

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第12期

Vol.36 No.12

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(卷终)

2014年APEC前后北京城区PM_{2.5}中水溶性离子特征分析 杨懂艳,刘保献,张大伟,石爱军,周健楠,景宽,富佳明(4325)

2013年北京市不同方位PM_{2.5}背景浓度研究 李云婷,程念亮,张大伟,孙瑞雯,董欣,孙乃迪,陈晨(4331)

APEC期间北京空气质量改善对比分析 李文涛,高庆先,刘俊蓉,李亮,高文康,苏布达(4340)

嘉兴市春季PM、主要污染气体和气溶胶粒径分布的周末效应 沈利娟,王红磊,吕升,李莉,张孝寒,章国骏,王聿(4348)

烟花燃放对珠三角地区春节期间空气质量的影响 赵伟,范绍佳,谢文彰,孙家仁(4358)

典型钢铁行业汞排放特征及质量平衡 张雅惠,张成,王定勇,罗程钟,杨熹,徐凤(4366)

上海市公园绿地树叶对大气重金属污染的磁学响应 刘飞,褚慧敏,郑祥民(4374)

重庆金佛山降雪中飞灰颗粒物特征及来源解析 于正良,杨平恒,景伟力,袁道先,任坤,李林立(4381)

利用新型组合填料的生物滴滤塔净化混合废气研究 梅瑜,成卓韦,王家德,陆胤(4389)

低浓度CO₂在聚苯胺/Y分子筛复合材料上的吸附 刘凤玲,卢霞,张慧,葛鑫,刘杰,张泳真(4396)

红壤丘陵区冬季大气湿沉降化学特征及森林冠层对其截留作用机制 郝卓,高扬,张进忠,于贵瑞(4403)

中亚热带常绿阔叶林湿沉降过程中盐基离子变化特征 安思危,孙涛,马明,王定勇(4414)

基于Landsat 8影像估算新安江水库光合有效辐射漫射衰减系数 张毅博,张运林,查勇,施坤,周永强,刘明亮(4420)

白石水库颗粒有机物及沉积物中碳、氮稳定同位素的空间分布特征 郭凯,赵文,王珊,戴玉新,张荣坤,李东明(4430)

小关水库夏季浮游植物功能群对富营养化特征的响应 李磊,李秋华,焦树林,李钥,肖晶,邓龙,孙荣国,高永春,骆兰(4436)

湖泊基质客土改良的环境效应:对芦苇生长及光合荧光特性的影响 余居华,钟继承,范成新,黄蔚,商景阁,古小治(4444)

贵州纳朵洞洞穴水文地球化学变化特征及其环境意义 沈蔚,王建力,王家录,蒋先淑,毛庆亚,陈挚秋,刘肖(4455)

碧水岩地下河中微量金属元素对降雨的响应特征及来源分析 邹艳娥,蒋萍萍,张强,汤庆佳,康志强,龚晓萍,陈长杰,俞建国(4464)

钱塘江(杭州段)表层水中全氟化合物的残留水平及分布特征 张明,唐访良,俞雅雯,徐建芬,李华,吴敏华,张伟,潘见阳(4471)

长江中游沉积物中多溴联苯醚的污染特征及风险评价 田奇昌,唐洪波,夏丹,王莎莎,高丽荣(4479)

城市地表水表层沉积物重金属污染特征与潜在生态风险评估:以永康市为例 齐鹏,余树全,张超,梁立成,车继鲁(4486)

柠檬酸对三峡水库消落区土壤中汞活化及甲基化的影响 覃蔡清,梁丽,游蕊,邓晗,王定勇(4494)

微生物对冰封期湖泊沉积物中有机磷降解释放的影响 左乐,吕昌伟,何江,王伟颖,颜道浩(4501)

扰动和加藻共同作用下太湖沉积物中形态磷变化规律 陈俊,李大鹏,朱培颖,黄勇,王忍(4509)

生态沟渠对氮、磷污染物的拦截效应 张树楠,肖润林,刘锋,吴金水(4516)

开放系统下方解石对磷的去除 李振炫,刁家勇,黄利东,陈艳芳,刘大刚,许正文(4523)

铜在壳核结构磁性颗粒上的吸附:效能与表面性质的关系 李秋梅,陈静,李海宁,张晓蕾,张高生(4531)

基于优质碳源提供的CAMBR复合工艺短程硝化-反硝化除磷研究 程继辉,吴鹏,程朝阳,沈耀良(4539)

ANAMMOX菌利用零价铁转化氨和硝酸盐实验 周健,黄勇,袁怡,刘忻,李祥,沈杰,杨朋兵(4546)

基于GIS的天津市饮用水水质健康风险评价 符刚,曾强,赵亮,张玥,冯宝佳,王睿,张磊,王洋,侯常春(4553)

北京自备井水源内毒素污染及与其他水质参数的相关分析 张灿,刘文君,敖澍,史云,安代志,刘治平(4561)

广州市小学生多环芳烃内暴露水平 苏慧,赵波,张素坤,刘珊,任明忠,李杰,石小霞(4567)

构建三元混合污染物的三维等效图 刘雪,刘树深,刘海玲(4574)

化学提取法表征污染土壤中PAHs老化规律和蚯蚓富集特征 张亚楠,杨兴伦,卞永荣,谷成刚,刘总堂,李娇,王代长,蒋新(4582)

不同取样尺度下华北落叶松人工林土壤呼吸的空间变异性 严俊霞,梁雅南,李洪建,李君剑(4591)

基于环境效应的土壤重金属临界负荷制图 施亚星,吴绍华,周生路,王春辉,陈浩(4600)

土壤中铅锌的稳定化处理及机制研究 谢伟强,李小明,陈灿,陈寻峰,钟宇,钟振宇,万勇,王琰(4609)

纳米氧化锌、硫酸锌和AM真菌对玉米生长的影响 李帅,刘雪琴,王发园,苗艳芳(4615)

蜈蚣草中砷与铈的赋存特征及其相互作用 张玉秀,马旭,廖晓勇,阎秀兰,马栋,龚雪刚(4623)

纳米沸石对土壤Cd形态及大白菜Cd吸收的影响 熊仕娟,徐卫红,谢文文,陈蓉,陈永勤,迟芬琳,陈序根,张进忠,熊治庭,王正银,谢德体(4630)

黑麦草、丛枝菌根对番茄Cd吸收、土壤Cd形态的影响 陈永勤,江玲,徐卫红,迟芬琳,陈序根,谢文文,熊仕娟,张进忠,熊治庭(4642)

耐盐类固醇激素降解菌交替赤杆菌MH-B5的降解特性、降解途径及其固定化 马聪,秦丹,孙倩,于昌平(4651)

浙江省瓯江氨氧化古菌和氨氧化细菌分布及多样性特征 李虎,黄福义,苏建强,洪有为,俞慎(4659)

缙云山马尾松林和柑橘林土壤微生物PLFA沿海拔梯度的变化 曾清苹,何丙辉,毛巧芝,吴耀鹏,黄祺,李源(4667)

华北平原耕作土壤特性对基因工程菌迁移的影响 张静,刘平,刘春,陈晓轩,张磊(4676)

