

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第3期

Vol.33 No.3

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

典型排放源黑碳的稳定碳同位素组成研究	陈颖军,蔡伟伟,黄国培,李军,张干(673)
天山典型冰川区雪冰中碳质气溶胶浓度特征研究	王圣杰,张明军,王飞腾,李忠勤(679)
兰州市夏秋季颗粒物谱分布特征研究	赵素平,余晔,陈晋北,刘娜,何建军(687)
不同交通状况下道路边大气颗粒物数浓度粒径分布特征	杨柳,吴焯,宋少洁,郝吉明(694)
南京市夏季大气气溶胶新粒子生成事件分析	王红磊,朱彬,沈利娟,康汉青,刁一伟(701)
西北干旱区降水中 $\delta^{18}\text{O}$ 变化特征及其水汽输送	李小飞,张明军,李亚举,王圣杰,黄小燕,马潜,马雪宁(711)
海南东部河口和近岸海域总溶解态无机砷的分布及季节变化	曹秀红,任景玲,张桂玲,张金娥,杜金洲,朱德弟(720)
大辽河口痕量元素砷的河口混合行为	简慧敏,姚庆祯,于立霞,田琳(727)
渤海湾表层沉积物各形态重金属的分布特征与生态风险评价	徐亚岩,宋金明,李学刚,袁华茂,李宁(732)
青岛近岸表层海水中 PAHs 的分布特征及物源初步解析	李先国,邓伟,周晓,唐旭利,魏新运,王岩(741)
广西乐业大石围天坑群多环芳烃的干湿沉降	孔祥胜,祁士华,黄保健,张原,李杰(746)
上海宝山区城市土壤铅污染来源的同位素判别	董辰寅,张卫国,王冠,马鸿磊,刘圆,刘莹,叶雷平,俞立中(754)
溶质迁移模型在地下水有机污染源识别中的应用	王树芳,王丽亚,王晓红,林沛,刘久荣,辛宝东,贺国平(760)
地下水污染风险评价中特征污染物量化方法探讨	王俊杰,何江涛,陆燕,刘丽雅,张小亮(771)
用于地下水回灌的再生水预处理工艺研究	高清端,张薛,赵璇,赵刚(777)
菲律宾蛤仔养殖对胶州湾沉积物-水界面生源要素迁移的影响	邓可,刘素美,张桂玲,陆小兰,张经(782)
南京市九乡河流域景观格局空间分异对河流水质的影响	胡和兵,刘红玉,郝敬峰,安静(794)
上海都市农业村域地表水非点源氮素的时空分异特征	王楠,毛亮,黄海波,张进忠,周培(802)
不同粒径地表街尘中重金属在径流冲刷中的迁移转化	何小艳,赵洪涛,李叙勇,连宾,王小梅(810)
新型人工湿地对工业区降雨径流的净化研究	何丽君,马邕文,王金泉,李东亚,王艳(817)
改性膨润土应急截留液态有机物的性能及机制	李宇,刘贤君,张兴旺,雷乐成(825)
卵圆卡盾藻香港株过氧化氢产生的影响因素研究	江涛,吴霓,钟艳,江天久(832)
芽孢杆菌 B1 胞外活性物质对球形棕囊藻的溶藻特性研究	李蕾,赵玲,尹平河(838)
底泥对洋河水库微囊藻和鱼腥藻生长影响的研究	储昭升,张玉宝,金相灿,徐颖,杨红君(844)
新型无极准分子光源深度处理水相中含 N-杂环化合物	叶招莲,汪斌,路娟娟,李峰,张仁熙(849)
La/Ce 掺杂钛基二氧化铅电极的制备及电催化性能研究	郑辉,戴启洲,王家德,陈建孟(857)
DTT 对三苯基甲染料脱色的研究	潘涛,刘大伟,任随周,郭俊,孙国萍(866)
pH 及络合剂对亚铁活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 氧化去除活性艳蓝的影响研究	张成,王金泉,马邕文,王艳,黄明智,兰明(871)
臭氧降解高浓度腐殖酸动力学	郑可,周少奇,杨梅梅(879)
采用体积信息熵表征颗粒污泥系统稳定性及其稳定机制	李志华,姬晓琴,李胜,谢磊,赵海龙,王晓昌(885)
活性污泥的理化性质与絮凝调理投药量的关系	李婷,王毅力,冯晶,徐萌(889)
不同颗粒龄的好氧颗粒污泥性能的研究	周曼,杨昌柱,濮文虹,罗应东,龚建宇(896)
颗粒粒径与数量对硝化与反硝化过程的影响	李志华,曾金锋,李胜,姬晓琴,王晓昌(903)
氧化沟不同曝气模式对氮磷去除性能的优化与比较	郭昌梓,彭党聪,陈雪梅,王丹(910)
生物沥浸的酸化效应对城市污泥脱水性能的影响	朱海风,周立祥,王电站(916)
2 种不同生物接触氧化工艺性能差异的微生物生态研究	钱殷,全向春,裴元生,马景赞,陶锟(922)
微生物群落对土壤微生物呼吸速率及其温度敏感性的影响	范分良,黄平容,唐勇军,李兆君,梁永超(932)
干旱沙区人工固沙植被演变过程中土壤有机碳氮储量及其分布特征	贾晓红,李新荣,周玉燕,李元寿(938)
密云水库上游流域土壤有机碳和全氮密度影响因素研究	王淑芳,王效科,欧阳志云(946)
外加营养源作用下微生物黏结剂对土壤团聚体的影响	莫艳华,汤佳,张仁铎,李方舟(952)
低分子量腐殖酸改性蒙脱土对黄曲霉素的吸附作用	姚佳佳,康福星,高彦征(958)
液固比对土壤洗涤去除多环芳烃效果的影响	吴威,姜林,陈家军,彭胜(965)
基于 PPI 的土地利用优化研究	武晓峰,李婷(971)
若尔盖高原湿地藻类多样性研究	陈曦,刘如钢,王艳芬,张洪勋(979)
3 种杀真菌剂对 AM 真菌侵染和黄芩生长的影响	贺学礼,王平,马丽,孟静静(987)
崇明东滩夏季沉积物厌氧氨氧化菌群落结构与空间分布特征	郑艳玲,侯立军,陆敏,谢冰,刘敏,李勇,赵慧(992)
厌氧条件下 2,2',4,4'-四溴联苯醚的微生物降解	卢晓霞,陈超琪,张姝,欧阳,尹力,吴蔚(1000)
重金属对白腐菌降解十溴联苯醚的影响	熊士昌,尹华,彭辉,何宝燕,龙焰,叶锦韶,张娜,彭素芬(1008)
有机农药滴滴涕和毒死蜱生物降解机制的分子模拟研究	林玉珍,曾光明,张斌,陈明,蒋敏,张嘉超,鲁伦慧,刘利锋(1015)
高效木薯渣分解复合菌群 RXS 的构建及其发酵特性研究	何江,毛忠贵,张庆华,张建华,唐蕾,张宏建(1020)
四环素类抗生素污染畜禽粪便的厌氧消化特征	童子林,刘元璐,胡真虎,袁守军(1028)
上推流厌氧反应器连续干发酵猪粪产沼气试验研究	陈闯,邓良伟,信欣,郑丹,刘刈,孔垂雪(1033)
《环境科学》征稿简则(878) 《环境科学》征订启事(1007) 信息(759, 770, 870, 1027)	

