30℃时,P_1 和 P_3 菌数量均达到最高,且菲去除率也最高.P_1 和 P_3 菌液的 D_{600}值分别为 0.936、0.975,菲的降解率分别为 90.3%、92.1%.30℃以下时,随着温度的上升,菌株生长增加,菲降解率升高;但 30℃以上时,随着温度的上升,菌株生长减少,对菲的去除显著降低.这一结果符合假单胞菌属的特性,Ma 等[20]报道 30℃为假单胞菌属降解 PAHs 的最适温度.通过相关性分析,温度影响实验中菌株生长与菲的降解率呈正相关,相关系数达到 0.976.由此推测高温、低温均不利于菌株的生长,由此导致菲降解率下降.比较 P_1 和 P_3 菌对温度变化的敏感性,低于 30℃时,2 菌株的生长及其对菲的降解效率相近;而高于 30℃时,菌株 P_1 的生长及其降解菲的效率显著高于菌株 P_3($P < 0.05$),这说明菌株 P_1 更适应高温胁迫.

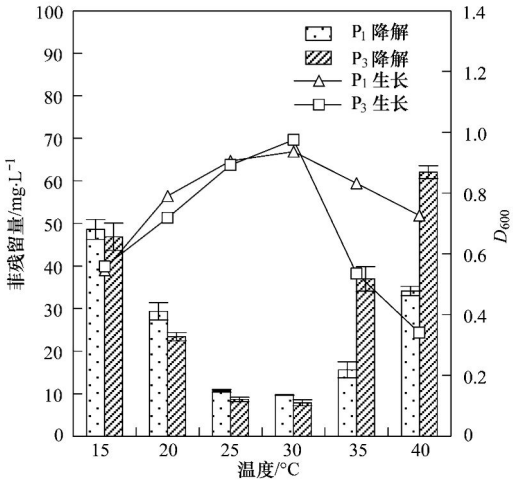

图 5 温度对 P_1 和 P_3 生长和菲降解的影响

Fig. 5 Growth of bacteria and the residue of PHE in media under different temperatures

2.3.2 pH 影响

菌株 P_1 和 P_3 的最适生长 pH 值为 7,酸性与碱性条件均对菌株生长与菲的降解存在不利影响(图 6). 其最适宜 pH 与一些报道不同,有报道说培养基中性偏碱性有利于菌株对 PAHs 的降解[21, 22]. 其适宜生长 pH 范围与大多环境 PAHs 降解菌相似[23, 24]为 pH 6 ~8. 本研究中,当培养基 pH 值为 7 时,菌株 P_1、P_3 的生长情况最好,对菲的降解率最高达到 90.1%以上. 当 pH 值从 7 降至 4 时,P_1 和 P_3 菌液 D_{600}值分别从 0.956、1.035 降至 0.449、0.489,其对菲的降解率也降至 30.7% 和 41.7% ($P < 0.05$);当 pH 从 7 升至 10 时,P_1 和 P_3 菌液 D_{600}值分别降至 0.371、0.425,对菲的降解率分别降至 32.1%、37.5% ($P < 0.05$).