再生铜冶炼过程多氯萘与二噁英类排放特征分析与控制技术评估 田亚静,姜晨,吴广龙,丁琼,王铁宇,吕永龙(4682)

《环境科学》第36卷(2015年)总目录 (4690)

《环境科学》征订启事(4347) 《环境科学》征稿简则(4454) 信息(4463,4530,4573,4581)

耐盐类固醇激素降解菌交替赤杆菌 MH-B5 的降解特性、降解途径及其固定化

马聪^{1,2}, 秦丹¹, 孙倩¹, 于昌平^{1*}

(1. 中国科学院城市环境研究所, 中国科学院城市污染物转化重点实验室, 厦门 361021; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 从咸水湖中分离得到 1 株具有类固醇激素降解能力的耐盐菌株, 利用 16S rRNA 基因序列同源性分析确定菌株 MH-B5 属于交替赤杆菌属 (*Altererythrobacter*), 其可生长 pH 范围为 5.5~9.0, 可耐受盐度生长范围为 0~7%, 单碳降解实验表明该菌可以利用雌酮、雌二醇、雌三醇和睾酮。应用超高压液相色谱串联四级杆飞行时间质谱分析得出菌株降解睾酮的过程中主要中间代谢产物为 4-雄烯二酮、宝丹酮和雄二烯二酮。应用单一载体和复合载体两种方法分别制备的菌株 MH-B5 固定化颗粒均可降解雌二醇, 批次降解实验表明菌株 MH-B5 固定化颗粒可有效降解 2 mg·L⁻¹ 雌二醇及其初级代谢产物雌酮。上述研究结果表明菌株 MH-B5 可在海水中生长良好, 其能降解典型雌激素及雄激素睾酮, 且经过微生物固定化过程后依然具有类固醇激素的降解特性, 因此对类固醇激素污染的咸水环境修复, 具有潜在应用前景。

关键词: 类固醇激素; 睾酮; 耐盐; 代谢产物; 固定化微生物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)12-4651-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.2015.12.042

Degradation of Steroidal Hormones by Salt-tolerant *Altererythrobacter* Strain MH-B5: Degradation Characteristics, Metabolites and Its Immobilization

MA Cong^{1,2}, QIN Dan¹, SUN Qian¹, YU Chang-ping^{1*}

(1. Key Laboratory of Urban Pollutant Conversion, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: A steroidal hormone degrading bacterium, named MH-B5, was isolated from saline lagoon. Several steroidal hormones including estrone, 17- β -estradiol, estriol and testosterone could be utilized as sole carbon source by strain MH-B5. Analysis of 16S rRNA gene sequence showed that it belonged to genus *Altererythrobacter*. Growth of strain MH-B5 was observed at salinities of 0-7% and at pH of 5.5-9.0. The main degradation metabolites of testosterone by strain MH-B5 were identified as 4-androstenedione, 1-dehydrotestosterone and androstadienedione using ultra performance liquid chromatography (UPLC) coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Q-TOF MS). Mono-carrier and multi-carrier cell immobilization techniques were successfully applied to this steroid-degrading bacterium. Batch estrogen degradation study showed that immobilized strain MH-B5 could effectively degrade 2 mg·L⁻¹ of 17 β -estradiol and its metabolite estrone. The results mentioned above demonstrated the capability of MH-B5 to degrade both estrogens and testosterone and the potential application of using immobilized MH-B5 cells in bioremediation of steroidal hormone pollution in saline environment.

Key words: steroid hormone; testosterone; salt-tolerant; metabolites; immobilized bacteria

类固醇激素 (steroidal hormone) 是一类常见的环境内分泌干扰物 (endocrine disrupting compounds, EDCs), 包括类固醇雌激素如: 雌酮 (estrone, E1)、雌二醇 (17 β -estradiol, E2)、雌三醇 (estriol, E3) 和乙炔基雌二醇 (17 β -ethynylestradiol, EE2); 以及类固醇雄激素如: 睾酮 (testosterone, T) 等, 由于其在 ng·L⁻¹ 作用下即可干扰水生生物内分泌系统而被广泛关注^[1~4]。污水处理厂的出水中所含有的未完全去除的类固醇激素是天然水体中这类污染物的主要来源^[5,6], 微生物降解作用被认为是环境中类固醇激素类化合物的主要去除机制^[7,8], 以往研究从不同受污染环境分离纯化出类固醇激素降解菌如污

水处理厂^[9~11]、人工湿地^[12]、土壤^[13]或是沙质含水层^[14]。靠近污水处理厂排放口的海洋环境也受到了不同程度的污染。近年来海洋沉积物以及海水中多种类固醇激素被检出^[15,16], 然而关于海水类固醇激素降解菌的分离纯化鲜有报道, 耐盐菌株对类固醇激素的降解特性和途径还尚未明确。

本研究通过人工咸水湖中分离纯化的 1 株耐盐

收稿日期: 2015-06-19; 修订日期: 2015-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31370503); 福建省杰出青年基金项目 (2013J06012); 厦门南方海洋研究中心项目 (14CNY022NF22)

作者简介: 马聪 (1986~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为内分泌干扰物的生物降解, E-mail: cma@iue.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: cpyu@iue.ac.cn

交替赤杆菌属菌株 MH-B5 对类固醇激素的降解特性以及其对睾酮代谢产物分析从而推测可能代谢途径,制备并应用 MH-B5 固定化微生物颗粒降解雌二醇,以期为咸水环境类固醇激素污染的修复提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株分离自厦门筲筴湖咸水湖水样。培养基选用 216L 培养基和陈海水,见文献[17]。主要试剂:类固醇激素:E1、E2、E3、EE2 和 T 分别购自 Sigma 公司(纯度均大于 99%);降解产物标准样品:宝丹酮(1-Dehydrotestosterone, DHT, 99%)和 4-雄烯二酮(4-androstenedione, AD, 99%)分别购自 Dr. Ehrenstorfer 公司;实验中所用试剂均采用色谱纯级别。

1.2 菌株鉴定

1.2.1 16S rRNA 基因序列分析及系统发育树构建

应用单菌落 PCR 法,选用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') 扩增得到菌株 MH-B5 的 16S rRNA 基因全长序列。PCR 反应条件:94℃ 预变性 10 min,30 个循环(94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s),最终 72℃ 延伸 10 min。所得序列均由上海美吉生物医药科技有限公司进行测序。测序结果在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)进行 blast 分析,并通过软件 DNAMAN (Version 4.0) 对扩增序列和 GenBank 中近缘种的序列进行比对,然后用软件 MEGA (Version 6.0) 构建系统发育树。

1.2.2 pH 与盐度对菌株 MH-B5 的生长影响

菌株 MH-B5 接种于 216L 培养基,30℃,150 r·min⁻¹ 振荡培养 24 h 作为种子液使用。分别准备两组各 10 支试管,配备不同的 pH 和盐度梯度的 216L 培养基,分别取 200 μL 不同条件的培养基溶液于 96 孔板中,每孔接入 10 μL 的 MH-B5 菌株种子液。每个 pH 梯度和盐度分别做 3 组平行。完成后将 96 孔板使用全自动生长曲线分析仪(FP-1100-C,上海谓载商贸有限公司),37℃,静置培养 4 d,每间隔 30 min 对每孔菌液进行 600 nm 下的光密度测量(测定前系统自动振荡摇匀,转速为 200 r·min⁻¹),自动绘制生长曲线,以测定 MH-B5 菌株的 pH 和盐度生长范围。设置系列 pH 从 4.5 ~ 10 的梯度,每 0.5 为一个划分单位,共 12 组,设置系列

