

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE



第36卷 第10期

Vol.36 No.10

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目 次

- 基于细颗粒物来源追踪技术的2013年12月上海市严重污染过程中PM_{2.5}的源贡献分析……… 李莉, 安静宇, 严茹莎(3543)
华北地区乡村站点(曲周)夏季PM_{2.5}中二次无机组分的生成机制与来源解析 …… 陈仕意, 曾立民, 董华斌, 朱彤(3554)
成都市大气PM_{2.5}中有机磷阻燃剂的污染水平及来源 …… 印红玲, 李世平, 叶芝祥, 杨迎春, 梁金凤, 游俊杰(3566)
不同生物质燃烧排放多环芳烃及糖醇类化合物的模拟研究 …… 黄帅, 黄欣怡, 吴水平, 胡清华, 陈晓秋(3573)
北京地区大气消光特征及参数化研究 …… 陈一娜, 赵普生, 何迪, 董璠, 赵秀娟, 张小玲(3582)
光助芬顿反应催化降解气体中甲苯 …… 郑思灿, 陈天虎, 刘海波, 邹雪华, 朱承驻, 陈冬(3590)
遗体火化二噁英类排放水平及影响因素 …… 尹文华, 于晓巍, 韩静磊, 冯桂贤, 付建平, 杨艳艳, 鞠勇明, 张素坤(3596)
我国餐厨废物生化处理设施恶臭排放特征分析 …… 张妍, 王元刚, 卢志强, 韩萌, 商细彬, 曹阳, 张君(3603)
太湖湖表反照率时空特征及影响因子 …… 曹畅, 李旭辉, 张弥, 刘寿东, 肖薇, 肖启涛, 徐家平(3611)
基于GOCI影像的太湖水体漫衰减系数遥感反演 …… 王珊珊, 李云梅, 王桥, 吕恒(3620)
河口盐度梯度下短叶茳芏沼泽湿地土壤间隙水溶解性甲烷时空特征 …… 杨平, 张子川, 杜威宁, 黄佳芳, 全川(3633)
石家庄市区土壤水分运移的稳定同位素特征分析 …… 陈同同, 陈辉, 韩璐, 邢星, 付阳阳(3641)
长寿湖水库垂直剖面不同形态汞的季节变化特征及其影响因素 …… 白薇扬, 张成, 唐振亚, 赵铮, 王定勇(3649)
三峡库区消落带4种典型植物根际土壤养分与氮素赋存形态 …… 王晓锋, 袁兴中, 刘红, 张磊, 尉建军, 岳俊生(3662)
湖泊水-沉积物界面DIC和DOC交换通量及耦合关系 …… 王伟颖, 吕昌伟, 何江, 左乐, 颜道浩(3674)
水体扰动条件下物质在沉积介质中的迁移 …… 李邵龙, 陈道毅(3683)
城市道路径流的排污特征 …… 武俊良, 任玉芬, 王雪梅, 王效科, 陈利顶, 刘刚才(3691)
杭州市余杭区典型农村暴雨径流污染特征 …… 段圣辉, 赵钰, 单保庆, 唐文忠, 张文强, 张淑珍, 郎超(3697)
海水淡化超滤-反渗透工艺沿程溴代消毒副产物变化规律 …… 杨哲, 孙迎雪, 石娜, 胡洪营(3706)
天然有机物和电解质对水中C₆₀凝聚行为的影响 …… 方华, 荆洁, 于江华, 王锤革(3715)
锆改性高岭土原位改良技术控制重污染河道底泥磷释放效果 …… 王虹, 林建伟, 詹艳慧, 章皓, 王笛入(3720)
污水管网中无机氮类营养盐迁变规律 …… 金鹏康, 焦丁, 任武昂(3730)
微妙氧水解酸化在石化废水预处理中的应用研究 …… 朱晨, 吴昌永, 周岳溪, 伏小勇, 陈学民, 邱延波, 吴晓峰(3738)
倒置A²/O-MBR组合工艺处理生活污水效能及膜污染特性 …… 王旭东, 马亚斌, 王磊, 杨怡婷, 黄丹曦, 夏四清(3743)
高氨氮对具有回流的PN-ANAMMOX串联工艺的脱氮影响 …… 李祥, 崔剑虹, 袁砚, 黄勇, 袁怡, 刘忻(3749)
苯甲酸盐厌氧驯化体系中三氯乙烯的还原脱氯特性 …… 李姜维, 杨晓永, 胡安谊, 于昌平(3756)
驯化污泥厌氧还原脱氯促进2,4,6-三氯酚矿化及胞外呼吸脱氯途径 …… 宋佳秀, 李玲, 盛凡凡, 郭翠香, 张永明, 李祖元, 王天丽(3764)
苯酚对厌氧氨氧化污泥脱氮效能长短期影响 …… 杨朋兵, 李祥, 黄勇, 朱亮, 崔剑虹, 徐杉杉(3771)
连续流好氧颗粒污泥系统处理低COD/N实际生活污水的工艺优化 …… 鲁磊, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建, 武勇(3778)
FNA对好氧吸磷的长期抑制及污泥吸磷方式转化 …… 马娟, 李璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟, 陈永志(3786)
污水处理厂不同工艺的污泥脱水效能分析及其影响因素研究 …… 刘吉宝, 李亚明, 吕鑑, 魏源送, 杨敏, 郁达伟(3794)
残留过氧化氢对微波-过氧化氢-碱预处理后污泥水解酸化的影响 …… 贾瑞来, 刘吉宝, 魏源送, 才兴(3801)
大围山典型森林土壤有机氮垂直分布特征 …… 丁咸庆, 马慧静, 朱晓龙, 陈珊, 侯红波, 彭佩钦(3809)
缙云山不同土地利用方式对土壤活性有机碳、氮组分的影响 …… 祁心, 江长胜, 郝庆菊, 李鉴霖(3816)
三峡库区典型退耕还林模式土壤养分流失控制 …… 吴东, 黄志霖, 肖文发, 曾立雄(3825)
坡位与土层对喀斯特原生林土壤微生物生物量与丰度的影响 …… 冯书珍, 苏以荣, 张伟, 陈香碧, 何寻阳(3832)
不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响 …… 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 葛体达, 王久荣, 陈明利, 吴晓英, 吴金水(3839)
有色冶金区土壤-玉米系统汞累积及健康风险 …… 纪小凤, 郑娜, 王洋, 刘强, 张静静(3845)
改良剂对4种木本植物的铅锌耐性、亚细胞分布和化学形态的影响 …… 陈永华, 张富运, 吴晓英, 梁希, 袁斯文(3852)
菹草乙酸乙酯组分抑藻活性物质的分离纯化和鉴定 …… 孙颖颖, 苏振霞, 浦寅芳, 肖辉, 王长海(3860)
血吸虫病疫区水生生物体内氯苯化合物的污染特征与潜在风险 …… 李昆, 赵高峰, 周怀东, 赵健, 张盼伟, 刘巧娜, 王兴勋, 刘晓茹(3866)
生物传感细胞ADP1_pWHLux在水环境急性毒性检测中的应用 …… 唐慧, 宋一之, 姜博, 陈光玉, 贾建丽, 张旭, 李广贺(3872)
虹鳟鱼鳃及肝脏多种CYP1基因表达模式作为生物标志物监测海河水污染状况 …… 高锴, 闫佩, 檀翠玲, 罗彦鹤, 孙静, Maria E. Jönsson, Ingvar Brandt, 唐运平(3878)
纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应 …… 刘林, 赵群芬, 金凯星, 朱帅旗, 王小飞, 吕佳昀(3884)
黄连根茎浸提物对隆线溞的急性毒性作用 …… 陈亚楠, 袁玲(3892)
发酵稻壳对亚铁离子和硫离子的吸附-解吸附特性 …… 谢晓梅, 廖敏, 华嘉媛, 陈娜, 张楠, 徐培智, 解开治, 徐昌旭, 刘光荣(3896)
搅拌棒吸附萃取-气相色谱-质谱联用测定海水中邻苯二甲酸酯 …… 高晨晨, 李锋民, 卢伦, 孙玥(3906)
COD组分分析的实验条件及结果可靠性分析 …… 李志华, 张银, 韩杏, 余科, 李汝佳(3913)
养猪废水和污泥中11种兽用抗生素的同时分析技术及其在生物降解过程的应用 …… 丁佳丽, 刘锐, 郑炜, 余卫娟, 叶朝霞, 陈吕军, 张永明(3918)
土壤微生物产电技术及其潜在应用研究进展 …… 邓欢, 薛洪婧, 姜允斌, 钟文辉(3926)
《环境科学》征订启事(3553) 《环境科学》征稿简则(3589) 信息(3705, 3755, 3763, 3800)

