

组合介质中太湖土著溶藻菌的优势度分析

李云晖¹, 刘冉¹, 浦跃朴¹, 于光¹, 尹立红¹, 吕锡武²

摘要: [目的] 从太湖除藻中试装置中分离筛选具有高效降解微囊藻效果的土著溶藻菌, 应用种属特异的 *16S rDNA* 对其在组合介质和自然环境中的优势度进行分析。[方法] 采集太湖除藻中试装置的组合介质, 分离筛选溶藻效果达到 40% 以上的溶藻菌菌株, 应用针对 *16S rDNA* 基因的种属特异引物对所筛选溶藻菌进行种属鉴定, 采用实时荧光定量 PCR 技术对相应种属细菌进行优势度分析。[结果] 在分离筛选出的 20 株溶藻菌中有: 芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 7 株、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 4 株、弧菌属 (*Vibrio*) 3 株, 这 3 类细菌在人工组合介质中的优势度分别占总细菌的比例为 4.06%、3.10%、6.27%; 占同期自然环境 (太湖底泥) 样本总细菌的比例分别为 0.51%、1.78%、7.55%。其中, 芽孢杆菌属在人工介质与太湖底泥中的分布差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。[结论] 太湖除藻中试装置中人工介质上的土著溶藻菌主要为芽孢杆菌属、假单胞菌属和弧菌属, 其中芽孢杆菌属在人工介质上的优势度显著高于其在底泥上有优势度。

关键词: 溶藻菌; *16S rDNA*; 铜绿微囊藻; 优势细菌种群; 微生物修复

Dominance Analysis of Algicidal Bacteria in Artificial Medium from Lake Taihu LI Yun-hui, LIU Ran, PU Yue-pu, YU Guang, YIN Li-hong, LÜ Xi-wu (School of Public Health, Southeast University, Jiangsu, Nanjing 210009, China)

Abstract: [Objective] To characterize and identify indigenous algicidal bacteria isolated from the artificial medium of algae-removing pilot study in Lake Taihu and to analyze the dominance of bacteria in the artificial medium and lake sediment. [Methods] The algicidal bacteria were isolated from the artificial medium and genus-specific PCR based on *16S rDNA* gene were applied to identify the dominant bacteria colony. The dominance of bacteria in the artificial medium and lake sediment were determined with a real-time quantitative PCR assay. [Results] There were seven strains of *Bacillus*, four strains of *Pseudomonas* among the twenty strains of algicidal bacteria isolated. The dominance of *Bacillus* and *Pseudomonas* in the artificial medium was 4.06% and 3.10%, respectively, which accounted for 7.16% of the total bacterial population. Additionally, the dominance of genera as above in sediments was 0.51% and 1.78%, respectively. The statistic analysis exhibited that there was significant difference between the dominance of bacteria in artificial medium and that in sediments ($P = 0.028$). [Conclusion] The main indigenous algicidal types include *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Vibrio* in the artificial medium of algae-removing pilot study in Lake Taihu. The dominance of *Bacillus* in the artificial medium is significant higher than that in sediments, which suggesting that artificial medium has the important enrichment effect on *Bacillus* and play an important role in the microbial remediation of eutrophic water.

Key Words: algicidal bacteria; *16S rDNA*; *Microcystis aeruginosa*; dominant bacteria colony; microbial remediation

近年来, 我国的许多湖泊、水库中由藻类及其代谢物引发的富营养化污染问题已经严重影响了饮水质量、水产养殖和旅游观光^[1]。在湖泊除藻治理方法上, 生物除藻技术得到了很好的发展和应用。由于土著菌符合当地细菌增殖环境营养条件、可较好地防止菌种退化和消失, 因此从富营养化湖泊中分离获

得土著溶藻菌作为水华和赤潮防治的可能微生物, 已得到普遍关注和认同^[2]。

本研究拟利用在太湖建立的除藻中试装置, 从已挂膜并经一段时期运行的人工组合介质上分离、筛选经过数次太湖水华自然驯化后的土著溶藻菌, 应用种属特异的 *16S rDNA* 对溶藻效果较好的 20 株细菌进行初步鉴定, 以明确太湖溶藻菌的种属类型; 同时本研究拟采用实时荧光定量 PCR 技术分析人工组合介质和自然条件下太湖底泥中上述种属细菌在总细菌中的优势度, 以期明确人工组合介质 (以下统称组合介质) 对溶藻菌的富集效果。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