盐度梯度 0 ~ 9% 范围,每 1.0% 为一个划分单位,共 10 组。

1.3 降解特性分析

陈海水经 0.45 μm 滤膜过滤并灭菌后待用。单一目标污染物(E2、E3、EE2 或 T)分别加入陈海水中配制终浓度为 2 mg·L⁻¹ 的陈海水类固醇激素培养基。分别取 200 mL 陈海水类固醇激素培养基进行批次实验,各批次实验体系中初始 D_{600} 值为 0.1,30℃、150 r·min⁻¹ 好氧培养,取 0、3、6、9、12、24 h 样品经液液萃取后待定量分析。固定化微生物颗粒降解实验中等量固定化微生物代替游离菌液使得降解体系初始 D_{600} 值为 0.1。

样品中类固醇激素浓度由高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC, UitiMate 3000,美国戴安公司)进行定量分析。色谱柱为 C18 柱(3.050 mm, 2.2 μm, Thermo),梯度洗脱方法程序为流动相:A 相为水,B 相为乙腈;流速 0.5 mL·min⁻¹;梯度洗脱程序:B 相初始比例为 22%,保持 2 min,第 3 min 时升为 42%,再保持 1.5 min,第 7 min 时升为 45%,第 8 min 时升为 55%,保持 0.5 min,第 8.7 min 时降至 22%。

1.4 睾酮代谢产物分析方法

批次降解 T 实验条件下取得样品经预处理后利用超高压液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)串联四级杆飞行时间质谱(quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Q-TOF-MS)分析方法对 T 代谢产物进行定性分析。由检测到的代谢产物推测菌株 MH-B5 对 T 的降解途径。

超高压液相色谱(Ultimate3000, Waters, USA)应用 Waters C18 柱(Acquity UPLC BEH C18, 2.1 × 100 mm, 1.7 μm),流速为 0.5 mL·min⁻¹,流动相选用 A 相:3% 甲酸水;B 相:甲醇,对目标样品中的代谢产物进行分离。串联四级杆飞行时间质谱(microTOF-Q II, Bruker, Germany)在正离子模式下,应用毛细管电压 3 kV,碰撞能量 10 eV。对比睾酮已知降解产物的标准样品,推测 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 降解 T 的产物以及其降解途径。

1.5 固定化方法

1.5.1 菌悬液制备

将菌株 MH-B5 接种到灭菌后的 216 L 培养基中于 30℃、150 r·min⁻¹ 的恒温振荡培养箱中培养至对数期,并将所得菌液转移至 50 mL 离心管中,9 000 r·min⁻¹,4℃ 离心 10 min,弃除上清液后无菌水稀释成菌悬液,待用。

1.5.2 单一载体固定化方法

单一载体固定化微生物选用三乙酸纤维素作为固定化载体,具体制备方法参见文献[18]. 固定化微生物载体与菌悬液充分搅拌均匀后于甲苯溶液中交联硬化,在通风橱中置放 20 h,将成型后的固定化微生物裁剪为 1 cm × 1 cm,平均厚度为 0.3 cm 的片状待用. 用等量无菌水代替菌悬液制备空白组固定化微生物.

1.5.3 复合载体固定化方法

复合载体固定化方法采用聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA)、海藻酸钠 (sodium alginate, SA) 和高岭土 (Kaolin) 作为固定化微生物载体,具体制备方法参见文献[19]. 固定化微生物载体与菌悬液充分均匀之后于硼酸-氯化钙溶液中交联形成凝胶小

球. 用等量无菌水代替菌悬液制备空白对照组小球.

2 结果与分析

2.1 菌株 16S rRNA 基因序列分析

扩增菌株 MH-B5 的 16S rRNA 基因,测序后进行同源性分析(图 1). GenBank 中的序列登录号为 JQ723700. 同 GenBank 中的基因序列进行同源性比对分析结果表明,该菌株与交替赤杆菌属 *Altererythrobacter xinjiangensis* S3-63^T[20] 的 16S rRNA 相似度最高,为 96.63%. 同时测序结果与 EZ biocloud 数据库^[21] 比对,菌株 MH-B5 与交替赤杆菌属中其它 13 个种的模式菌株的相似度范围为 93.0% ~ 96.3%.

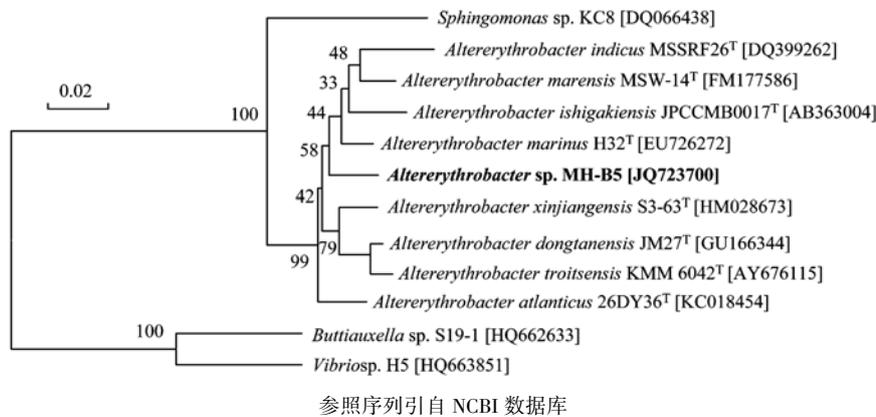


图 1 基于 16S rRNA 序列的菌株 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 系统发育树 (邻接法)

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Altererythrobacter* sp. MH-B5 based on 16S rRNA using the neighbor-joining method

2.2 pH 和盐度对 MH-B5 菌株的生长影响

菌株 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 在不同初始 pH 条件下的生长曲线(图 2)显示,其 pH 耐受范围较宽,在 pH 5.5 ~ 9.0 范围内均可以生长. 在初始 pH 5.5 时,经过相对较长时间的延滞期

后能够生长;在起始 pH 6.0 ~ 8.5 范围内,该菌可以正常生长,且生长速率较快,24 h 进入稳定生长期.