芽孢杆菌 B1 胞外活性物质对球形棕囊藻的溶藻特性研究

李蕾¹, 赵玲^{2*}, 尹平河¹

(1. 暨南大学生命科学技术学院化学系, 广州 510632; 2. 暨南大学理工学院环境工程系, 广州 510632)

摘要: 从珠海香洲码头赤潮海水中分离获得 1 株对球形棕囊藻有显著溶藻效果的芽孢杆菌 B1, 研究了 B1 对棕囊藻的溶藻作用方式, 溶藻过程中藻细胞结构变化, 并采用透析、乙醇沉淀、有机溶剂萃取、酸碱及热稳定性分析等方法探讨了溶藻活性物质的性质. 结果表明, B1 无菌滤液对棕囊藻有较强的溶藻效应, 除藻率达 94.9%, B1 通过分泌活性物质间接对球形棕囊藻的生长产生抑制; 藻培养液中加入 B1 无菌滤液 16 h 后, 藻细胞发生团聚, 细胞壁失去完整性, 56 h 后藻细胞破碎, 胞内物质溶出; 相对分子质量 < 3 500 的分泌物是溶藻过程中起主要作用的活性物质, 具有较强极性和热稳定性, 在 121℃ 加热 20 min 后, 仍然有良好的溶藻能力, 除藻率达 92.6%, 活性物质在 pH 9.0 左右溶藻能力较强, 在乙醇中不发生沉淀反应, 由此推测该活性物质为含有酸性或碱性基团的非生物活性分子, 不属于蛋白质、核酸、多糖等物质.

关键词: 芽孢杆菌; 溶藻细菌; 球形棕囊藻; 胞外活性物质; 溶藻特性

中图分类号: X172; X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)03-0838-06

Characteristics Study of Extracellular Active Substance of *Bacillus* sp. B1 on *Phaeocystis globosa*

LI Qiang¹, ZHAO Ling², YIN Ping-he¹

(1. Department of Chemistry, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Department of Environmental Engineering, College of Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The algicidal bacterium named B1 which was identified as *Bacillus* sp. was isolated from red tide water in Xiangzhou shipside of Zhuhai. The algicidal mode of algae-lysis bacterium B1 and the microstructure of algal cells in the algae-lysing process were studied. In order to explore the properties of extracellular algicidal substances, the sterile condensed bacteria-free filtrate was dialysed, sedimentated by ethanol, extracted by organic solvents and exposed in different heat and pH variations. The results showed that the sterile condensed bacteria-free filtrate could effectively dissolve *Phaeocystis globosa* (*P. globosa*), the removal rate was 94.9%, B1 excreted algae-lysing substances to inhibit the growth of algae indirectly. Algicidal process under the visual field of microscope demonstrated that the alga cell rounded and the cell wall lost integrity after 16 h, the algae cell lysed and cellular substances released after 56 h. The molecular weight of the extracellular algae-lysing components of B1 are less than 3 500, the algicidal substances have strong polarity and heat-tolerant, which still had a strong algae-lysing effect after being treated at 121℃, and the removal rate was 92.6%. The algae-lysing ability was stronger while the pH value was kept at 9.0, ethanol can separate extracellular algae-lysing components from other components efficiently. The algae-lysing components may be non-bioactive molecules which contain acidic or alkaline groups, and may not be protein, nuclear acid and polysaccharides.

Key words: *Bacillus* sp.; algae-lysis bacterium; *Phaeocystis globosa*; extracellular active substance; algae-lysing characteristic

有害赤潮是全球性的海洋灾害,造成的环境和经济问题日益严重. 棕囊藻是当前我国沿海尤其是广东近海海域赤潮的高发藻种,棕囊藻的频繁暴发给当地水产养殖业和生态系统安全带来严重威胁^[1,2],寻求有效的棕囊藻赤潮防治方法成为亟待解决的问题. 在赤潮发生后期,藻细胞消亡,海水获得净化,细菌在水体自净过程中起了决定性的作用^[3,4],研究水生生态系统中细菌和藻的相互作用机制,对藻类的生物控制和生态学研究具有重要的意义^[5,6]. 溶藻细菌指是能够分解和抑制藻细胞的细菌,可以直接分解藻细胞^[7,8],也能够通过分

泌活性物质间接对宿主藻类起抑制或杀灭作用^[9~12]. 近年来,国内外对溶藻细菌的研究报道较多地探讨了藻菌的相互作用和胞外分泌物对藻细胞的作用^[13~15],但对于胞外分泌物的性质、溶藻过程中藻细胞的形态变化和溶藻作用机制缺乏深入探讨. 溶藻细菌对有害藻的研究主要集中在淡水水华藻方面^[16~18],而对赤潮藻,尤其是棕囊藻的研究鲜

收稿日期: 2011-04-22; 修订日期: 2011-08-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(41076068); NFSC-广东联合基金重点项目(U1133003)

作者简介: 李蕾(1986~),女,硕士研究生,主要研究方向为海洋环境化学, E-mail: lq-dm@163.com

* 通讯联系人, E-mail: tyinph@jnu.edu.cn

见报道. 介质不同, 藻种不同, 溶藻细菌的种类和作用机制也就不同. 因此开展溶藻细菌治理球型棕囊藻的研究具有重要的科学价值.