试验中所用 4 株标准菌株: 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas*

基金项目: 江苏省自然科学基金 (编号: BK2005068)、教育部博士点专项科研基金 (编号: 20050286035)、江苏省“333 工程”科研项目 (编号: 苏人才办[2007]16 号)

作者简介: 李云晖 (1968-), 男, 副教授, 博士生, 研究方向: 水环境处理

***通讯作者** (Correspondent author): 浦跃朴教授, E-mail: yppu@seu.edu.cn

作者单位: 1. 东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009; 2. 东南大学能源与环境科学学院, 江苏 南京 210096

aeruginosa)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)由江苏省疾病预防控制中心赠送。

主要试剂: SYBR Green I Master Mix 为 Toyobo 公司出品; 应用仪器有 Gene Quant DNA/RNA 浓度测定仪(Pharmacia Biotech)、ChemilmagerTM5500 凝胶成像分析仪(Alpha Innotech)、ABI 7300 荧光定量 PCR 仪。

微囊藻培养基(BG11 培养基, pH=7.1): NaNO_3 1.5 g/L、 K_2HPO_4 0.04 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.036 g/L、柠檬酸 0.006 g/L、柠檬酸铁铵 0.006 g/L、 Na_2EDTA 0.001 g/L、 Na_2CO_3 0.02 g/L、 H_3BO_3 0.002 86 g/L、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001 81 g/L、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.000 22 g/L、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.000 39 g/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000 08 g/L、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.000 05 g/L

1.2 试验样本

1.2.1 介质的采集 试验基地设于太湖梅梁湾岸边, 将悬挂有组合介质的除藻中试装置^[3]置于太湖水体中。本试验采用经过前期试验筛选的^[3]效果较好的组合介质, 该介质由四周穿结醛化维纶丝的骨架、中心绳和空隔套管组成。介质的采集选择在反应器中间纵面的中段, 采集量为 5~8 g, 采集时间为 2007 年 7 月 29 日。

1.2.2 底泥的采集 选取的采样点位于试验基地梅梁湾的中心(31°26'34"N, 120°11'47"E)。用柱状采样器(直径 5.5 cm)采集底泥, 将最上层的 2 cm 泥柱切下, 密封带回实验室作为试验样品。

1.3 试验方法

1.3.1 溶藻菌的分离与筛选 将采集的组合介质, 经处理后与微囊藻培养液混合培养。培养环境为(28±2)℃、光照强度(1500~2000)Lx、光暗周期 14h/10h。数天后, 将黄化的藻液稀释, 涂布在营养琼脂平板上, 30℃培养, 逐日观察菌落形态。根据菌落的色泽、表面形状、隆起状况、边缘形状、透明感来判断菌落类型, 获得具有不同形态的单个菌落。此为溶藻菌的初步分离。

将不同的单个菌落进行培养, 然后取菌液以一定的比例加入藻液中, 按照上述的培养条件培养 2~3 d 后, 挑选出藻液黄化明显的样品, 反复作平板涂布纯化, 并进行液体溶藻试验, 通过镜下计数微囊藻的存活细胞数, 计算溶藻率, 最后筛选出 48 h 溶藻率达到 40% 以上的溶藻菌菌株。溶藻率按下式计算: 溶藻率(%)=[(对照组藻细胞的存活数-试验组藻细胞存活数)/对照组藻细胞存活数]×100。每个试验组或对照组设 3 个平行样本。

1.3.2 基于 16S rDNA 的 PCR 技术对溶藻菌的初步鉴定 ①分离溶藻菌和标准菌株 DNA 的提取和纯化: 取 1.5~2.0 mL 培养 24 h 的菌液, 4000 r/min 离心 10 min, 离心半径为 83 mm, 弃上清, 用酚-氯仿法提取 DNA。37℃将 DNA 烘至半干, Tris-EDTA 缓冲液(TE)溶解, -20℃保存, 备用。②样本 DNA 的提取纯化: 将采集的组合介质在无菌条件下剪碎, 经涡流混匀、超声振荡 15 min、过滤后, 用酚-氯仿法提取总细菌基因组 DNA。取同期采集的太湖自然水体的底泥样本 5 mL, 用酚-氯仿法提取总细菌基因组 DNA。③应用种属特异 16S rDNA 对所筛选溶藻菌的鉴定: 采用针对不同细菌种属的 16S rDNA 基因设计的