生物传感细胞 ADP1_pWHLux 在水环境急性毒性检测中的应用

唐慧¹, 宋一之^{2,3}, 姜博^{2,3}, 陈光玉^{2,3}, 贾建丽¹, 张旭^{2,3}, 李广贺^{2,3*}

(1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083; 2. 清华大学环境学院, 北京 100084; 3. 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 针对天然发光菌和以模式微生物为宿主构建的生物传感细胞在急性毒性检测应用中对测试条件要求苛刻等适用性问题, 本研究将1株基因工程构建的生物传感细胞不动杆菌ADP1_pWHLux应用于急性毒性检测, 建立检测方法, 考察其灵敏度及检测范围。结果表明, ADP1_pWHLux发光受急性毒物的抑制, 毒物剂量与发光抑制存在剂量效应关系。在4 mg·L⁻¹ HgCl₂诱导下仅5 min可作出响应, 暴露30~60 min后可以给出较为准确的结果。对HgCl₂的检出限可达0.04 mg·L⁻¹。对我国生活饮用水卫生标准的指标中Be²⁺、Ba²⁺、Cu²⁺、Ni²⁺检出效果明显, 对Be²⁺、Ba²⁺、Cu²⁺的检测范围均在0.025~250 mg·L⁻¹, 对Ni²⁺的检测范围在0.0025~250 mg·L⁻¹, 对Pb²⁺、BrO₃⁻、ClO₂⁻的检出限均在0.0025 mg·L⁻¹, 对ClO₃⁻检出限为0.025 mg·L⁻¹。采用ADP1_pWHLux生物传感细胞检测方法对北京市清河水环境急性毒性进行评价, 表明ADP1_pWHLux生物传感细胞检测方法可用于污染水样检测。

关键词: 不动杆菌; 生物传感; 急性毒性; 发光细菌; 发光抑制

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)10-3872-06 DOI: 10.13227/j.hjkx.2015.10.042

Application of Whole-cell Biosensor ADP1_pWHLux for Acute Toxicity Detection in Water Environment

TANG Hui¹, SONG Yi-zhi^{2,3}, JIANG Bo^{2,3}, CHEN Guang-yu^{2,3}, JIA Jian-li¹, ZHANG Xu^{2,3}, LI Guang-he^{2,3*}

(1. School of Chemical & Environmental Engineering, China University of Mining & Technology (Beijing), Beijing 100083, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Beijing 100084, China)

Abstract: A whole-cell biosensor acinetobacter ADP1_pWHLux was constructed by genetic engineering for detecting acute toxicity, so as to overcome the harsh application conditions when detecting acute toxicity using natural luminescent bacteria or whole-cell biosensor constructed by model microorganisms as the host cell,. Detection methods, detection sensitivity and detection range of acinetobacter ADP1_pWHLux were studied. The results showed that the luminescence of ADP1_pWHLux was inhibited by acute poison, poison dose and inhibition of luminescence exhibit dose-response relationship. ADP1_pWHLux was respond to 4 mg·L⁻¹ HgCl₂ within 5 min. The detection limit for HgCl₂ was 0.04 mg·L⁻¹. The detectable effects for indicators of Be²⁺, Ba²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺ in standards for drinking water quality were obvious. The detection range of Be²⁺, Ba²⁺, Cu²⁺ were 0.025~250 mg·L⁻¹, the detection range of Ni²⁺ was 0.0025~250 mg·L⁻¹, the detection limit of Pb²⁺, BrO₃⁻, ClO₂⁻ were 0.0025 mg·L⁻¹, the detection limit of ClO₃⁻ was 0.025 mg·L⁻¹. The whole-cell biosensor ADP1_pWHLux detection method has been applied to evaluate acute toxicity in water environment of Qinghe river in Beijing, indicating the established method can be used to detect contaminated water samples.