本研究以球形棕囊藻为目标藻种, 从珠海香洲码头赤潮海水中分离出 1 株对棕囊藻有显著溶藻作用的细菌 B1, 探讨了溶藻细菌 B1 对球形棕囊藻的溶藻方式, 溶藻过程中藻细胞形态变化, 胞外活性物质的基本化学性质和作用, 以期研制高效的生物化学除藻剂提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 溶藻细菌

从珠海香洲码头赤潮发生海水中采集水体, 经过分离、纯化和筛选得到溶藻细菌 B1, 经上海生物工程有限公司鉴定为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.), PCR 扩增产物的长度为 1 542 bp, 序列在 GenBank 中的菌株编号为 Bankit 1465471, 登录号为 JN228893. 细菌的培养采用 2216E 液体培养基, 于 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 30°C 的恒温摇床中培养.

1.2 藻种

供试藻种为球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*), 来源于暨南大学赤潮与水环境研究中心藻种室. 藻类培养液选用 F/2 改良配方 (Guillard), 培养温度 (20 ± 1) $^\circ\text{C}$, 光照强度为 4 000 lx, 光暗比为 12 h: 12 h.

1.3 溶藻实验

培养 B1 细菌至对数生长期 (此时细菌密度为 $10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$), 分别取 1.0 mL B1 菌液、B1 菌体 (B1 菌液经 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 4°C 离心 15 min, 弃去上清液, 用无菌水反复洗涤菌体多次后用无菌水定容, 使菌体重新悬浮) 和 B1 无菌滤液 (B1 菌液经 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 4°C 离心 15 min, 取上清液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 再用 2216E 固体平板进行无菌检验) 加入 100 mL 指数生长中期的球形棕囊藻中, 对照组添加 1.0 mL 2216E 培养基以消除细菌培养基对藻生长的影响, 实验组和对照组分别设 3 个平行实验 (下同), 4 d 后测定藻的叶绿素 a 含量^[19], 并以叶绿素 a 为藻生物量指标计算除藻率.

1.4 溶藻过程藻细胞结构观察

培养 B1 细菌至对数生长期, B1 菌液经 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 4°C 离心 15 min 后, 取上清液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 取 1.0 mL 滤液加入 100 mL 指数生长中期球形棕囊藻藻液中, 每隔 8 h 取样, 用 Olympus BX61 显微镜观察藻细胞结构变化.

1.5 溶藻活性物质的分离和特性鉴定

1.5.1 B1 无菌滤液的制备

取 50 mL 细菌种子液加入到 450 mL 2216E 培养基中, 于 30°C 恒温, $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养 4 d 后, 以 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液, 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤后即获得 B1 无菌滤液.

1.5.2 活性物质相对分子质量大小判定

将 500 mL B1 无菌滤液经 65°C 旋转蒸发至 50 mL, 分别取 10 mL 装入相对分子质量 3 500 和 8 000 的透析袋中, 将透析袋放入盛有 300 mL 蒸馏水的 1 000 mL 塑料杯中. 以 30°C , $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速在恒温振荡器中振荡透析 48 h. 透析期间每隔 12 h 更换 1 次蒸馏水. 透析完成后, 收集袋内透析样并用无菌水定容至 10 mL, 将此透析样经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤后按体积比 1:100 接入 100 mL 指数生长中期的棕囊藻藻液中, 4 d 后测定叶绿素 a 含量.

1.5.3 活性物质乙醇沉淀分析

取 50 mL B1 无菌滤液加入 150 mL 无水乙醇, 常温下静置 10 min, 以 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分别收集上清液和沉淀. 将收集的上清液经 65°C 真空旋转蒸发浓缩至 50 mL 后, 再次加入 150 mL 无水乙醇, 常温下静置 10 min, 以 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液和沉淀, 将上述步骤再重复一次. 将收集的上清液经 65°C 真空旋转蒸发至干后, 用无菌水溶解残留固体并定容至 50 mL, 此部分为乙醇沉淀后获得的上清液部分, 将收集的沉淀用少量无菌水溶解并定容至 50 mL, 此部分为乙醇沉淀获得的沉淀部分. 将上清液组、沉淀组、B1 无菌滤液过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后按体积比 1:100 接入 100 mL 指数生长中期的棕囊藻藻液中, 4 d 后测定叶绿素 a 含量.

1.5.4 活性物质极性分析

取 3 份 50 mL 的 B1 无菌滤液, 每份分别用 100 mL 正戊烷、甲苯、乙酸乙酯萃取 3 次, 每次 24 h, 收集水相和有机相. 水相经旋转蒸发仪 65°C 真空蒸发掉残留的有机溶剂. 有机相经 65°C 真空蒸发至干后, 用少量无菌水溶解残留固体, 定容至 50 mL, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后按体积比 1:100 接入 100 mL 指数生长中期的棕囊藻藻液中, 4 d 后测定叶绿素 a 含量.

1.5.5 活性物质热稳定性分析

B1 无菌滤液分别在 50 、 70 和 90°C 水浴 20 min 以及在高压灭菌锅中 121°C 高温处理 20 min, 冷却至室温, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后按体积比 1:100 接入

100 mL 指数生长中期的棕囊藻藻液中, 4 d 后测定叶绿素 a 含量。

1.5.6 活性物质 pH 稳定性分析

B1 无菌滤液用氢氧化钠 ($1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和盐酸 (体积比 1:9) 溶液分别调至 pH 值为 2.0、4.0、6.0、9.0、10.0、12.0, 1 h 后调回原 pH(7.8), 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后按体积比 1:100 接入 100 mL 指数生长中期球形棕囊藻藻液中, 4 d 后测定叶绿素 a 含量。

1.6 实验数据统计分析

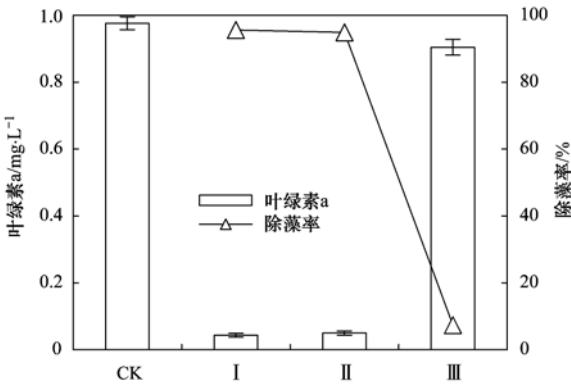
采用 SPSS 17.0 软件对实验结果进行样本显著性分析, $P < 0.05$ 表明差异显著, $P < 0.01$ 表明差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 细菌 B1 的溶藻方式