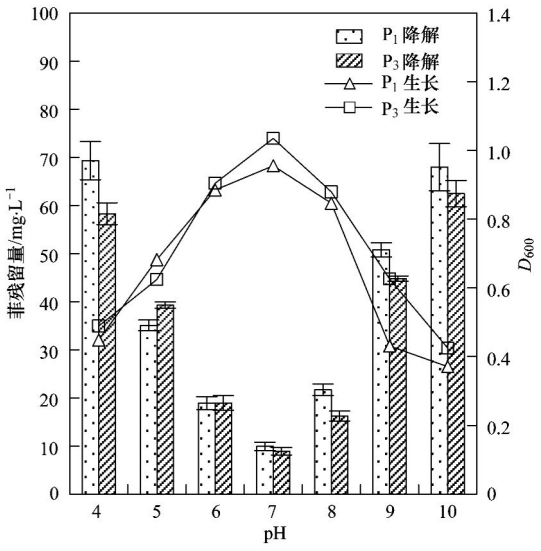

图 6 pH 对菌株 P_1 和 P_3 的生长和菲降解的影响

Fig. 6 Growth of bacteria and the residue of PHE in media under different pH

2.3.3 盐含量影响

由图 7 可知,1% ~3% NaCl 时,菌株 P_1 和 P_3 生长良好,菲的去除效率分别在 85.2% ~89.9% 和 82.5% ~90.9%. 即使 4% NaCl 时,菌株对菲的降解显著地高于 5% ~8% NaCl 的条件($P < 0.05$),能达到 70%. 随着培养基中盐含量达到 5%时,菌株生长受抑制,菲去除效率降低,特别当盐含量≥7%时,培养基内菲的降解率均低于 20%. 分析原因可见,当培养基内盐含量高于 4%时,菌株的生长受到抑制,特别是盐含量达到 7%时,高 NaCl 含量抑制了内生细菌的生长,培养液 D_{600} 已降至对照 D_{600} 的 10%,从而导致菲的降解率降低. 与土壤环境中的降解菌进行比较[18, 25, 26],菌株 P_1 和 P_3 表现了出较强的耐盐性能.

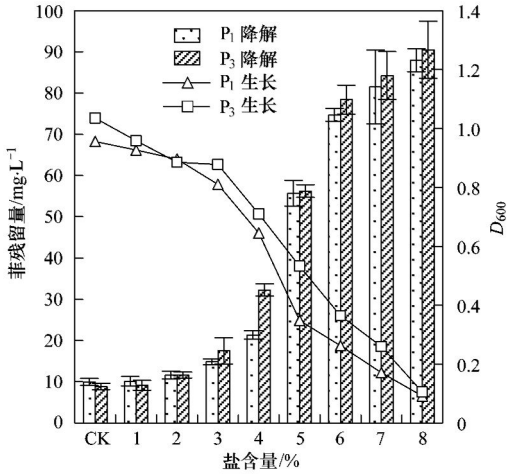

图 7 盐含量对菌株 P_1 和 P_3 的生长和菲降解的影响

Fig. 7 Growth of bacteria and the residue of PHE in media under different salinity

2.3.4 通气量的影响

由图 8 可见,静置对照组菌株 P_1 和 P_3 生长最差,且菲的降解率分别仅为 12.6%、20.8%. 各处理组随着三角瓶中培养基体积的增加,菌株生长受抑制,菲的降解效率降低. 当 100 mL 的三角锥瓶中培养基体积≤30 mL 时,菌株生长、菲降解效率并无显著差异($P > 0.05$),且菲降解效率较高,可达 90%;但当 100 mL 的三角锥瓶中培养基体积 >30 mL 时,随着培养基量的增加,细菌的生长被抑制且其对菲的降解效率随之下降;培养基装瓶量为 80 mL 时,2 株菌对菲的降解率降至最低值,分别仅为 36.3%、46.9%.

分析原因,表 1 中显示菌株 P_1 和 P_3 为好氧菌,

随着装液量的增加，空气中的氧气向培养基扩散速率下降，导致氧气供给不能满足菌株 P_1 和 P_3 生长的需求，抑制了菌株 P_1 和 P_3 的生长，从而菲降解率下降.

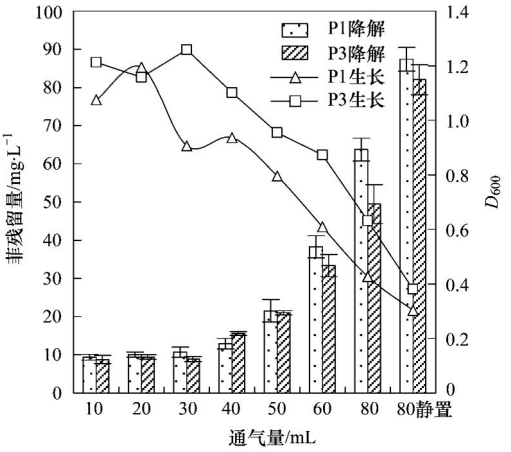

图 8　通气量对菌株 P_1 和 P_3 的生长和菲降解的影响

Fig. 8　Growth of bacteria and the residue of PHE in media under different aeration conditions