Key words: *Acinetobacter*; whole-cell biosensor; acute toxicity; bioluminescent bacteria; inhibition of luminescence

工业的发展对环境和生态系统造成极大的压力, 大量排放的污染物中不乏具有急性毒性的物质, 当与人类或动物一次或短时间接触后, 引起中毒, 甚至死亡。传统国际公认的标准生物斑马鱼、大型蚤是用于水质急性毒性表征的标准生物^[1~3], 但由于前期准备过程漫长, 实验操作过程繁琐限制了其广泛使用。传统发光菌是一类在自然界中分离的能够产生化学发光现象的微生物, 当细胞受急性毒物影响时, 发光强度下降。Bulich等^[4]最早提出水环境急性毒性检测的发光细菌法, 而明亮发光杆菌也已作为国家标准方

法用于水质急性毒性测定^[5]。由于发光菌大多从海洋中分离得到, 适合生长的温度在20℃左右, 因此实际应用中需要严格控制实验体系温度。

近年来, 通过基因工程改造而构建的生物传感细胞得到许多研究人员青睐^[6~11]。生物传感细胞^[12~18]具有启动基因与报道基因耦合的基因结构,

收稿日期: 2015-04-15; 修订日期: 2015-05-23

基金项目: 科技部科技基础性工作专项(2012FY130300)

作者简介: 唐慧(1988~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: tanghui0367@126.com

* 通讯联系人, E-mail: ligh@tsinghua.edu.cn

当启动基因为组成型表达时, 毒性物质会抑制报道基因转录和翻译, 通过检测报道产物的量的减少即可表征毒性的强度。绝大多数用于急性毒性检测的传感细胞宿主菌选用大肠杆菌和鼠伤寒沙门菌^[19~21], 并未针对检测对象和检测环境的要求识别和选择更为敏感的微生物作为传感细胞的宿主, 局限了应用范围^[22]。不动杆菌 ADP1 为 1 株土壤中分离的微生物^[23,24], 作为宿主细胞具有评价环境污染的潜力。本研究所采用的生物传感细胞为不动杆菌 ADP1_pWHLux, 以不动杆菌 ADP1 为底盘微生物构建, 其携带的质粒上具有发光基因 luxCDABE, 其表达受质粒复制起始点调控。

本研究主要目的为建立不动杆菌 ADP1_pWHLux 用于急性毒性检测方法, 考察其对急性毒物的灵敏性和检测范围, 并应用于北京市内清河污染河水样品的急性毒性检测, 评价基于宿主细胞不动杆菌 ADP1 建立的生物传感细胞 ADP1_pWHLux 是否适合评价环境污染物的急性毒性, 验证其在水质检测中应用的可行性, 以期为环境风险评估提供重要的方法支撑与理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

如无特殊说明, 所有试剂均为分析纯, 购自 Sigma 公司。

Luria-Bertani (LB) 培养基 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): 胰蛋白胨 10, 酵母提取物 5, NaCl 5。培养带有抗性细胞时, 采用含有 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素的 LB (LB_amp200) 培养基。

ADP1_pWHLux 由 Dr. Wei Huang 提供。该细胞为通过向不动杆菌 ADP1 转化 pWHLux 得到的重组体。pWHLux 在 pWH1274^[25] 质粒基础上插入发光基因片段 luxCDABE 构建得到。

发光检测实验所用酶标仪型号为 LB 962 (Berthold, USA), 与黑色底透 96 孔酶标板 (Grenier, Germany) 配合使用。

1.2 ADP1_pWHLux 对急性毒物的检测

1.2.1 ADP1_pWHLux 培养

从平板培养皿挑取单菌落接种到含有 LB_amp200 培养基的 50 mL 离心管中, 于 30℃, 150 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温振荡培养箱中过夜培养。

菌液在 6 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min, 弃上清, 收集菌体, 用新鲜 LB 培养基重悬, 按 1:10 接种比例接种至新鲜 LB 培养基, 用于急性毒性检测。

1.2.2 ADP1_pWHLux 对 HgCl_2 的响应

HgCl_2 作为急性毒性检测的标准物质^[5], 稀释为 0.000 4、0.004、0.04、0.4、1、2、4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质量浓度, 保存于 8 mL 棕色瓶中。

酶标板微孔内加入菌液各 100 μL , 100 μL 不同浓度 HgCl_2 再依次加入酶标板各孔, 设置 3 个平行, 无菌去离子水作为阴性对照。酶标仪设置为每 5 min 读取每个微孔的化学发光强度, 测量 2 h。

1.3 ADP1_pWHLux 对水中优先污染物响应

实验选取的水中优先污染物 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- , 是我国生活饮用水卫生标准^[26] 中规定的指标。

称量 BeCl_2 、 BaCl_2 、 CuCl_2 、 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 NiCl_2 、 NaClO_3 、 NaClO_2 、 NaBrO_3 , 配制成母液, 将母液稀释成不同质量浓度, 根据 ADP1_pWHLux 细胞对毒性物质的响应情况, 调整稀释的质量浓度梯度, 考察细胞对急性毒性污染物的响应效应。