B1 菌液经离心和过滤后得到菌体和含有胞外分泌物的无菌滤液, 实验对比菌体、无菌滤液和分离前菌液的溶藻效果, 结果见图 1。由图 1 可知, 培养 4 d 后, 对照组藻液的叶绿素 a 含量为 $0.98\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 加入菌液的藻液叶绿素 a 为 $0.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 加入无菌滤液的藻液叶绿素 a 含量降为 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 与对照组相比, 加入菌液的叶绿素 a 含量由 $0.98\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降为 $0.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 除藻率达 95.6%, 相同情况下, 无菌滤液的除藻率为 94.9%, 两者的除藻率相差不大, 与对照组相比, 差异均极显著 ($n=3, P < 0.01$), 表明 B1 分泌的胞外溶藻物质具有强的溶藻作用, 由此判断, B1 主要是通过分泌胞外溶藻物质进行间接溶藻。菌体的除藻率为 7.3%, 溶藻效果不显

著。Kim 等^[20] 研究发现芽孢杆菌 AB-4 分泌物对海洋卡盾藻有溶藻作用, 晋利等^[21] 报道芽孢杆菌 J1 能够通过分泌胞外活性物质间接溶解铜绿微囊藻, 这与本研究结果相似。



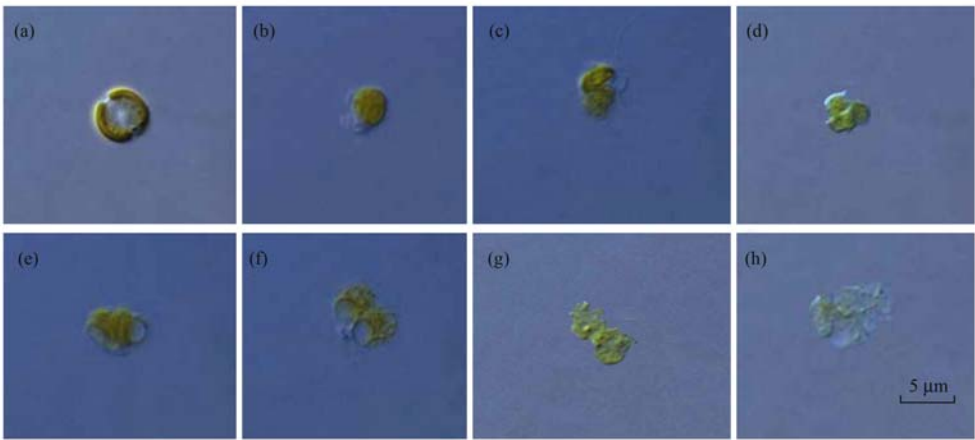
CK. 对照组; I. B1 菌液; II. B1 无菌滤液; III. 菌体

图 1 溶藻细菌 B1 的溶藻作用方式

Fig. 1 Algicidal mode of algae-lysis bacteria B1

2.2 溶藻过程中球形棕囊藻形态变化

将 B1 无菌滤液投加到藻液中培养, 在显微镜下观察藻的形态变化, 结果见图 2。由图 2(a) 可以看出, 正常的球形棕囊藻细胞呈圆球形, 色素体为清晰的圆盘状, 共同培养 8 h 后, 藻细胞色素体分解, 色素均匀分布在细胞质中, 细胞壁开始分解, 细胞外边缘有溶出物[图 2(b)], 16~32 h 藻体细胞壁进一步分解, 细胞壁和细胞膜破裂, 藻细胞开始溶解, 细胞质内含物和色素物质大量向外溢出[图 2(c)~2(e)], 40 h 后细胞破碎成胞内物质流出后的骨架[图 2(f)], 细胞由深绿色变为黄绿色。随着时间的



a. 正常的藻细胞; b. 处理 8 h 后的藻细胞; c. 处理 16 h 后的藻细胞; d. 处理 24 h 后的藻细胞; e. 处理 32 h 后的藻细胞; f. 处理 40 h 后的藻细胞; g. 处理 48 h 后的藻细胞; h. 处理 56 h 后的藻细胞

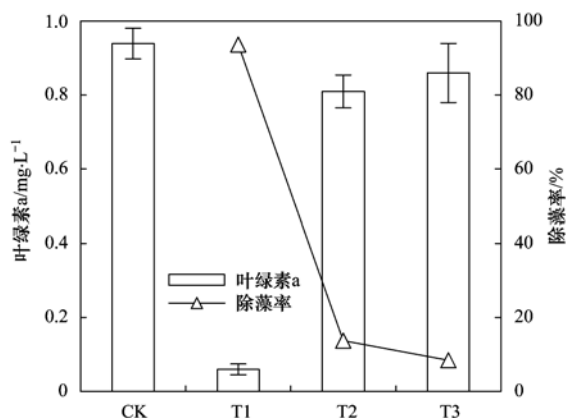
图 2 溶藻过程中球形棕囊藻细胞的显微结构 (10 × 100)

Fig. 2 Microstructure of *Phaeocystis globosa* in the lysing process (10 × 100)

推移,细胞质和色素进一步分解,56 h 时残留物质中的色素基本消失[图 2(h)].由以上实验结果初步推测,球形棕囊藻单体细胞的死亡过程:细胞膜破裂→细胞质溢出→色素分解. B1 细菌分泌的胞外物质对细胞壁产生侵蚀,造成漏洞,进一步对细胞质消融,破坏细胞质结构,然后进一步漂白和氧化细胞,最后变成半透明空壳.漂白是化学作用的重要特征.由此判断,胞外物质的溶藻是化学作用.

2.3 活性物质相对分子质量大小判定

采用透析的方法判断溶藻活性物质相对分子质量的大小,结果见图 3.从中可知,对照组藻液叶绿素 a 含量为 $0.94 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,投入 B1 无菌滤液的藻液叶绿素 a 含量为 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,除藻率达 93.6%,无菌滤液经截留相对分子质量分别为 3 500 和 8 000 的透析袋透析后,除藻率分别为 13.8% 和 8.4%.由此可知,细菌滤液中起关键溶藻作用的活性物质相对分子质量 $< 3\,500$.