菌株 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 在不同初始盐度梯度条件下的生长曲线(图 3)显示,其盐度耐

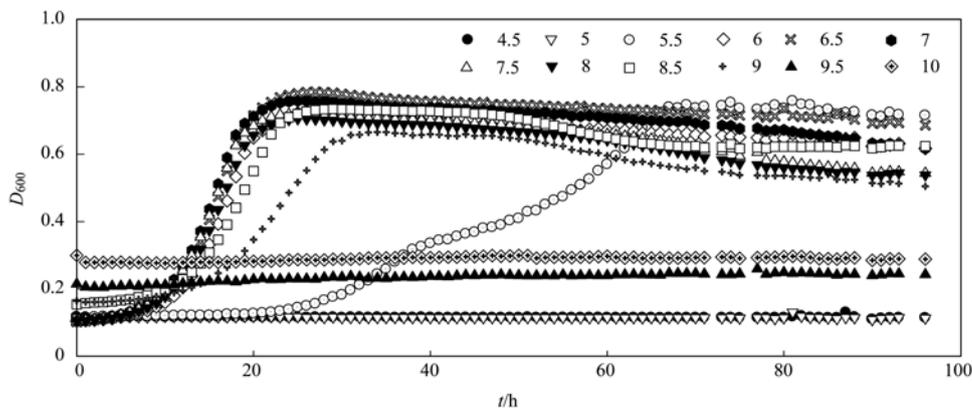


图 2 菌株 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 在不同起始 pH 条件下的生长曲线

Fig. 2 Effect of pH on the growth of *Altererythrobacter* sp. MH-B5

受范围广,在 0 ~ 7% 范围内均可以生长. 盐度为 6% ~ 7% 时,菌株经过近 24 h 延滞期后能够生长;

盐度范围在 1% ~ 4% 内,该菌生长良好,且生长速率较快,18 h 进入稳定生长期.

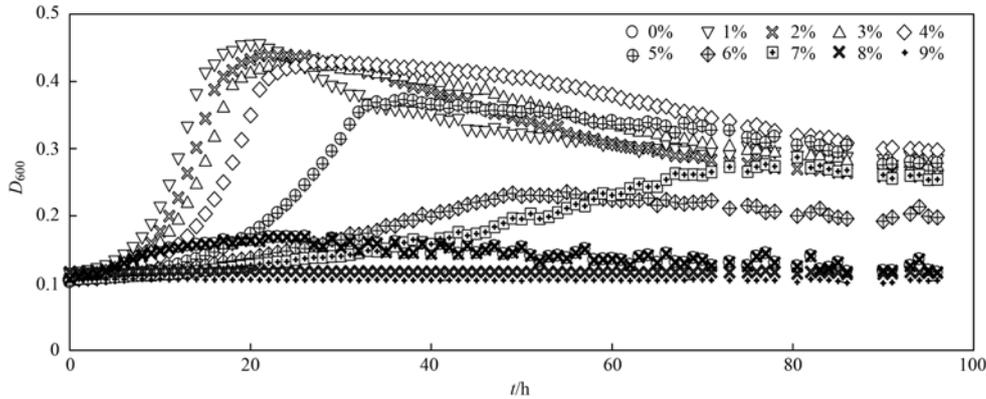


图 3 菌株 *Altererythro bacter sp. MH-B5* 在不同起始盐度条件下的生长曲线

Fig. 3 Effect of salinity on the growth of *Altererythro bacter sp. MH-B5*

2.3 MH-B5 菌株对类固醇激素降解特性

Altererythro bacter sp. MH-B5 经富集培养后接种至含有 E2、E3、EE2 和 T 的无菌陈海水中进行降解能力实验. 实验结果(图 4)表明, *Altererythro bacter sp. MH-B5* 对雄激素 T 和天然雌激素 E2、E3 以及 E2 初级代谢产物 E1 有较强的降解能力,而对人工合成类固醇激素 EE2 无降解能力. 实验过程中对照组浓度无明显变化.

Altererythro bacter sp. MH-B5 对 E2 的降解结果如图 4(a) 所示,该菌在 3 h 时将 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 200 mL 陈海水体系中的 E2 完全降解,与此同时降解体系中检测到了 E2 的初级代谢产物 E1. E1 的浓度随着反应时间的延续而降低,在 24 h 时被全部降解.

Altererythro bacter sp. MH-B5 对 E3 同样具有降解能力 [图 4(b)],在降解实验前 8 h 该菌对 E3 的降解效率较快,之后降解速率放缓,24 h 时去除率达 100%. 实验过程中无其他产物被检测到. 该菌对 T 的降解特性与 E3 类似,24 h 之内可将 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 200 mL 陈海水体系中的 T 完全降解.

2.4 菌株 MH-B5 对 T 降解途径分析

将 *Altererythro bacter sp. MH-B5* 接种至含有 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ T 的陈海水培养基中,恒温摇床 ($150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 30°C) 培养 6 h 后的样品经 UPLC-Q/TOF-MS 检测,发现 4 种物质峰如图 5 所示. 根据甾酮代谢产物标准样品的保留时间和特征离子推测样品中物质峰分别为: ADD、DHT、AD 和 T 这 4 种物质(表 1).

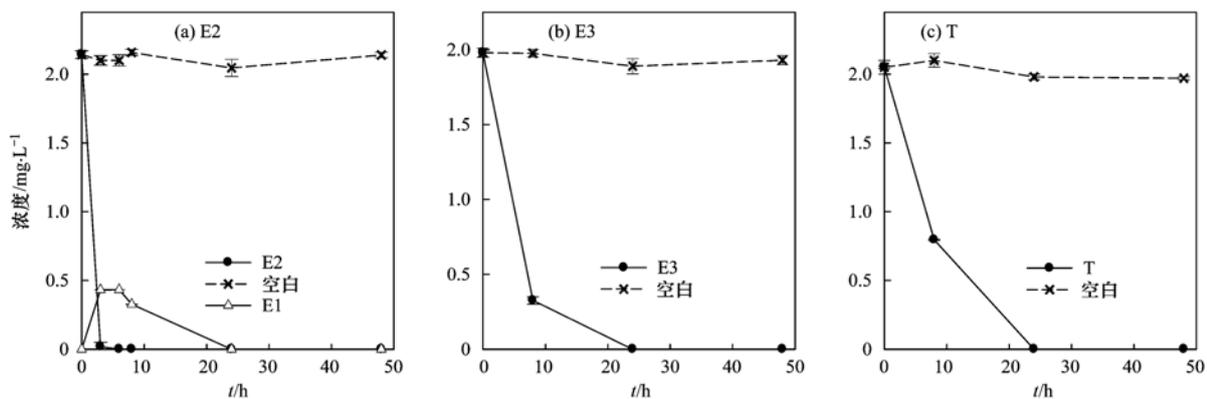


图 4 *Altererythro bacter sp. MH-B5* 对常见类固醇激素的降解曲线

Fig. 4 Biodegradation of common steroid hormones by *Altererythro bacter sp. MH-B5*