同 ADP1_pWHLux 对 HgCl_2 的测定方法, 测定水中优先污染物时, 酶标板微孔内加入培养、稀释得到的菌液各 150 μL , 再加入污染物质各 50 μL , 无菌去离子水为阴性对照, 设置 3 组平行, 37℃ 条件下于酶标仪中测量发光强度。

1.4 ADP1_pWHLux 对污染水样测定

在立水桥附近沿清河取 3 个水样, 水样采集距河岸 5 m。清河采样点位置示意见图 1。Q1 在立水桥东北侧一排污口, Q2 在立水桥西南侧一排污口下游 20 m, Q3 为该排污口上游 50 m。采样时间为 2014 年 4 月初, 气温约 22℃。

100 μL 菌液和 100 μL 水样混合, 无菌去离子水为阴性对照, HgCl_2 为阳性对照, 在室温下, 置于酶标仪中测量发光强度。

1.5 数据处理

所有测量设置 3 个平行样, 并计算平均值和标准偏差。

$$\text{发光抑制率} = \frac{\text{对照组发光值} - \text{实验组发光值}}{\text{对照组发光值}}$$

上式反映待测样品中可被生物传感细胞有效利用部分急性毒性水平。细胞对某种物质急性毒性的检出限定义为暴露于该质量浓度污染物 60 min 后, 细胞发光明显低于阴性对照的质量浓度 ($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 ADP1_pWHLux 敏感度研究

暴露于不同浓度 HgCl_2 时, ADP1_pWHLux 发光



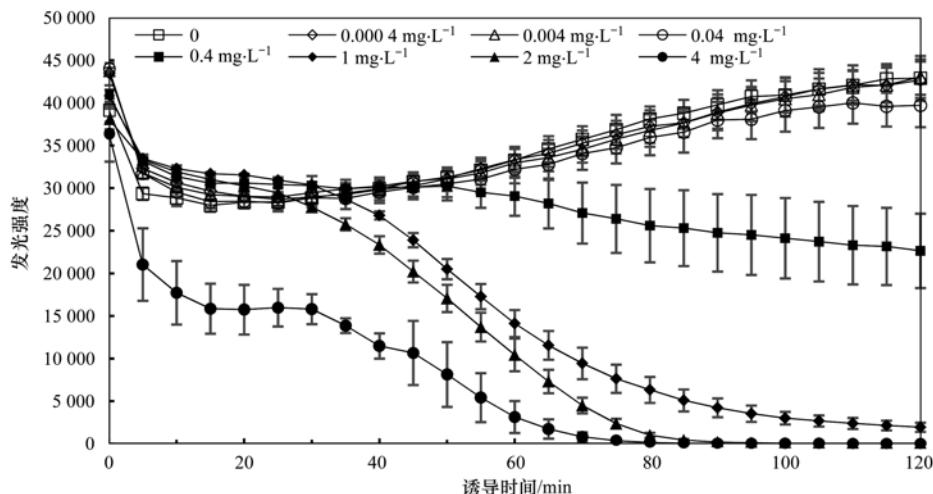
图1 清河采样点位置示意

Fig. 1 Sampling point of Qinghe

强度随时间的变化如图2所示。从中可知,4 mg·L⁻¹的HgCl₂迅速对细胞发光产生抑制,5 min就可使发光强度降至初始值的57.8%;在诱导100 min时,发光强度已降为0。该结果表明,ADP1_pWHLux可对急性毒性物质迅速做出响应。在实验所采用的0.000 4~4 mg·L⁻¹的HgCl₂质量浓度范围内,不同HgCl₂质量浓度诱导ADP1_pWHLux发光强度呈现不同变化趋势,HgCl₂质量浓度在0.000 4~0.04 mg·L⁻¹之间,ADP1_pWHLux发光强度变化与阴性对照无明显不同;当HgCl₂质量浓度高于

0.4 mg·L⁻¹,ADP1_pWHLux发光强度迅速降低,且随着诱导时间的增长,高质量浓度HgCl₂发光强度降低速率明显快于低质量浓度条件。因此后续实验选用0.4~4 mg·L⁻¹HgCl₂质量浓度,可得到明显剂量效应关系。在诱导60 min时,发光强度随诱导时间的变化区别已较为明显。为简化检测过程,缩短检测时间,快速得到结果,可直接读取诱导60 min时的发光数据。

诱导时间为60 min时,不同质量浓度HgCl₂对ADP1_pWHLux发光强度抑制的剂量效应关系如图

图2 不同质量浓度HgCl₂对ADP1_pWHLux发光强度的影响Fig. 2 Effects of different concentrations of HgCl₂ on luminous intensity of ADP1_pWHLux

3 所示。在 $0.04 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HgCl_2 质量浓度范围内, 随质量浓度升高, ADP1_pWHLux 发光抑制率增加, HgCl_2 质量浓度与 ADP1_pWHLux 发光呈现明确剂量效应关系。显著性差异检验 ($P < 0.05$) 表明, ADP1_pWHLux 对 HgCl_2 的检出限为 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

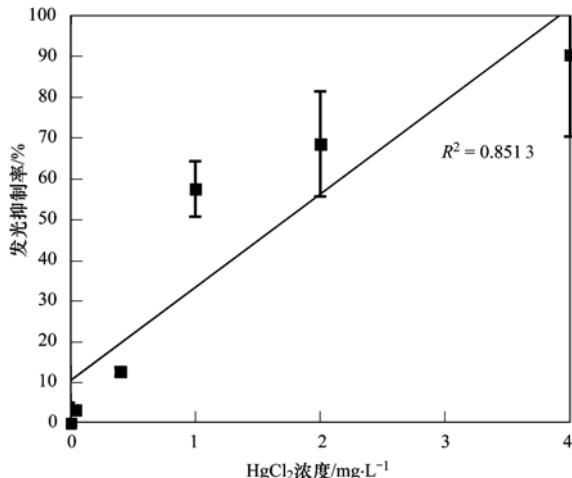


图3 不同质量浓度 HgCl_2 对 ADP1_pWHLux 发光强度抑制的剂量效应关系(诱导 60 min)