CK. 对照组; T1. B1 无菌滤液; T2. 3 500 透析袋内透析样; T3. 8 000 透析袋内透析样

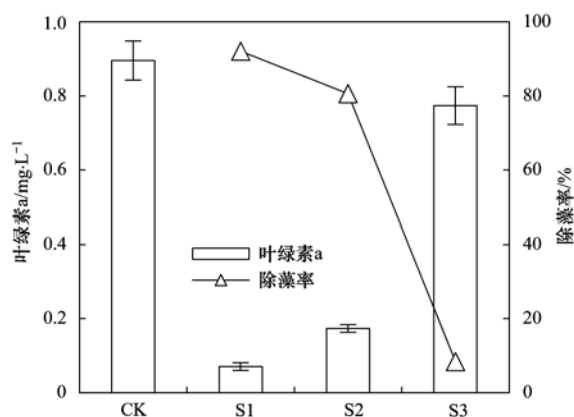
图 3 透析组分对球形棕囊藻的溶藻效果

Fig. 3 Algae-lysing effect of dialyse components to *P. globosa*

2.4 活性物质乙醇沉淀分析

B1 无菌滤液经乙醇沉淀后,有褐色与白色沉淀析出,将上清液组和沉淀组投入藻液中进行溶藻实验,结果见图 4.从中可知,培养 4 d 后,对照组藻液叶绿素 a 含量为 $0.90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,与对照相比,加入未经处理的无菌滤液的藻液叶绿素 a 含量为 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,除藻率为 92.1%,沉淀组的藻液叶绿素 a 含量为 $0.77 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,除藻率仅为 8.4%.乙醇能使蛋白质、核酸、多糖、氨基酸等成分凝聚沉淀,由此判断,起溶藻作用的主要分泌物不是上述物质.上清液组除藻率为 80.6%,上清液组的除藻能力低于未经处理的无菌滤液,可能原因是:乙醇沉淀具有选择

性,一定浓度的乙醇只沉淀分离某一种或某一类组分,而溶藻物质可能是由多种物质组成,不能被乙醇所分离.



CK. 对照组; S1. B1 无菌滤液; S2. 乙醇沉淀后的上清液组; S3. 乙醇沉淀后的沉淀组

图 4 乙醇沉淀组分对球形棕囊藻的溶藻效果

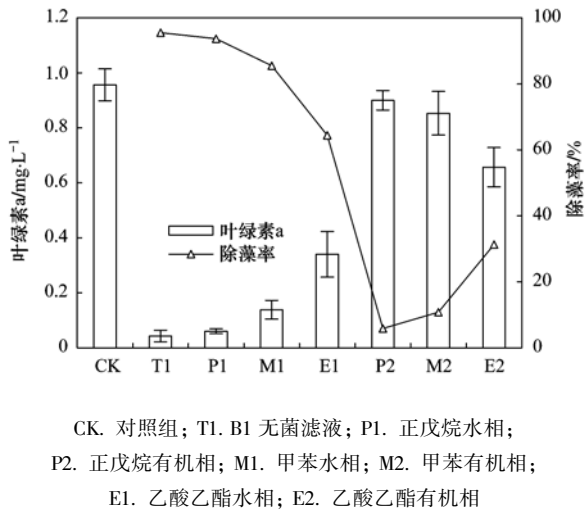
Fig. 4 Algae-lysing effect of the components by ethanol precipitation to *P. globosa*

2.5 活性物质极性判定

实验选取正戊烷、甲苯、乙酸乙酯这 3 种极性不同的有机溶剂来判断溶藻活性物质的极性(有机溶剂的极性为:正戊烷 $<$ 甲苯 $<$ 乙酸乙酯),其中正戊烷为非极性溶剂,乙酸乙酯为中等极性的溶剂. B1 无菌滤液经正戊烷、甲苯和乙酸乙酯萃取后有机相和水相的溶藻能力大小见图 5.从中可知,经正戊烷、甲苯萃取后有机相的藻液叶绿素 a 含量分别为 $0.90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,除藻率分别为 5.9% 和 10.8%,2 种有机溶剂萃取到的脂溶性成分几乎没有溶藻活性;而两者水相的除藻率分别为 93.7% 和 85.5%,与对照组相比差异显著 ($n = 3, P < 0.05$),两水相均提取到溶藻活性物质;加入乙酸乙酯水相的除藻率为 64.4%,表明乙酸乙酯能萃取到少量的溶藻活性物质,对藻生长有一定抑制,但抑制作用不强,据此判断活性物质为强亲水性物质.对比图 2,这种活性物质的相对分子质量较小,亲水性强,能够穿透藻细胞壁,进入细胞内部,对胞内物质造成破坏,从而导致细胞溶解.

2.6 活性物质热稳定性分析

温度对 B1 无菌滤液溶藻活性的影响见图 6.从中可知,加入未经热处理的 B1 无菌滤液(室温 25°C)培养 4 d 后,除藻率为 94.2%;无菌滤液分别被加热到 50、70、90 和 121°C (高压灭菌)后,除藻率分别为 92.3%、91.2%、88.6% 和 92.6%,各温



CK. 对照组; T1. B1 无菌滤液; P1. 正戊烷水相; P2. 正戊烷有机相; M1. 甲苯水相; M2. 甲苯有机相; E1. 乙酸乙酯水相; E2. 乙酸乙酯有机相

图5 有机溶剂萃取后各组对棕囊藻的溶藻效果

Fig. 5 Algae-lysing effect of the components extracted by organic solvents to *P. globosa*

度下藻液叶绿素 a 含量与对照组没有呈现显著差异,表明活性物质热稳定性较好,尤其是经过 121℃ (高压灭菌)后,除藻效果没有受到影响,表明活性物质是化学物质,并非温度敏感的生物活性分子,也进一步证明溶藻作用是化学过程,与 2.2 节的结果一致. 这一特性与 Mu 等^[22]的研究相似,他们发现 1 株纺锤芽孢杆菌的代谢产物在 121℃ 下仍能保持较强的活性. 汪辉等^[23]也发现海洋溶藻细菌 JZ-1 分泌的溶藻物质有抗高温性能.