2.5 微生物固定化技术应用

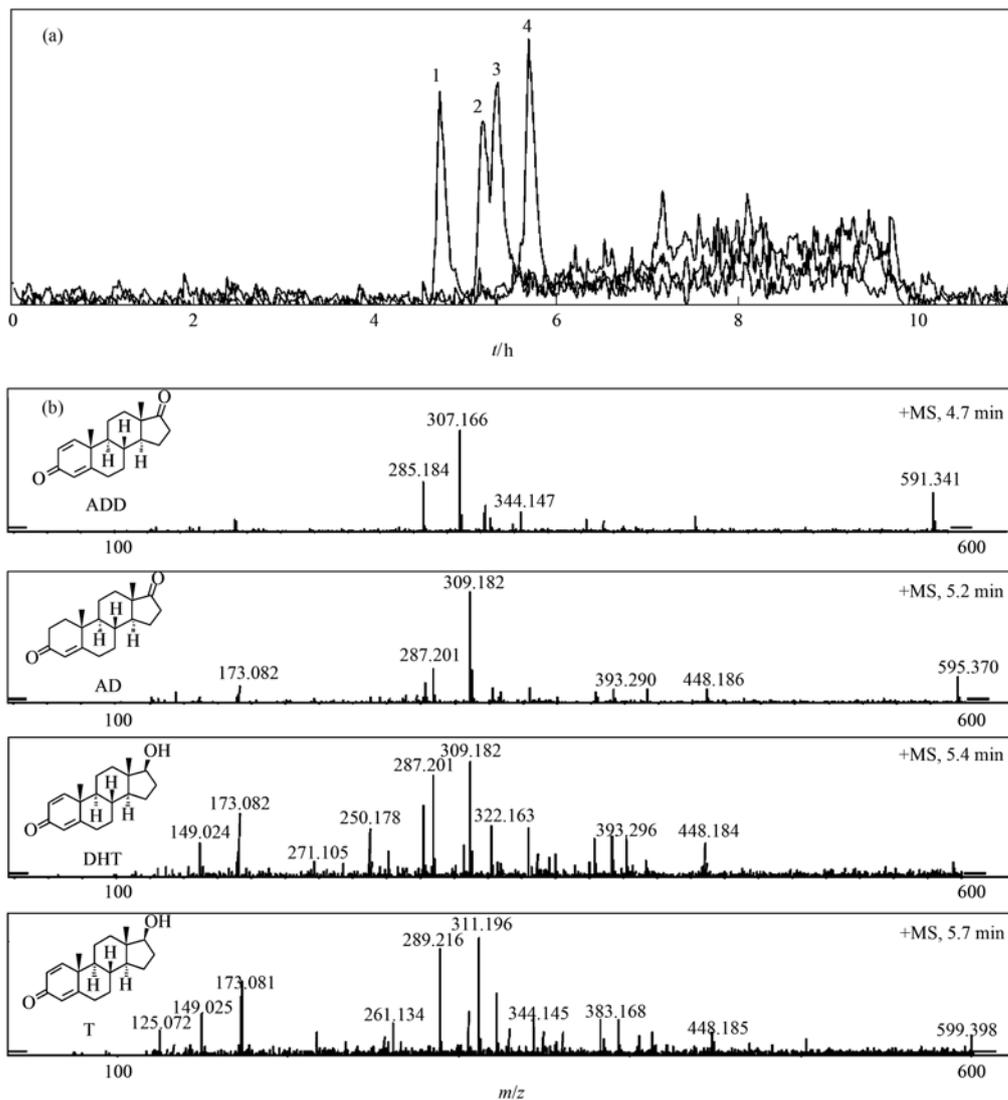
应用复合载体和单一载体两种方法分别制备 *Altererythro bacter sp. MH-B5* 固定化微生物颗粒,并验证两种不同载体的固定化微生物颗粒对 E2 的降

解能力,实验结果表明 *Altererythro bacter sp. MH-B5* 经固定化包埋后仍然可以降解 E2 及其代谢产物 E1.

复合载体固定化微生物颗粒降解 E2 的实验结

表 1 推测 *Altererythroacter* sp. MH-B5 降解 T 的代谢产物Table 1 Proposed metabolites of testosterone biodegradation by *Altererythroacter* sp. MH-B5

峰	t_R /min	推测分子式	推测产物	m/z
1	4.6	$C_{19}H_{24}O_2$	ADD	285.2
2	5.1	$C_{19}H_{26}O_2$	DHT	287.0
3	5.3	$C_{19}H_{26}O_2$	AD	287.2
4	5.6	$C_{19}H_{28}O_2$	T	289.2



(a) 色谱图和 (b) 质谱图

图 5 T 降解产物 LC-Q/TOF-MS 提取离子色谱图和质谱图

Fig. 5 Extracted ion and mass chromatograms obtained by LC-Q/TOF-MS analysis of testosterone biodegradation

果如图 6(a) 所示,在 0~8 h 过程中,E2 浓度迅速由 $2.16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $0.122 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,去除率达 94.3%,24 h 内 E2 去除率达 100%。降解过程中检测到 E1 产生,其浓度在 8 h 达到峰值而后急速下降,24 h 之内可被 *Altererythroacter* sp. MH-B5 复合载体固定化微生物颗粒完全去除。空白对照组中 E2 的浓度

也降低了 11.5%。

单一载体固定化微生物颗粒对 E2 的降解结果 [图 6(b)] 显示 72 h 内 E2 被完全去除。降解过程中未检测到 E1。0~8 h 过程中实验组与对照组对 E2 的去除率分别为 27.5% 和 20.6%;8~72 h 实验组中的 E2 去除率逐渐上升直至完全降解,同时

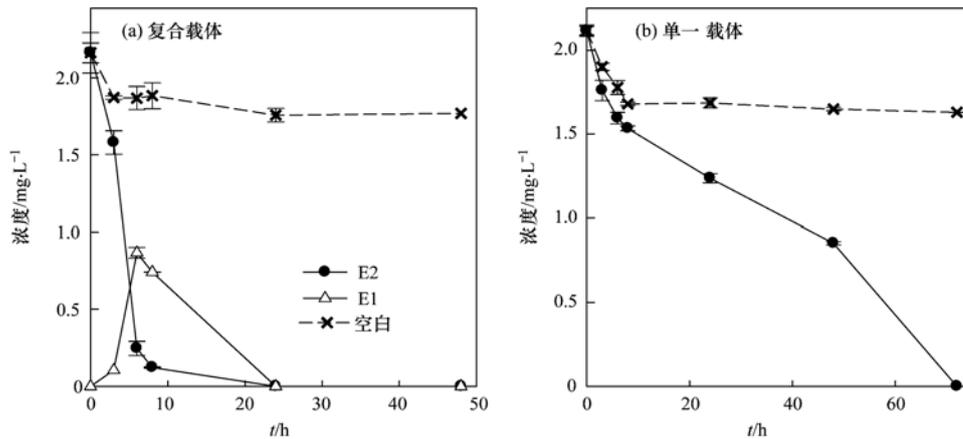


图6 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 固定化微生物颗粒对 E2 的降解曲线

Fig. 6 Biodegradation of E2 by immobilized *Altererythrobacter* sp. MH-B5

对照组中 E2 的浓度无明显下降。

3 讨论

本研究从人工咸水湖中分离得到 1 株具有类固醇激素降解功能菌株 MH-B5, 16S rRNA 基因序列比对分析显示该菌株与交替赤杆菌属中的 16 个模式菌株相似度均低于新种阈值 98.5%^[22], 这一结果表明菌株 MH-B5 可能为交替赤杆菌属的一个新种。目前已报道的类固醇激素海水降解菌 *Vibrio* sp. H5^[23] 和 *Buttiauxella* sp. S19-1^[24] 均属于 γ -变形菌纲, 与菌株 MH-B5 分类学进化地位差异大, 见图 1。同时耐盐菌株 MH-B5 与淡水环境中分离得到的具有类固醇激素降解能力的菌株如分离自活性污泥的 *Sphingomonas* sp. KC8^[11] 亲缘关系较远。