Fig. 3 Dose-response relationship of different concentrations of HgCl_2 and ADP1_pWHLux luminous intensity inhibition (induced 60 min)

2.2 ADP1_pWHLux 对急性毒性污染物的响应效应
不同污染物诱导 60 min 后, ADP1_pWHLux 发光抑制率变化见图 4。从中可见, ADP1_pWHLux 对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 这 8 种物质均有不同程度响应, 污染物种类及毒性物质质量浓度导致细胞发光抑制率不同程度地升高, 以此可表征不同污染物急性毒性大小。 ADP1_pWHLux 对不同质量浓度的 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 响应明显, 污染物质量浓度分别在 $12.5 \sim 15.625 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间、 $15.625 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间、 $50 \sim 125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间、 $50 \sim 125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间时, 诱导 ADP1_pWHLux 发光抑制率已达 50%; 较低质量浓度的污染物毒性效应增高较为缓慢, 较高质量浓度的污染物毒性效应上升明显。污染物 Pb^{2+} 对 ADP1_pWHLux 的诱导不明显, 不同质量浓度 Pb^{2+} 诱导的发光抑制率均不足 20%。实验中, 在将

$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 溶液与菌液混合时, 酶标板微孔中迅速可见乳白色沉淀, 这可能是由于污染物与菌液混合过程中, 大量 Pb^{2+} 与培养基成分发生沉淀反应, Pb^{2+} 不能穿过细胞膜引起急性毒性。在实验所选质量浓度范围内, ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 均能诱导 ADP1_pWHLux 产生发光抑制作用, 但发光抑制率均不高, 仅 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ClO_2^- 诱导的发光抑制率达到 50%, ClO_3^- 、 BrO_3^- 诱导的发光抑制率在 20% 左右。因此, ADP1_pWHLux 能够检测出 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 污染, 但在实验所选浓度范围内, ClO_3^- 、 BrO_3^- 质量浓度与发光抑制率无明显剂量效应关系。

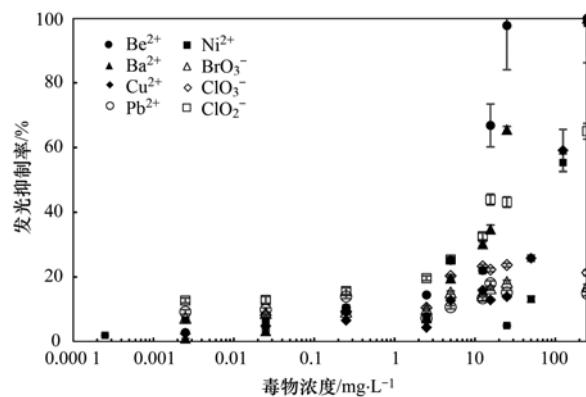


图4 不同污染物诱导下 ADP1_pWHLux 发光抑制率

Fig. 4 ADP1_pWHLux luminous inhibition rate induced by different pollutants

对不同质量浓度污染物诱导下的发光抑制率进行显著性差异检验 ($P < 0.05$), ADP1_pWHLux 对几种水中优先污染物的检出限与相应生活饮用水卫生标准 GB 5749-1985 2009-07-23^[26] 对比见表 1。 ADP1_pWHLux 对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 的检测范围均在 $0.025 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 Ni^{2+} 的检测范围在 $0.0025 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 Pb^{2+} 、 BrO_3^- 、 ClO_2^- 的检出限均在 $0.0025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 ClO_3^- 检出限为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与我国生活饮用水卫生标准相比较, 除对 Be^{2+} 的检出限高出生活饮用水卫生标准一个数量级外, 对其它几种离子检出限均低于生活饮用水标准 2~3 个数量级。因此, ADP1_pWHLux 生物传感细胞具有较高的检测灵敏度。

表1 ADP1_pWHLux 对几种水中优先污染物的检出限与相应生活饮用水标准

Table 1 ADP1_pWHLux detection limits of several priority pollutants in water and the corresponding standards for drinking water quality

| 项目 | Be^{2+} | Ba^{2+} | Cu^{2+} | Pb^{2+} | Ni^{2+} | BrO_3^- | ClO_3^- | ClO_2^- |
|---------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 检出限/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 0.025 | 0.025 | 0.025 | 0.0025 | 0.0025 | 0.0025 | 0.025 | 0.0025 |
| 水质标准/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 0.002 | 0.7 | 1.0 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.7 | 0.7 |

综上,ADP1_pWHLux 生物传感细胞对污染物检测范围较为广泛,对水中优先污染物 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 均能检出,检出限低,灵敏度高。尤其对重金属离子 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 检出效果明显,有较好的剂量效应关系。对 Pb^{2+} 、 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 检测灵敏度较高,但这几种污染物与 ADP1_pWHLux 发光没有明显的剂量效应关系。

2.3 清河现场水样的急性毒性

ADP1_pWHLux 应用于现场水样检测,样品诱导的发光强度变化如图 5 所示。阴性对照为去离子水,阳性对照为由低到高质量浓度梯度的 HgCl_2 。ADP1_pWHLux 的发光强度与 HgCl_2 质量浓度呈现剂量效应关系,表明 ADP1_pWHLux 已正常工作。由图 5 可见,3 个水样的急性毒性大小为 $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2 < Q3 < Q2 < Q1 < 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 。这与采样点分布规律是一致的,Q1 取自排污口,污染最为严重;Q2 取自排污口下游,距离污染源有一定距离,加上河水的稀释作用,污染较为严重;Q3 取自排污口上游,受附近排污口影响较小,污染最轻。ADP1_pWHLux 检测结果表明,排污口附近清河水质急性毒性较强。