2.7 活性物质 pH 稳定性分析

pH 值对 B1 无菌滤液溶藻活性的影响见图 7. 从图 7 中除藻率曲线可知,原细菌滤液 (pH 为 7.8) 的除藻率为 91.4%, pH 为 9.0 时除藻率达到最高,为 92.8%. 随着酸度增大,溶藻能力逐渐降低,在 pH 为 6.0、4.0、2.0 条件下除藻率分别为 81.0%、73.4% 和 60.6%. pH 增大也出现类似的情况,在 pH 为 10.0、12.0 条件下除藻率分别为 73.6%、56.6%. 由此可见,溶藻活性物质在 pH 为 6.0~9.0 时均可保持较强的溶藻能力,除藻率均在 80% 以上,在 pH 为 9.0 时达到最高,这与活性物质的结构有关,活性物质的分子中可能含有酸性或碱性基团. 酸性或碱性基团可以增强分子的亲水性,与 2.5 节中活性物质为强亲水性物质的结论一致. Su 等^[24]的研究也指出,假单胞杆菌 SP48 所产生的溶藻活性物质在酸性条件下活性不稳定. Lee 等^[25]则发现 1 株假交替单胞菌 A28 的无菌滤液溶藻的最适 pH 为 8.8.

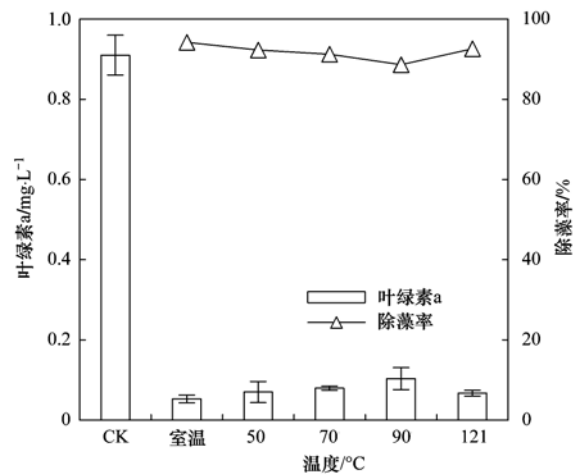


图6 溶藻活性物质的热稳定性

Fig. 6 Stability of extracellular active substance at different temperatures

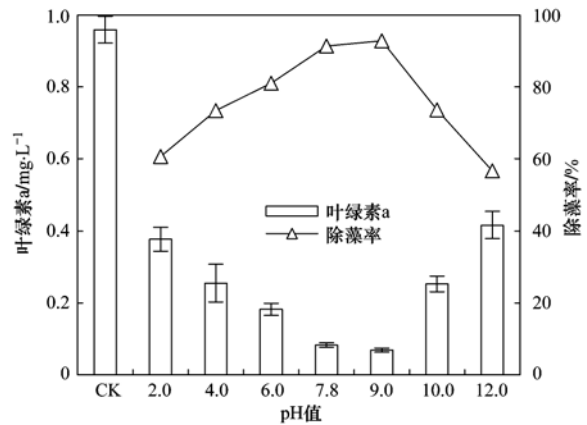


图7 溶藻活性物质的 pH 稳定性

Fig. 7 Stability of extracellular active substance at different pH

3 结论

(1) 芽孢杆菌 B1 通过分泌胞外活性物质间接对球形棕囊藻生长产生抑制, B1 无菌滤液能在短时间内破坏藻细胞膜系统的完整性,使细胞内含物质溶出,进而使整个藻细胞溶解.

(2) 溶藻活性物质的相对分子质量 < 3 500, 能用乙醇沉淀法进行初步分离. 3 种有机溶剂 (正戊烷、甲苯、乙酸乙酯) 中只有乙酸乙酯可以萃取到少量的活性物质,活性物质具有较好的亲水性.

(3) 溶藻活性物质在 25~121℃ 范围内保持较高的溶藻能力,温度适应性强. 在 pH 为 6.0~9.0 范围内时活性物质的除藻率均在 80% 以上,其中 pH 为 9.0 条件下溶藻能力最强,增加或降低 pH,溶

藻能力均下降,活性物质可能为含有酸性或碱性基团的非生物活性分子。

参考文献:

- [1] Blauw A N, Los F J, Huisman J, *et al.* Nuisance foam events and *Phaeocystis globosa* blooms in Dutch coastal waters analyzed with fuzzy logic[J]. *Journal of Marine Systems*, 2010, **83**(3-4): 115-126.
- [2] 王梅,尹平河,赵玲,等. 二氯异氰尿酸钠和三氯异氰尿酸对棕囊藻细胞去除的研究[J]. *环境科学*, 2006, **27**(5): 956-959.
- [3] 赵以军,刘永定. 有害藻类及其微生物防治的基础——藻菌关系的研究动态[J]. *水生生物学报*, 1996, **20**(2): 173-181.
- [4] 吴刚,席宇,赵以军. 溶藻细菌研究的最新进展[J]. *环境科学研究*, 2002, **15**(5): 43-46.
- [5] Imai I, Sunahara T, Nishikawa T, *et al.* Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and the algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea, Japan [J]. *Marine Biology*, 2001, **138**(5): 1043-1049.
- [6] Jeong H, Yim J H, Lee C, *et al.* Genomic blueprint of *Hahella chejuensis*, a marine microbe producing an algicidal agent[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, **33**(22): 7066-7073.
- [7] Jung S W, Kim B H, Katano T, *et al.* *Pseudomonas fluorescens* HYK0210-SK09 offers species-specific biological control of winter algal blooms caused by freshwater diatom *Stephanodiscus hantzschii*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, **105**(1): 186-195.
- [8] 晏荣军,尹平河,裴俊红. 2 株球形棕囊藻溶藻细菌的分离及鉴定[J]. *环境科学*, 2011, **32**(1): 225-230.
- [9] Wang B X, Zhou Y Y, Bai S J, *et al.* A novel marine bacterium algicidal to the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, **51**(5): 552-557.
- [10] 李燕,潘伟斌,杨丽丽. 三株溶藻细菌胞外溶藻活性物质若干分离特性的研究[J]. *微生物学通报*, 2008, **35**(2): 171-177.
- [11] Kodani S, Imoto A, Mitsutani A, *et al.* Isolation and identification of the antialgal compound, harmaline (1-methyl- β -carboline), produced by the algicidal bacterium, *Pseudomonas* sp. K44-1[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2002, **14**(2): 109-114.
- [12] Kim M J, Jeong S Y, Lee S J. Isolation, identification, and algicidal activity of marine bacteria against *Cochlodinium polykrikoides*[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, **20**(6): 1069-1078.
- [13] Imamura N, Motoike I, Shimada N, *et al.* An efficient screening approach for anti-microcystis compounds based on knowledge of aquatic microbial ecosystem[J]. *Journal of Antibiotics*, 2001, **54**(7): 582-587.
- [14] Kang Y K, Cho S Y, Kang Y H, *et al.* Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria against *Stephanodiscus hantzschii* and *Peridinium bipes* for the control of freshwater winter algal blooms[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, **20**(4): 375-386.
- [15] Zhang H, Yu Z L, Huang Q, *et al.* Isolation, identification and characterization of phytoplankton-lytic bacterium CH-22 against *Microcystis aeruginosa*[J]. *Limnologia-Ecology and Management of Inland Waters*, 2011, **41**(1): 70-77.
- [16] Singh D P, Tyagi M B, Kumar A, *et al.* Antialgal activity of a hepatotoxin-producing cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2001, **17**(1): 15-22.
- [17] 张涵之,潘伟斌,马超. 溶藻细菌 L7 溶藻活性代谢产物的分离鉴定[J]. *中国环境科学*, 2010, **30**(Suppl. 1): 19-23.
- [18] 马宏瑞,章欣,王晓蓉,等. 芽孢杆菌 Z5 溶铜绿微囊藻特性研究[J]. *中国环境科学*, 2011, **31**(5): 828-833.
- [19] Stein J R. Handbook of phycological methods-culture methods and growth measurements [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1973. 365.
- [20] Kim Y S, Lee D S, Jeong S Y, *et al.* Isolation and characterization of a marine algicidal bacterium against the harmful raphidophyceae *Chattonella marina* [J]. *Journal of Microbiology*, 2009, **47**(1): 9-18.
- [21] 晋利,刘兆普,赵耕毛,等. 一株溶藻细菌对铜绿微囊藻生长的影响及其鉴定[J]. *中国环境科学*, 2010, **30**(2): 222-227.
- [22] Mu R M, Fan Z Q, Pei H Y, *et al.* Isolation and algae-lysing characteristics of the algicidal bacterium B5 [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, **19**(11): 1336-1340.
- [23] 汪辉,刘玲,牛丹丹,等. 一株海洋细菌对中肋骨条藻的溶解效应及其溶藻特性[J]. *中国环境科学*, 2011, **31**(6): 971-977.
- [24] Su J Q, Yang X R, Zheng T L, *et al.* Isolation and characterization of a marine algicidal bacterium against the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*[J]. *Harmful Algae*, 2007, **6**(6): 799-810.
- [25] Lee S, Kato J, Takiguchi N, *et al.* Involvement of an extracellular protease in algicidal activity of the marine Bacterium *Pseudoalteromonas* sp. Strain A28 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(10): 4334-4339.