生长特性测定结果显示在盐度为 0 时菌株有微弱生长, 说明其在淡水环境中有生长可能性, 这一特质可能由于菌株 MH-B5 分离自人工咸水湖, 湖水的盐度从与入海口连接处到内湖依次递减。菌株 MH-B5 在盐度梯度 1% ~ 4% 范围内生长良好, 适于海水及盐度梯度变化较大的入海口水域中生长。

降解实验证实 *Altererythrobacter* sp. MH-B5 对 E2 的降解过程中有 E1 产生, 这一降解特性与分离自淡水环境的类固醇雌激素降解菌类似^[8]。进一步的实验结果(数据未展示)表明该菌可利用 E1 为唯一碳源进行生长。E1 作为 E2 的代谢产物仍然具有雌激素活性, 单纯将 E2 转化为 E1 的微生物过程难以有效去除环境中类固醇激素污染。隋倩等^[25] 研究结果指出 E1 是我国污水处理厂中需优先控制的 4 种内分泌干扰物之一。因此菌株 MH-B5 对 E2 以及 E2 初级代谢产物 E1 的降解特性对于咸水环

境中类固醇雌激素污染的修复具有一定的优越性。

Altererythrobacter sp. MH-B5 对 T 降解过程中, 通过 LC-Q/TOF-MS 结果检测到 AD、DHT 和 ADD 这 3 种降解产物, 从而推测菌株 MH-B5 对 T 的降解过程如图 7 所示: T 首先经过生物催化反应, 在 $3\beta/17\beta$ -OH 羟基类固醇脱氢酶的作用下发生脱氢氧化反应生成 AD (1-2, 图 7) 和 DHT (1-1, 图 7)。DHT 和 AD 进一步被生物降解生成产物 ADD (2 和 3, 图 7)。研究中未发现其他降解产物, 这可能是由于其他产物浓度过低所致。睾酮的降解途径已被广泛报道, 不同种类的微生物如: *Corynebacterium equi*^[26] 和 *Rhodococcus*^[27] 等均可以将 ADD 进一步转化为 9α -OH-AD (4, 图 7), 之后经过自发裂解等反应 (5, 图 7), 最终矿化成 CO₂ 和水。Yang 等^[28] 利用从猪粪便中富集到的微生物对 T 的降解途径进行研究, 检测到 6 种降解产物并推测 T 的生物降解途径, 结果与本文相同。

Altererythrobacter sp. MH-B5 经两种不同方法进行固定化后仍然可以降解 E2 和其中间产物 E1。复合载体固定化微生物颗粒降解 E2 的速度较单一载体固定化微生物颗粒快, 准一阶降解速率分别为 0.2285 h^{-1} ($R^2 = 0.8793$) 和 0.0185 h^{-1} ($R^2 = 0.9205$), 这一结果可能由于被包埋微生物在固定化过程中的存活率, 固定化之后微生物的活性以及固定化载体的传质效率不同而导致。实验过程中发现单一载体固定化微生物较复合载体固定化微生物的机械强度高, 具有重复使用过程中不易裂解的优势, 这为分离纯化的类固醇降解菌在自然环境中的应用提供了可能。然而对耐盐菌株进行固定化并研究其降解类固醇激素的降解属于首次报道, 因此如

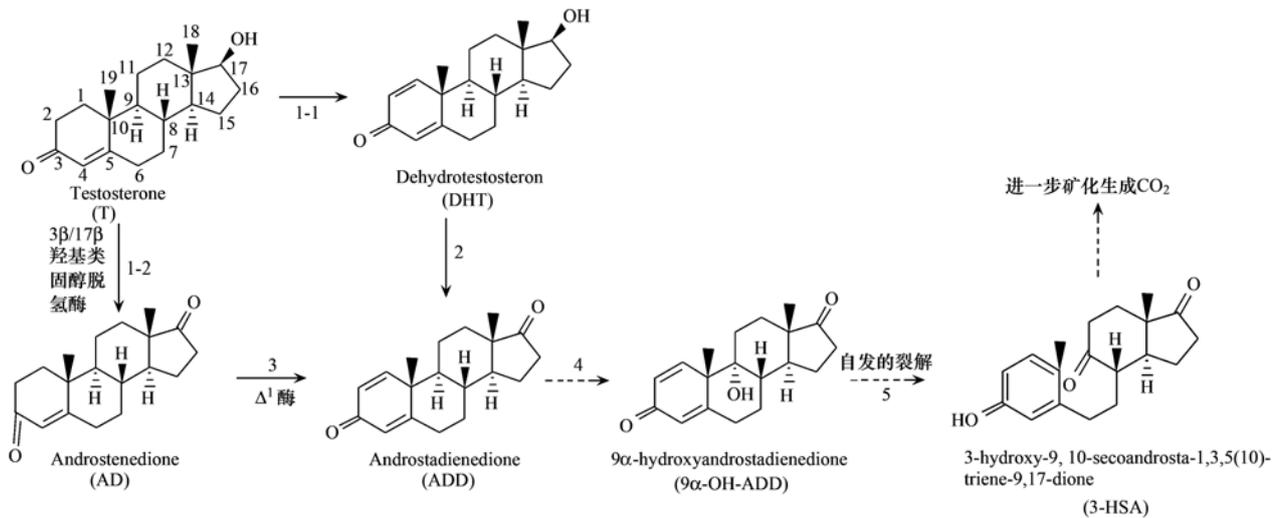


图7 *Altererythrobacter sp.* MH-B5 对睾酮降解途径推测

Fig. 7 Proposed catabolic pathway of testosterone degradation by *Altererythrobacter sp.* MH-B5

何优化固定化微生物的制备条件提高其降解速率还需要更深入地研究。

4 结论

从咸水湖中分离得到 *Altererythrobacter sp.* MH-B5 是 1 株对 E1、E2、E3 和 T 具有较高降解能力的耐盐菌株,并且是属于交替赤杆菌属的 1 株潜在新种。其能降解天然雌激素和雄激素睾酮。固定化微生物技术为受类固醇激素污染的咸水环境提供了潜在的生物修复方式。

参考文献:

- [1] Jobling S, Williams R, Johnson A, *et al.* Predicted exposures to steroid estrogens in U. K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, **114**(S1): 32-39.
- [2] McCarty P L, Reinhard M, Rittmann B E. Trace organics in groundwater [J]. *Environmental Science & Technology*, 1981, **15**(1): 40-51.
- [3] Rittmann B E, Jackson D, Storck S L, *et al.* Potential for treatment of hazardous organic chemicals with biological processes [A]. In: Wise D L (Ed). *Biotreatment systems. Volume III* [M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1988: 15-64.
- [4] Stamm C, Eggen R I L, Hering J G, *et al.* Micropollutant removal from wastewater: facts and decision-making despite uncertainty [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(11): 6374-6375.
- [5] Andersen H, Siegrist H, Halling-Sørensen B, *et al.* Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**(18): 4021-4026.
- [6] 周海东, 黄霞, 王晓琳, 等. 北京市城市污水雌激素活性的研究 [J]. *环境科学*, 2009, **30**(12): 3590-3595.
- [7] Basile T, Petrella A, Petrella M, *et al.* Review of endocrine-disrupting-compound removal technologies in water and wastewater treatment plants: An EU perspective [J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2011, **50**(14): 8389-8401.
- [8] Yu C P, Deeb R A, Chu K H. Microbial degradation of steroidal estrogens [J]. *Chemosphere*, 2013, **91**(9): 1225-1235.
- [9] Fujii K, Kikuchi S, Satomi M, *et al.* Degradation of 17 β -estradiol by a gram-negative bacterium isolated from activated sludge in a sewage treatment plant in Tokyo, Japan [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(4): 2057-2060.
- [10] Hashimoto T, Onda K, Morita T, *et al.* Contribution of the estrogen-degrading bacterium *Novosphingobium sp.* strain JEM-1 to estrogen removal in wastewater treatment [J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2010, **136**(9): 890-896.
- [11] Yu C P, Roh H, Chu K H. 17 β -Estradiol-degrading bacteria isolated from activated sludge [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41**(2): 486-492.
- [12] Iasur-Kruh L, Hadar Y, Minz D. Isolation and bioaugmentation of an estradiol-degrading bacterium and its integration into a mature biofilm [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(11): 3734-3740.
- [13] Kurisu F, Ogura M, Saitoh S, *et al.* Degradation of natural estrogen and identification of the metabolites produced by soil isolates of *Rhodococcus sp.* and *Sphingomonas sp.* [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, **109**(6): 576-582.
- [14] Ke J X, Zhuang W Q, Gin K Y H, *et al.* Characterization of estrogen-degrading bacteria isolated from an artificial sandy aquifer with ultrafiltered secondary effluent as the medium [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **75**(5): 1163-1171.
- [15] Atkinson S, Atkinson M J, Tarrant A M. Estrogens from sewage in coastal marine environments [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2003, **111**(4): 531-535.
- [16] Zhang X, Li Q Z, Li G X, *et al.* Levels of estrogenic compounds

- in Xiamen Bay sediment, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2009, **58**(8): 1210-1216.
- [17] Lai Q L, Yuan J, Wu C L, *et al.* *Oceanibaculum indicum* gen. nov., sp. nov., isolated from deep seawater of the Indian Ocean [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, **59**(7): 1733-1737.
- [18] Yang P Y, Cai T D, Wang M L. Immobilized mixed microbial cells for wastewater treatment[J]. *Biological Wastes*, 1988, **23**(4): 295-312.
- [19] Cheng Y, Lin H Y, Chen Z L, *et al.* Biodegradation of crystal violet using *Burkholderia vietnamiensis* C09V immobilized on PVA-sodium alginate-kaolin gel beads [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, **83**: 108-114.
- [20] Xue X Q, Zhang K D, Cai F, *et al.* *Altererythrobacter xinjiangensis* sp. nov., isolated from desert sand, and emended description of the genus *Altererythrobacter* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, **62**(1): 28-32.
- [21] Kim O S, Cho Y J, Lee K, *et al.* Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, **62**(3): 716-721.
- [22] Kim M, Oh H S, Park S C, *et al.* Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, **64**(2): 346-351.
- [23] Sang Y Y, Xiong G M, Maser E. Identification of a new steroid degrading bacterial strain H5 from the Baltic Sea and isolation of two estradiol inducible genes [J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, **129**(1-2): 22-30.
- [24] Zhang T D, Xiong G M, Maser E. Characterization of the steroid degrading bacterium S19-1 from the Baltic Sea at Kiel, Germany [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2011, **191**(1-3): 83-88.
- [25] 隋倩, 黄俊, 余刚. 中国城市污水处理厂内分泌干扰物控制优先性分析[J]. *环境科学*, 2009, **30**(2): 384-390.
- [26] Mutafov S, Angelova B, Avramova T, *et al.* The inducibility of 9 α -steroid hydroxylating activity in resting *Rhodococcus* sp. cells [J]. *Process Biochemistry*, 1997, **32**(7): 585-589.
- [27] Turuta A M, Fadeeva T M, Kamernitskii A V. Transformed steroids 188. Synthesis routes for 11B-hydroxy-substituted 16-dehydro-, 17B-hydroxy-and 16 α , 17 α , -epoxypregnanes based on 17 α -ethynyl-11B-dihydroxyandrostanes [J]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1992, **26**(3): 285-289.
- [28] Yang Y Y, Pereyra L P, Young R B, *et al.* Testosterone-mineralizing culture enriched from swine manure: Characterization of degradation pathways and microbial community composition [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(16): 6879-6886.