3　结论

(1)本研究从 PAHs 污染区生长的小飞蓬和三叶草中分离获得能以菲为唯一碳源和能源生长的寡养单胞菌属菌株 P_1 和假单胞菌属菌株 P_3，其能够在实验室培养条件下高效降解菲. 菌株 P_1 和 P_3 7 d 菲的总降解效率分别可达 90.2% 和 91.7%.

(2)2 株菌株降解特性研究表明，菌株 P_1 和 P_3 均为好氧菌，具有较高的环境适应能力，适宜菌株降解菲的环境条件为 20 ~ 30℃，pH 6 ~ 8，盐含量 ≤4%，装液量 10 ~ 30 mL(100 mL 三角瓶). 综合比较 2 株菌在不同环境条件下的生长和菲的降解特性，菌株 P_1 较适应高温，而菌株 P_3 较适应环境 pH 改变和缺氧的条件.

参考文献：

[1] 高学晟，姜霞，区自清. 多环芳烃在土壤中的行为[J]. 应用生态学报，2002，**13**(4)：501-504.

[2] 刘世亮，骆永明，丁克强，等. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物修复作用研究[J]. 土壤学报，2004，**41**(3)：336-342.

[3] Newman L A，Reynolds C M. Bacteria and phytoremediation：new uses for endophytic bacteria in plants[J]. Trends in Biotechnology，2005，**23**(1)：6-8.

[4] Taghavi S，Barac T，Greenberg B，*et al*. Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene[J]. Applied and Environmental Microbiology，2005，**71**(12)：8500-8505.

[5] Barac T，Taghavi S，Borremans B，*et al*. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble，volatile，organic pollutants[J]. Nature Biotechnology，2004，**22**(5)：583-588.

[6] Suto M，Takebayashi M，Saito K，*et al*. Endophytes as producers of xylanase[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering，2002，**93**(1)：88-90.

[7] Hardoim P R，van Overbeek L S，Van Elsas J D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth[J]. Trends in Microbiology，2008，**16**(10)：463-471.

[8] Li J H，Wang E T，Chen W F，*et al*. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China[J]. Soil Biology and Biochemistry，2008，**40**(1)：238-246.

[9] Zhang X X，Li C J，Nan Z B. Effects of cadmium stress on growth and anti-oxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*[J]. Journal of Hazardous Materials，2010，**175**(1-3)：703-709.

[10] Pedraza R O，Bellone C H，de Bellone S C，*et al*. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop[J]. European Journal of Soil Biology，2009，**45**(1)：36-43.

[11] Puente M E，Li C Y，Bashan Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings[J]. Environmental and Experimental Botany，2009，**66**(3)：402-408.

[12] Lian J，Wang Z F，Cao L X，*et al*. Artificial inoculation of banana tissue culture plantlets with indigenous endophytes originally derived from native banana plants[J]. Biological Control，2009，**51**(3)：427-434.

[13] Ho Y N，Shih C H，Hsiao S C，*et al*. A novel endophytic bacterium，*Achromobacter xylosoxidans*，helps plants against pollutant stress and improves phytoremediation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering，2009，**108**(Supplement 1)：S94.

[14] Li J W，Shang X，Zhao Z X，*et al*. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water，sediment，soil，and plants of the Aojiang River waterway in Wenzhou，China[J]. Journal of Hazardous Materials，2010，**173**(1-3)：75-81.

[15] Sheng X F，Xia J J，Jiang C Y，*et al*. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape[J]. Environmental Pollution，2008，**156**(3)：1164-1170.

[16] 东秀珠，蔡少英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京：科学出版社，2001. 353-387.