CONTENTS

Stable Carbon Isotope of Black Carbon from Typical Emission Sources in China	CHEN Ying-jun, CAI Wei-wei, HUANG Guo-pei, <i>et al.</i> (673)
Characteristics of Carbonaceous Aerosol Concentration in Snow and Ice of Glaciers in Tianshan Mountains	WANG Sheng-jie, ZHANG Ming-jun, WANG Fei-teng, <i>et al.</i> (679)
Size Distribution Properties of Atmospheric Aerosol Particles During Summer and Autumn in Lanzhou	ZHAO Su-ping, YU Ye, CHEN Jin-bei, <i>et al.</i> (687)
Particle Number Size Distribution near a Major Road with Different Traffic Conditions	YANG Liu, WU Ye, SONG Shao-jie, <i>et al.</i> (694)
Atmospheric Particle Formation Events in Nanjing During Summer 2010	WANG Hong-lei, ZHU Bin, SHEN Li-juan, <i>et al.</i> (701)
Characteristics of $\delta^{18}\text{O}$ in Precipitation and Moisture Transports over the Arid Region in Northwest China	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, LI Ya-ju, <i>et al.</i> (711)
Distributions and Seasonal Variations of Total Dissolved Inorganic Arsenic in the Estuaries and Coastal Area of Eastern Hainan	CAO Xiu-hong, REN Jing-ling, ZHANG Gui-ling, <i>et al.</i> (720)
Mixing Behavior of Arsenic in the Daliaohe Estuary	JIAN Hui-min, YAO Qing-zheng, YU Li-xia, <i>et al.</i> (727)
Variation Characteristics and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of Bohai Bay	XU Ya-yan, SONG Jin-ming, LI Xue-gang, <i>et al.</i> (732)
Distribution of PAHs in Surface Seawater of Qingdao Coast Area and Their Preliminary Apportionment	LI Xian-guo, DENG Wei, ZHOU Xiao, <i>et al.</i> (741)
Atmospheric Deposition of PAHs in Dashiwei Karst Tiankeng Group in Leye, Guangxi	KONG Xiang-sheng, QI Shi-hua, HUANG Bao-jian, <i>et al.</i> (746)
Lead Isotope Signatures and Source Identification in Urban Soil of Baoshan District, Shanghai	DONG Chen-yin, ZHANG Wei-guo, WANG Guan, <i>et al.</i> (754)
Solute Transport Modeling Application in Groundwater Organic Contaminant Source Identification	WANG Shu-fang, WANG Li-ya, WANG Xiao-hong, <i>et al.</i> (760)
Quantitative Method of Representative Contaminants in Groundwater Pollution Risk Assessment	WANG Jun-jie, HE Jiang-tao, LU Yan, <i>et al.</i> (771)
Study on the Advanced Pre-treatments of Reclaimed Water Used for Groundwater Recharge	GAO Yu-tuan, ZHANG Xue, ZHAO Xuan, <i>et al.</i> (777)
Influence of <i>Ruditapes philippinarum</i> Aquaculture on Benthic Fluxes of Biogenic Elements in Jiaozhou Bay	DENG Ke, LIU Su-mei, ZHANG Gui-ling, <i>et al.</i> (782)
Influence of Spatial Difference on Water Quality in Jiuxiang River Watershed, Nanjing	HU He-bing, LIU Hong-yu, HAO Jing-feng, <i>et al.</i> (794)
Temporal and Spatial Variation of Non-Point Source Nitrogen in Surface Water in Urban Agricultural Region of Shanghai	WANG Nan, MAO Liang, HUANG Hai-bo, <i>et al.</i> (802)
Migration and Transformation of Heavy Metals in Street Dusts with Different Particle Sizes During Urban Runoff	HE Xiao-yan, ZHAO Hong-tao, LI Xu-yong, <i>et al.</i> (810)
Treatment Studies of Industrial Rainoff With a New Type of Constructed Wetland	HE Li-jun, MA Yong-wen, WAN Jin-quan, <i>et al.</i> (817)
Emergent Retention of Organic Liquid by Modified Bentonites: Property and Mechanism	LI Yu, LIU Xian-jun, ZHANG Xing-wang, <i>et al.</i> (825)
Production of Peroxide Hydrogen in <i>Chattonella ovata</i> Hong Kong Strain	JIANG Tao, WU Ni, ZHONG Yan, <i>et al.</i> (832)
Characteristics Study of Extracellular Active Substance of <i>Bacillus</i> sp. B1 on <i>Phaeocystis globosa</i>	LI Qiang, ZHAO Ling, YIN Ping-he (838)
Effects of Sediment on the Growth of <i>Microcystis</i> and <i>Anabaena</i> in Yanghe Reservoir	CHU Zhao-sheng, ZHANG Yu-bao, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (844)
New-Type Electroless Excilamp for Advanced Treatment on Nitrogen-Heterocyclic Compounds (NHCs) in Aqueous Solution	YE Zhao-lian, WANG Bin, LU Juan-juan, <i>et al.</i> (849)
Preparation and Electro-catalytic Characterization on La/Ce Doped Ti-base Lead Dioxide Electrodes	ZHENG Hui, DAI Qi-zhou, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (857)
Study on Decolorization of Triphenylmethane Dyes by DTT	PAN Tao, LIU Da-wei, REN Sui-zhou, <i>et al.</i> (866)