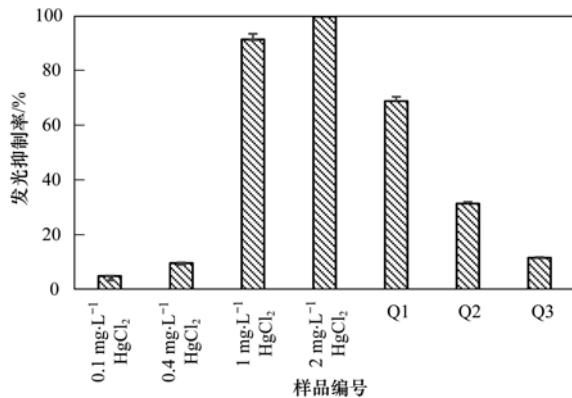


图 5 ADP1_pWHLux 对水样的检测(诱导 60 min)

Fig. 5 Result of ADP1_pWHLux detecting water samples (induced 60 min)

3 结论

(1) 实验室构建的 ADP1_pWHLux 生物传感细胞可用于急性毒性检测。 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 诱导 5 min 可作出响应,响应时间短;对 HgCl_2 的检出限为 $0.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;确定诱导 60 min 为仪器读值时间,简化操作,缩短检测时间。

(2) ADP1_pWHLux 对我国生活饮用水标准中的 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 BrO_3^- 离子均可检出。对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 检出效果明显。对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 的检测范围均在 $0.025 \sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 Ni^{2+} 的检测范围在 $0.0025 \sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 Pb^{2+} 、 BrO_3^- 、 ClO_2^- 的检出限均在 $0.0025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 ClO_3^- 检出限为 $0.025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

BrO_3^- 离子均可检出。对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 检出效果明显。对 Be^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 的检测范围均在 $0.025 \sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 Ni^{2+} 的检测范围在 $0.0025 \sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 Pb^{2+} 、 BrO_3^- 、 ClO_2^- 的检出限均在 $0.0025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对 ClO_3^- 检出限为 $0.025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

(3) 采用 ADP1_pWHLux 生物传感细胞检测方法对清河河水急性毒性进行评价,生物传感细胞 60 min 内报道基因表达量减少,发光受到抑制,且发光抑制程度与采样点位置规律一致,说明 ADP1_pWHLux 对现场水样的急性毒性有较为灵敏的评价,展现了该方法在水质评价中的应用前景。

致谢:感谢英国牛津大学黄巍副教授和中国科学院海洋研究所王允博士为本研究提供测试所用的菌株,对菌株构建所做的工作以及对前期检测条件的探究工作。

参考文献:

- [1] GB/T 13267-1991 水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法[S].
- [2] GB/T 13266-1991 水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法[S].
- [3] 马胜. 污水生物毒性的检测方法与评价技术[J]. 中国城市经济, 2011, (11): 156, 158.
- [4] Bulich A A, Hartman P A. Evaluation of thallium acetate-citrate medium for isolation of enterococci [J]. Applied Microbiology, 1969, **18**(5): 944-945.
- [5] GB/T 15441-1995 水质 急性毒性的测定 发光细菌法[S].
- [6] Li Y F, Li F Y, Ho C L, et al. Construction and comparison of fluorescence and bioluminescence bacterial biosensors for the detection of bioavailable toluene and related compounds [J]. Environmental Pollution, 2008, **152**(1): 123-129.
- [7] Kelly C J, Tumsaroj N, Lajoie C A. Assessing wastewater metal toxicity with bacterial bioluminescence in a bench-scale wastewater treatment system [J]. Water Research, 2004, **38**(2): 423-431.
- [8] Ren S J, Frymier P D. Toxicity of metals and organic chemicals evaluated with bioluminescence assays[J]. Chemosphere, 2005, **58**(5): 543-550.
- [9] Ivask A, Rölova T, Kahru A. A suite of recombinant luminescent bacterial strains for the quantification of bioavailable heavy metals and toxicity testing[J]. BMC Biotechnology, 2009, **9**: 41.
- [10] Xu T T, Close D M, Sayler G S, et al. Genetically modified whole-cell bioreporters for environmental assessment [J]. Ecological Indicators, 2013, **28**: 125-141.
- [11] Michelini E, Cevenini L, Calabretta M M, et al. Field-deployable whole-cell bioluminescent biosensors: so near and yet so far[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, **405**(19): 6155-6163.

- [12] Shimomura-Shimizu M, Karube I. Applications of microbial cell sensors [A]. In: Belkin S, Gu M B (eds.). Whole Cell Sensing System II [M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2010. 1-30.
- [13] Song Y Z, Jiang B, Tian S C, et al. A whole-cell bioreporter approach for the genotoxicity assessment of bioavailability of toxic compounds in contaminated soil in China [J]. Environmental Pollution, 2014, **195**: 178-184.
- [14] 宋一之, 黄巍, 张旭, 等. 遗传毒性检测生物传感细胞的灵敏度及稳定性研究[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2010, **50**(11): 1880-1889.
- [15] 侯启会, 马安周, 庄绪亮, 等. 微生物全细胞传感器在重金属生物可利用度监测中的研究进展[J]. 环境科学, 2013, **34**(1): 347-356.
- [16] Al-Anizi A A, Hellyer M T, Zhang D Y. Toxicity assessment and modelling of *Moringa oleifera* seeds in water purification by whole cell bioreporter[J]. Water Research, 2014, **56**: 77-87.
- [17] Zhang D Y, Ding A Z, Cui S C, et al. Whole cell bioreporter application for rapid detection and evaluation of crude oil spill in seawater caused by Dalian oil tank explosion [J]. Water Research, 2013, **47**(3): 1191-1200.
- [18] Wei H, Cheng H, Ting M, et al. A chromosomally based luminescent bioassay for mercury detection in red soil of China [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, **87**(3): 981-989.
- [19] Ahn J M, Hwang E T, Youn C H, et al. Prediction and classification of the modes of genotoxic actions using bacterial biosensors specific for DNA damages [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, **25**(4): 767-772.
- [20] Westerink W M A, Stevenson J C R, Lauwers A, et al. Evaluation of the VitotoxTM and RadarScreen assays for the rapid assessment of genotoxicity in the early research phase of drug development [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2009, **676**(1-2): 113-130.
- [21] 黄新新, 何苗, 罗虹, 等. pUCD-recA 重组发光菌构建及对遗传毒性污染物响应作用[J]. 环境科学, 2009, **30**(6): 1722-1726.
- [22] Biran A, Yagur-Kroll S, Pedahzur R, et al. Bacterial genotoxicity bioreporters [J]. Microbial Biotechnology, 2010, **3**(4): 412-427.
- [23] Vaneechoutte M, Young D M, Ornston L N, et al. Naturally transformable *Acinetobacter* sp. strain ADP1 belongs to the newly described species *Acinetobacter baylyi* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(1): 932-936.
- [24] Zhang D Y, Zhao Y, He Y, et al. Characterization and modeling of transcriptional cross-regulation in *Acinetobacter baylyi* ADP1 [J]. ACS Synthetic Biology, 2012, **1**(7): 274-283.
- [25] Hunger M, Schmucker R, Kishan V, et al. Analysis and nucleotide sequence of an origin of an origin of DNA replication in *Acinetobacter calcoaceticus* and its use for *Escherichia coli* shuttle plasmids[J]. Gene, 1990, **87**(1): 45-51.
- [26] GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S].