[17] Gao Y Z，Li Q L，Ling W T，*et al*. Arbuscular mycorrhizal phytoremediation of soils contaminated with phenanthrene and pyrene[J]. Journal of Hazardous Materials，2011，**185**(2-3)：703-709.

[18] 周乐，盛下放. 芘降解菌株的筛选及降解条件的研究[J].

农业环境科学学报, 2006, **25**(6): 1504-1507.
[19] 祝儒刚, 李玉双, 钟鸣, 等. 菲降解细菌 L2 的培养条件研究及菲降解率测定[J]. 安徽农业科学, 2006, **34**(3): 407-408.
[20] Ma Y F, Wang L, Shao Z G. *Pseudomonas*, the dominant polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Antarctic soils and the role of large plasmids in horizontal gene transfer[J]. Environmental Microbiology, 2006, **8**(3): 455-465.
[21] 刘芳, 梁金松, 孙英, 等. 高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(6): 1799-1804.
[22] 李全霞, 范丙全, 龚明波, 等. 降解芘的分枝杆菌 M11 的分离鉴定和降解特性[J]. 环境科学, 2008, **29**(3): 763-768.
[23] 张宏波, 林爱军, 刘爽, 等. 芘高效降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(1): 243-248.
[24] Kästner M, Breuer-Jammali M, Mahro B. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**(1): 359-362.
[25] 贾玉红, 曲媛媛, 周集体, 等. 菲降解菌的特性及其降解酶纯化研究[J]. 环境科学与技术, 2009, **32**(5): 21-25.
[26] 唐玉斌, 马姗姗, 王晓朝, 等. 一株芘的高效降解菌的选育及其降解性能研究[J]. 环境工程学报, 2011, **5**(1): 48-54.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 34 No. 2

Feb. 15, 2013

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in $PM_{2.5}$ and Its Impact on Hazy Weather During 16th Asian Games in Guangzhou ····· TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, *et al.* (409)

$PM_{2.5}$ Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area ····· ZHAO Xiu-juan, PU Wei-wei, MENG Wei, *et al.* (416)

Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China ····· WANG Qian, CHEN Chang-hong, WANG Hong-li, *et al.* (424)

Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou ····· XIE Xiao-fang, SUN Zai, FU Zhi-min, *et al.* (434)

Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters *n*-Alkanes in Baoding City ····· LI Xing-ru, DU Xi-qiang, WANG Ying-feng, *et al.* (441)

Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival ····· ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui (448)

Characteristics of PM_{10} and $PM_{2.5}$ Concentrations in Mountain Background Region of East China ····· SU Bin-bin, LIU Xin-dong, TAO Jun (455)

Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose ····· TIAN Xiu-ying, CAI Qiang, LIU Rui, *et al.* (462)

Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control ····· ZHANG Gang, WANG Ning, AI Jian-chao, *et al.* (468)

Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique ····· XU Lin-bo, GAO Qin-feng, DONG Shuang-lin, *et al.* (476)

Eco-environmental Evolution Inferred from *n*-Alkanes and $\delta^{13}C$ Records in the Sediments of Shijiu Lake ····· OU Jie, WANG Yan-hua, YANG Hao, *et al.* (484)

Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City ····· LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan (494)

Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency ····· ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao (499)

Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China ····· SUN Ran-hao, JI Yu-he, SHANG Lin-yuan, *et al.* (509)

Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River ····· SHI Zhi-qiang, ZHANG Yun-lin, WANG Ming-zhu, *et al.* (517)

Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll-a Retrieval Model in Inland Water Body ····· HUANG Chang-chun, LI Yun-mei, XU Liang-jiang, *et al.* (525)

Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Surface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate ····· QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, *et al.* (532)

Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal Wetland ····· ZHANG Hua-bing, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, *et al.* (540)

Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin ····· ZHOU Liang, XU Jian-gang, SUN Dong-qi, *et al.* (547)

Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River ····· CUI Yu-jie, LIU De-fu, SONG Lin-xu, *et al.* (555)

Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area ····· DONG Wen, LI Huai-en, LI Jia-ke (561)

Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage ····· REN Feng, LU Yi-xia, LIU Qin, *et al.* (570)

Inactivation of *Mycobacteria mucogenicum* in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis ····· ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, *et al.* (576)

Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium ····· LI San-hua, ZHANG Qi-ya (583)

Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on *Skeletonema costatum* Antioxidant Enzyme Activities ····· YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, *et al.* (589)

Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO_2 Photocatalytic Combined Technologies ····· ZHANG Yi, HUANG Ruo-nan, WANG Xiao-min, *et al.* (596)

Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater ····· WANG Yong, LI Wei-guang, YANG Li, *et al.* (604)

Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by *Streptomyces* sp. FX645 ····· XIE Lian-wu, FANG Ji-qian, GUO Ya-ping (611)

Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline ····· YANG Ji-xian, ZENG Hong-yun, ZHOU Yi, *et al.* (616)

Study on the *Chlorella pyrenoidosa* Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization ····· JI Wen-wen, XIA Hui-long, FANG Zhi-guo, *et al.* (622)

Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content ····· CHEN Han-long, YAN Yuan-yuan, HE Qun-biao, *et al.* (629)

Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic Matter ····· YAO Dun-fan, CHEN Tian-hu, WANG Jin, *et al.* (635)

Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products ····· QING Xian, HAN Jing-lei, WEN Yan-shen (642)

Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model ····· ZHONG Mao-sheng, JIANG Lin, YAO Jue-jun, *et al.* (647)

Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution ····· YANG Yan, YU Yun-jiang, WANG Zong-qing, *et al.* (653)

Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application ····· WANG Xiao-hong, WEI Jia-hua, CHENG Zhi-neng, *et al.* (662)

Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain ····· ZHU Ling-yu, PAN Jian-jun, ZHANG Wei (668)

Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization ····· LUO Kun, HU Rong-gui, ZHANG Wen-ju, *et al.* (676)

Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return ····· ZHANG Jing, YU Ling-ling, XIN Shu-zhen, *et al.* (685)

Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations ····· LUO Lu, ZHOU Ping, TONG Cheng-li, *et al.* (692)

Aging Process of Cr(Ⅲ) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis ····· ZHENG Shun-an, ZHENG Xiang-qun, LI Xiao-chen, *et al.* (698)

Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise ····· PAN Feng, WANG Li-li, ZHAO Hao, *et al.* (705)

Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant ····· LIU Fang, WANG Shu-xiao, WU Qing-ru, *et al.* (712)

Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin ····· YAO Dan, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, *et al.* (718)

Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments ····· WU Wei, SHI Jiang-hong, CHEN Qing-cai, *et al.* (724)

Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds ····· YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, *et al.* (732)

Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field ····· WANG Dian-dian, SONG Ning-hui, WU Wen-zhu, *et al.* (740)

Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity ····· NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, *et al.* (746)

Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic *Myroides odoratimimus* Strain Y6 ····· LI Tian, QIAN Kun, XIAO Wei, *et al.* (753)

Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection ····· TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, *et al.* (760)

Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method ····· LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng, *et al.* (767)

Assessment of the Effect of Influent NH_4^+-N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process ····· LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, *et al.* (773)

Biodegradation of Lignocellulose by *Penicillium simplicissimum* and Characters of Lignocellulolytic Enzymes ····· SHEN Ying, HU Tian-jue, ZENG Guang-ming, *et al.* (781)

Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil ····· YANG Meng-qing, LI Li-ming, LI Chuan, *et al.* (789)

Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters ····· WANG Gui-zhen, LI Zhao-jun, ZHANG Shu-qing, *et al.* (795)

Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill ····· LI Rui, LIU Jian-guo, XUE Yu-wei, *et al.* (804)

Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms ····· WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-bin, *et al.* (810)

《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）

2013 年 2 月 15 日　34 卷　第 2 期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

（Monthly　Started in 1976）

Vol. 34　No. 2　Feb. 15, 2013

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：90.00 元　　国外发行代号：M 205

国 内 外 公 开 发 行