Influences of pH and Complexing Agents on Degradation of Reactive Brilliant Blue KN-R by Ferrous Activated Persulfate	ZHANG Cheng, WAN Jin-quan, MA Yong-wen, <i>et al.</i> (871)
Degradation Kinetics of Ozone Oxidation on High Concentration of Humic Substances	ZHENG Ke, ZHOU Shao-qi, YANG Mei-mei (879)
Index of Stability and Its Mechanisms of Aerobic Granular System Using Volume-based Information Entropy	LI Zhi-hua, JI Xiao-qin, LI Sheng, <i>et al.</i> (885)
Relationship Between Physicochemical Characteristics of Activated Sludge and Polymer Conditioning Dosage	LI Ting, WANG Yi-li, FENG Jing, <i>et al.</i> (889)
Research of Aerobic Granule Characteristics with Different Granule Age	ZHOU Man, YANG Chang-zhu, PU Wen-hong, <i>et al.</i> (896)
Effect of Size and Number of Aerobic Granules on Nitrification and Denitrification	LI Zhi-hua, ZENG Jin-feng, LI Sheng, <i>et al.</i> (903)
Optimization and Comparison of Nitrogen and Phosphorus Removal by Different Aeration Modes in Oxidation Ditch	GUO Chang-zi, PENG Dang-cong, CHENG Xue-mei, <i>et al.</i> (910)
Effect of Acidification on the Dewaterability of Sewage Sludge in Bioleaching	ZHU Hai-feng, ZHOU Li-xiang, WANG Dian-zhan (916)
Microbial Ecology Analysis of the Biofilm from Two Biological Contact Oxidation Processes with Different Performance	QIAN Yin, QUAN Xiang-chun, PEI Yuan-sheng, <i>et al.</i> (922)
Altered Microbial Communities Change Soil Respiration Rates and Their Temperature Sensitivity	FAN Fen-liang, HUANG Ping-rong, TANG Yong-jun, <i>et al.</i> (932)
Storages and Distributed Patterns of Soil Organic Carbon and Total Nitrogen During the Succession of Artificial Sand-Binding Vegetation in Arid Desert Ecosystem	JIA Xiao-hong, LI Xin-rong, ZHOU Yu-yan, <i>et al.</i> (938)
Factors Controlling Soil Organic Carbon and Total Nitrogen Densities in the Upstream Watershed of Miyun Reservoir, North China	WANG Shu-fang, WANG Xiao-ke, OUYANG Zhi-yun (946)
Impact of Microbial Aggregating Agents on Soil Aggregate Stability Under Addition of Exogenous Nutrients	MO Yan-hua, TANG Jia, ZHANG Ren-duo, <i>et al.</i> (952)
Adsorption of Aflatoxin on Montmorillonite Modified by Low-Molecular-Weight Humic Acids	YAO Jia-jia, KANG Fu-xing, GAO Yan-zheng (958)
Influence of Operating Parameters on Surfactant-enhanced Washing to Remedy PAHs Contaminated Soil	WU Wei, JIANG Lin, CHEN Jia-jun, <i>et al.</i> (965)
Study on the Land Use Optimization Based on PPI	WU Xiao-feng, LI Ting (971)
Research on Algal Diversity in Zoige Alpine Wetland	CHEN Xi, LIU Ru-yin, WANG Yan-fen, <i>et al.</i> (979)
Effects of Three Fungicides on Arbuscular Mycorrhizal Fungal Infection and Growth of <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	HE Xue-li, WANG Ping, MA Li, <i>et al.</i> (987)
Community Structure and Spatial Distribution of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria in the Sediments of Chongming Eastern Tidal Flat in Summer	ZHENG Yan-ling, HOU Li-jun, LU Min, <i>et al.</i> (992)
Microbial Degradation of 2,2',4,4'-Tetrabrominated Diphenyl Ether Under Anaerobic Condition	LU Xiao-xia, CHEN Chao-qi, ZHANG Shu, <i>et al.</i> (1000)
Effect of Heavy Metals on Degradation of BDE-209 by White-rot Fungus	XIONG Shi-chang, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (1008)
Biodegradation Mechanism of DDT and Chlorpyrifos Using Molecular Simulation	LIN Yu-zhen, ZENG Guang-ming, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (1015)
Construction of a Microbial Consortium RXS with High Degradation Ability for Cassava Residues and Studies on Its Fermentative Characteristics	HE Jiang, MAO Zhong-gui, ZHANG Qing-hua, <i>et al.</i> (1020)
Anaerobic Digestion of Animal Manure Contaminated by Tetracyclines	TONG Zi-lin, LIU Yuan-lu, HU Zhen-hu, <i>et al.</i> (1028)
Continuous Dry Fermentation of Pig Manure Using Up Plug-Flow Type Anaerobic Reactor	CHEN Chuang, DENG Liang-wei, XIN Xin, <i>et al.</i> (1033)

《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3月15日 33卷 第3期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 3 Mar. 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

国内外公开发行人