CONTENTS

Characterization of Water-soluble Ions in PM _{2.5} of Beijing During 2014 APEC	YANG Dong-yan, LIU Bao-xian, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (4325)
PM _{2.5} Background Concentration at Different Directions in Beijing in 2013	LI Yun-ting, CHENG Nian-liang, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (4331)
Comparative Analysis on the Improvement of Air Quality in Beijing During APEC	LI Wen-tao, GAO Qing-xian, LIU Jun-rong, <i>et al.</i> (4340)
Weekend Effect in Distributions of Particulate Matters, Main Gas Pollutants and Aerosol Size in Spring of Jiaxing	SHEN Li-juan, WANG Hong-lei, LÜ Sheng, <i>et al.</i> (4348)
Influence of Burning Fireworks on Air Quality During the Spring Festival in the Pearl River Delta	ZHAO Wei, FAN Shao-jia, XIE Wen-zhang, <i>et al.</i> (4358)
Characteristic of Mercury Emissions and Mass Balance of the Typical Iron and Steel Industry	ZHANG Ya-hui, ZHANG Cheng, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (4366)
Magnetic Response of Dust-loaded Leaves in Parks of Shanghai to Atmospheric Heavy Metal Pollution	LIU Fei, CHU Hui-min, ZHENG Xiang-min (4374)
Characteristics and Resources of Fly Ash Particles in the Snowpack of Jinfo Mountain, Chongqing	YU Zheng-liang, YANG Ping-heng, JING Wei-li, <i>et al.</i> (4381)
Removal of Mixed Waste Gases by a Biotrickling Filter Packed with a Novel Combined Packing Material	MEI Yu, CHENG Zhuo-wei, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (4389)
Low-Concentration CO ₂ Adsorption on Polyaniline/Zeolite Y Composites	LIU Feng-ling, LU Xia, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (4396)
Chemical Characteristics of Atmospheric Wet Deposition in Winter and Its Forestry Canopy Interception Mechanism in Red Soil Hilly Area	HAO Zhuo, GAO Yang, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (4403)
Dynamic Characteristics of Base Cations During Wet Deposition in Evergreen Broad-leaf Forest Ecosystem	AN Si-wei, SUN Tao, MA Ming, <i>et al.</i> (4414)
Estimation of Diffuse Attenuation Coefficient of Photosynthetically Active Radiation in Xin'anjiang Reservoir Based on Landsat 8 Data	ZHANG Yi-bo, ZHANG Yun-lin, ZHA Yong, <i>et al.</i> (4420)
Spatial Distribution of Stable Isotopes in Particle Organic Matters and Sediments from Baishi Reservoirs	GUO Kai, ZHAO Wen, WANG Shan, <i>et al.</i> (4430)
Response of Phytoplankton Functional Groups to Eutrophication in Summer at Xiaoguan Reservoir	LI Lei, LI Qiu-hua, JIAO Shu-lin, <i>et al.</i> (4436)
Environmental Effect of Substrate Amelioration on Lake; Effects on <i>Phragmites communis</i> Growth and Photosynthetic Fluorescence Characteristics	YU Ju-hua, ZHONG Ji-cheng, FAN Cheng-xin, <i>et al.</i> (4444)
Variation Characteristics of Cave Water Hydrogeochemistry in Naduo Cave of Guizhou and Its Implications for Environment Research	SHEN Wei, WANG Jian-li, WANG Jia-lu, <i>et al.</i> (4455)
Response Mechanism of Trace Metals in the Bishuiyan Subterranean River to the Rainfall and Their Source Analysis	ZOU Yan-e, JIANG Ping-ping, ZHANG Qiang, <i>et al.</i> (4464)
Residue Concentration and Distribution Characteristics of Perfluorinated Compounds in Surface Water from Qiantang River in Hangzhou Section	ZHANG Ming, TANG Fang-liang, YU Ya-yun, <i>et al.</i> (4471)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers in the Surface Sediments from Middle Reaches of the Yangtze River	TIAN Qi-chang, TANG Hong-bo, XIA Dan, <i>et al.</i> (4479)
Pollution Characteristics and Potential Ecological Risk of Heavy Metals in Urban Surface Water Sediments from Yongkang	QI Peng, YU Shu-quan, ZHANG Chao, <i>et al.</i> (4486)
Effects of Citric Acid on Activation and Methylation of Mercury in the Soils of Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	QIN Cai-qing, LIANG Li, YOU Rui, <i>et al.</i> (4494)
Impacts of Microorganisms on Degradation and Release Characteristics of Organic Phosphorus in Lake Sediments During Freezing Season	ZUO Le, LÜ Chang-wei, HE Jiang, <i>et al.</i> (4501)
Sedimentary Phosphorus Forms Under Disturbances and Algae in Taihu Lake	CHEN Jun, LI Da-peng, ZHU Pei-ying, <i>et al.</i> (4509)
Interception Effect of Vegetated Drainage Ditch on Nitrogen and Phosphorus from Drainage Ditches	ZHANG Shu-nan, XIAO Run-lin, LIU Feng, <i>et al.</i> (4516)
Removal of Phosphate by Calcite in Open-System	LI Zhen-xuan, DIAO Jia-yong, HUANG Li-dong, <i>et al.</i> (4523)
Adsorption of Cu on Core-shell Structured Magnetic Particles: Relationship Between Adsorption Performance and Surface Properties	LI Qiu-mei, CHEN Jing, LI Hai-ning, <i>et al.</i> (4531)
Shortcut Nitrosation-Denitrifying Phosphorus Removal Based on High-quality Carbon Source in Combined Process of CAMBR	CHENG Ji-hui, WU Peng, CHENG Chao-yang, <i>et al.</i> (4539)
Simultaneous Biotransformation of Ammonium and Nitrate via Zero-Valent Iron on Anaerobic Conditions	ZHOU Jian, HUANG Yong, YUAN Yi, <i>et al.</i> (4546)
Health Risk Assessment of Drinking Water Quality in Tianjin Based on GIS	FU Gang, ZENG Qiang, ZHAO Liang, <i>et al.</i> (4553)
Endotoxin Contamination and Correlation with Other Water Quality Parameters of Groundwater from Self-Contained Wells in Beijing	ZHANG Can, LIU Wen-jun, AO Lu, <i>et al.</i> (4561)
Internal Exposure Levels of PAHs of Primary School Students in Guangzhou	SU Hui, ZHAO Bo, ZHANG Su-kun, <i>et al.</i> (4567)
Construction of Three-Dimensional Isobologram for Ternary Pollutant Mixtures	LIU Xue, LIU Shu-shen, LIU Hai-ling (4574)
Aging Law of PAHs in Contaminated Soil and Their Enrichment in Earthworms Characterized by Chemical Extraction Techniques	ZHANG Ya-nan, YANG Xing-lun, BIAN Yong-rong, <i>et al.</i> (4582)
Spatial Heterogeneity of Soil Respiration in a Larch Plantation of North China at Different Sampling Scales	YAN Jun-xia, LIANG Ya-nan, LI Hong-jian, <i>et al.</i> (4591)
Mapping Critical Loads of Heavy Metals for Soil Based on Different Environmental Effects	SHI Ya-xing, WU Shao-hua, ZHOU Sheng-lu, <i>et al.</i> (4600)
Stabilization Treatment of Pb and Zn in Contaminated Soils and Mechanism Studies	XIE Wei-qiang, LI Xiao-ming, CHEN Can, <i>et al.</i> (4609)
Effects of ZnO Nanoparticles, ZnSO ₄ and Arbuscular Mycorrhizal Fungus on the Growth of Maize	LI Shuai, LIU Xue-qin, WANG Fa-yuan, <i>et al.</i> (4615)
Occurrence Characteristics of Pyrene and Arsenate and Their Interaction in <i>Pteris vittata</i> L.	ZHANG Yu-xiu, MA Xu, LIAO Xiao-yong, <i>et al.</i> (4623)
Effect of Nano Zeolite on Chemical Fractions of Cd in Soil and Its Uptake by Cabbage	XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, XIE Wen-wen, <i>et al.</i> (4630)
Effect of Ryegrass and Arbuscular Mycorrhizal on Cd Absorption by Varieties of Tomatoes and Cadmium Forms in Soil	CHEN Yong-qin, JIANG Ling, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (4642)
Degradation of Steroidal Hormones by Salt-tolerant <i>Altererythrobacter</i> Strain MH-B5; Degradation Characteristics, Metabolites and Its Immobilization	MA Cong, QIN Dan, SUN Qian, <i>et al.</i> (4651)
Distribution and Diversity of Ammonium-oxidizing Archaea and Ammonium-oxidizing Bacteria in Surface Sediments of Oujiang River	LI Hu, HUANG Fu-yi, SU Jian-qiang, <i>et al.</i> (4659)
Effects of Different Altitudes on Soil Microbial PLFA and Enzyme Activity in Two Kinds of Forests	ZENG Qing-ping, HE Bing-hui, MAO Qiao-zhi, <i>et al.</i> (4667)
Effects of Cultivation Soil Properties on the Transport of Genetically Engineered Microorganism in Huabei Plain	ZHANG Jing, LIU Ping, LIU Chun, <i>et al.</i> (4676)
Assessment of Emission and Co-Reduction of PCDD/Fs and PCNs in the Secondary Copper Production Sector	TIAN Ya-jing, JIANG Chen, WU Guang-long, <i>et al.</i> (4682)

《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

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2015年12月15日 第36卷 第12期(卷终)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 12 Dec. 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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. 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

国内外公开发行人