CONTENTS

| | |
|--|---|
| Source Contribution Analysis of the Fine Particles in Shanghai During a Heavy Haze Episode in December, 2013 Based on the Particulate Matter Source Apportionment Technology | LI Li, AN Jing-yu, YAN Ru-sha (3543) |
| Transformation Mechanism and Sources of Secondary Inorganic Components in PM _{2.5} at an Agriculture Site (Quzhou) in the North China Plain in Summer | CHEN Shi-yi, ZENG Li-min, DONG Hua-bin, et al. (3554) |
| Pollution Level and Sources of Organic Phosphorus Esters in Airborne PM _{2.5} in Chengdu City | YIN Hong-ling, LI Shi-ping, YE Zhi-xiang, et al. (3566) |
| Simulation Study of the Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Sugar Alcohols from Biomass Burning | HUANG Shuai, HUANG Xin-yi, WU Shui-ping, et al. (3573) |
| Characteristics and Parameterization for Atmospheric Extinction Coefficient in Beijing | CHEN Yi-na, ZHAO Pu-sheng, HE Di, et al. (3582) |
| Photocatalytic Degradation of Gaseous Toluene by a Photo-Fenton Reaction | ZHENG Si-can, CHEN Tian-hu, LIU Hai-bo, et al. (3590) |
| Emission of PCDD/Fs from Crematories and Its Influencing Factors | YIN Wen-hua, YU Xiao-wei, HAN Jing-lei, et al. (3596) |
| Odor Emission Characteristics from Biochemical Treatment Facilities of Kitchen Waste in China | ZHANG Yan, WANG Yuan-gang, LU Zhi-qiang, et al. (3603) |
| Temporal and Spatial Characteristics of Lake Taihu Surface Albedo and Its Impact Factors | CAO Chang, LI Xu-hui, ZHANG Mi, et al. (3611) |
| Remote Sensing Inversion of Diffuse Attenuation Coefficient in Lake Taihu Based on the GOCCI Images | WANG Shan-shan, LI Yun-mei, WANG Qiao, et al. (3620) |
| Porewater Dissolved Methane in <i>Cyperus malaccensis</i> Marshes Along Salinity Gradient in the Minjiang River Estuary | YANG Ping, ZHANG Zi-chuan, DU Wei-ning, et al. (3633) |
| Stable Isotopes Characters of Soil Water Movement in Shijiazhuang City | CHEN Tong-tong, CHEN Hui, HAN Lu, et al. (3641) |
| Seasonal Variations in Vertical Profile of Hg Species and the Influential Factors in Changshou Reservoir | BAI Wei-yang, ZHANG Cheng, TANG Zhen-ya, et al. (3649) |
| Nutrient Characteristics and Nitrogen Forms of Rhizosphere Soils Under Four Typical Plants in the Littoral Zone of TGR | WANG Xiao-feng, YUAN Xing-zhong, LIU Hong, et al. (3662) |
| Exchange Fluxes and Coupling Relationship of Dissolved Inorganic Carbon and Dissolved Organic Carbon Across the Water-Sediment Interface in Lakes | WANG Wei-ying, LÜ Chang-wei, HE Jiang, et al. (3674) |
| Mass Transport in Porous Sediments During Turbulent Disturbance | LI Shao-long, CHEN Dao-yi (3683) |
| Characterization of Pollutant Wash-off in the Urban Stormwater | WU Jun-liang, REN Yu-fen, WANG Xue-mei, et al. (3691) |
| Research of the Stormwater Runoff and Pollution Characteristics in Rural Area of Yuhang District, Hangzhou | DUAN Sheng-hui, ZHAO Yu, SHAN Bao-qing, et al. (3697) |
| Formation and Variation of Brominated Disinfection By-products in A Combined Ultrafiltration and Reverse Osmosis Process for Seawater Desalination | YANG Zhe, SUN Ying-xue, SHI Na, et al. (3706) |
| Effect of Natural Organic Matter and Electrolytes on the Aggregation of C ₆₀ Nanoparticles in Aquatic Systems | FANG Hua, JING Jie, YU Jiang-hua, et al. (3715) |
| Efficiency of Sediment Amendment with Zirconium-Modified Kaolin Clay to Control Phosphorus Release from Sediments in Heavily Polluted Rivers | WANG Hong, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, et al. (3720) |
| Transformation of Nitrogen Nutrients in the Urban Sewage Pipe Network | JIN Peng-kang, JIAO Ding, REN Wu-ang (3730) |
| Application of Micro-aerobic Hydrolysis Acidification in the Pretreatment of Petrochemical Wastewater | ZHU Chen, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, et al. (3738) |
| Efficacy of A ² /O-MBR Combined Process in Wastewater Treatment and the Characteristics of Membrane Fouling | WANG Xu-dong, MA Ya-bin, WANG Lei, et al. (3743) |
| Effect of High Ammonium on Nitrogen Removal in an Partial Nitritation-ANAMMOX Process with Reflux System | LI Xiang, CUI Jian-hong, YUAN Yan, et al. (3749) |
| Reductive Dechlorination of Trichloroethylene by Benzoate-Enriched Anaerobic Cultures | LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, HU An-ji, et al. (3756) |
| 2,4,6-Trichlorophenol Mineralization Promoted by Anaerobic Reductive Dechlorination of Acclimated Sludge and Extracellular Respiration Dechlorination Pathway | SONG Jia-xiu, LI Ling, SHENG Fan-fan, et al. (3764) |
| Short or Long Term Influence of Phenol on Nitrogen Removal Efficiency of ANAMMOX Sludge | YANG Peng-bing, LI Xiang, HUANG Yong, et al. (3771) |
| Process Optimization of Aerobic Granular Sludge Continuous-Flow System for the Treatment of Low COD/N Ratio Sewage | LU Lei, XIN Xin, LU Hang, et al. (3778) |
| Long-Term Inhibition of FNA on Aerobic Phosphate Uptake and Variation of Phosphorus Uptake Properties of the Sludge | MA Juan, LI Lu, YU Xiao-jun, et al. (3786) |
| Performance and Factors Analysis of Sludge Dewatering in Different Wastewater Treatment Processes | LIU Ji-bao, LI Ya-ming, LÜ Jian, et al. (3794) |
| Effect of Residual Hydrogen Peroxide on Hydrolysis Acidification of Sludge Pretreated by Microwave -H ₂ O ₂ -Alkaline Process | JIA Rui-lai, LIU Ji-bao, WEI Yuan-song, et al. (3801) |
| Vertical Distribution Characteristics of Typical Forest Soil Organic Nitrogen in Dawei Mountain | DING Xian-qing, MA Hui-jing, ZHU Xiao-long, et al. (3809) |
| Effects of Different Land Uses on Soil Active Organic Carbon and Nitrogen Fractions in Jinyun Mountain | QI Xin, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, et al. (3816) |
| Control of Soil Nutrient Loss of Typical Reforestation Patterns Along the Three Gorges Reservoir Area | WU Dong, HUANG Zhi-lin, XIAO Wen-fa, et al. (3825) |
| Effects of Slope Position and Soil Horizon on Soil Microbial Biomass and Abundance in Karst Primary Forest of Southwest China | FENG Shu-zhen, SU Yi-rong, ZHANG Wei, et al. (3832) |
| Effects of Different Plantation Type on the Abundance and Diversity of Soil Microbes in Subtropical Red Soils | SHEN Bing-jie, ZHU Zhen-ke, YUAN Hong-zhao, et al. (3839) |
| Accumulation of Mercury in Soil-maize System of Non-ferrous Metals Smelting Area and Its Related Risk Assessment | JI Xiao-feng, ZHENG Na, WANG Yang, et al. (3845) |
| Effects of Different Modifier Concentrations on Lead-Zinc Tolerance, Subcellular Distribution and Chemical Forms for Four Kinds of Woody Plants | CHEN Yong-hua, ZHANG Fu-yun, WU Xiao-fu, et al. (3852) |
| Isolation, Purification and Identification of Antialgal Activity Substances of Ethyl Acetate Extracts from the Submerged Macrophytes <i>Potamogeton crispus</i> | SUN Ying-ying, SU Zhen-xia, PU Yin-fang, et al. (3860) |
| Distribution Characteristics and Potential Risk of CBs in Aquatic Organisms from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence | LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, et al. (3866) |
| Application of Whole-cell Biosensor ADPI-pWHLux for Acute Toxicity Detection in Water Environment | TANG Hui, SONG Yi-zhi, JIANG Bo, et al. (3872) |
| Application of Rainbow Trout CYP1 Gene Expression Patterns in Gill and Liver for Haihe River Bio-monitoring | GAO Kai, YAN Pei, TAN Cui-ling, et al. (3878) |
| Toxic Effect of Nano-ZnO in Liver of Zebrafish | LIU Lin, ZHAO Qun-fen, JIN Kai-xing, et al. (3884) |
| Acute Toxicity of <i>Coptis chinensis</i> Rhizome Extracts to <i>Daphnia carinata</i> | CHEN Ya-nan, YUAN Ling (3892) |
| Adsorption-desorption Characteristics of Fermented Rice Husk for Ferrous and Sulfur Ions | XIE Xiao-mei, LIAO Min, HUA Jia-yuan, et al. (3896) |
| Application of Stir Bar Sorptive Extraction and Gas Chromatograph Mass Spectrometer to the Phthalic Acid Esters Analysis in Seawater | GAO Chen-chen, LI Feng-min, LU Lun, et al. (3906) |
| Experimental Conditions and Reliability Analysis of Results of COD Components | LI Zhi-hua, ZHANG Yin, HAN Xing, et al. (3913) |
| Method for Simultaneous Determination of 11 Veterinary Antibiotics in Piggy Wastewater and Sludge and Its Application in Biological Treatment | DING Jia-li, LIU Rui, ZHENG Wei, et al. (3918) |
| Research Progress in Technology of Using Soil Micro-organisms to Generate Electricity and Its Potential Applications | DENG Huan, XUE Hong-jing, JIANG Yun-bin, et al. (3926) |

《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 刘毅 汤鸿霄 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



(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2015年10月15日 第36卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 10 Oct. 15, 2015

| | | |
|---------|--|---|
| 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: 120.00 元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行