特异性引物对从组合介质分离的溶藻菌基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 根据特异性片段的扩增结果判断相应细菌的种属。

各种属特异引物序列详见表 1, PCR 反应体系为: 10×buffer 2 μL、 MgCl_2 2.0 mmol/L、特异性引物各 20 pmol、10×dNTP 0.4 μL、Taq 聚合酶 1 U、基因组 DNA 1 μL, 加水补足终体积至 20 μL。PCR 反应条件为 95℃预变性 5 min, 然后进行 35 个循环(95℃, 1 min; 最适退火温度, 1 min; 72℃, 1 min), 最后 72℃延伸 10 min。扩增产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳。

表 1 种属特异 16S rDNA 基因扩增引物序列

Table 1 Primer sequences of genus-specific 16S rDNA genes in the present study

菌种 Genus	序列 Sequence	扩增片段 Amplicon size	退火温度 (℃) Annealing temperature	参考文献 Reference
总细菌 (USU)	F: 5'-AACTGGAGGAAGGTGGGCA-3' R: 5'-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3'	370 bp	64	[4]
假单胞菌属 (PSE)	F: 5'-GGTCTGAGAGGATGATCACT-3' R: 5'-TTAGCTCCACCTCGCGGC-3'	990 bp	64	[5]
芽孢杆菌属 (BAC)	F: 5'-CGATGCGTAGCCGACCTGAG-3' R: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGA-3'	1.2 kb	67.8	[6]
气单胞菌属 (AER)	F: 5'-CTACTTTTCCGCGGCGAGCGG-3' R: 5'-TGATTCCCGAAGGCACTCCC-3'	954 bp	67.8	[7]
弧菌属 (VIB)	F: 5'-GGCGTAAAGCGCATGCAGGT-3' R: 5'-GAAATTCTACCCCTCTACAG-3'	117 bp	64	[8]

1.3.3 溶藻菌优势度的测定 应用实时荧光定量 PCR 技术测定组合介质和环境样本中溶藻菌优势度的计算参考比较阈值法^[9],

计算公式如下: $\frac{Y_i}{Y_0} = 2^{-(C_i - C_0)}$ 。其中, Y_i 和 Y_0 分别为各种属细菌

和总细菌 16S rDNA 基因起始拷贝数, C_i 和 C_0 为扩增的各种属细菌和总细菌 16S rDNA 基因片段的循环阈值。

荧光定量 PCR 反应体系的总体积为 20 μL, 包含 10 μL SYBR Green I 混合液(包括 DNA Taq 聚合酶、 MgCl_2 、dNTP、SYBR Green I 和 Buffer)、特异性引物各 12 pmol、5.6 μL 灭菌双蒸水, 样本 DNA 2 μL。PCR 反应条件为 95℃预变性 3 min; (95℃, 30 s; 最适退火温度, 1 min; 72℃, 1 min) 40 个循环, 在每个循环延伸步骤采集荧光信号。并自 64℃至 99℃缓慢升温进行熔解曲线分析, 熔解曲线结果显示各基因 PCR 产物的熔解曲线峰形锐利, 熔解温度较均一。每个反应重复 3 次。

1.4 统计分析

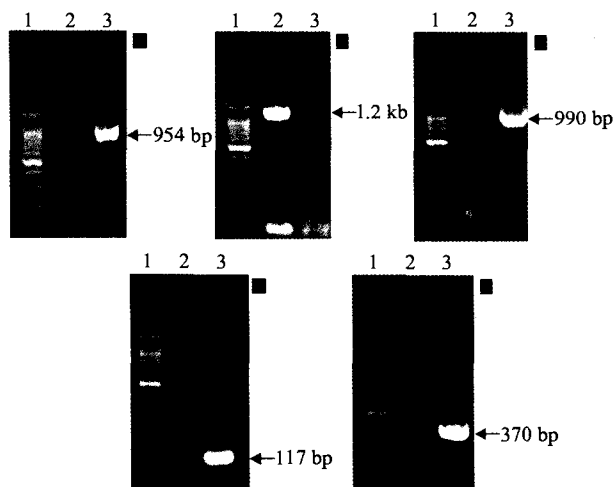
采用 SAS 8.0 软件 ANOVA 分析组合介质和环境底泥之间各种属细菌优势度的差异, 由于两类样本的细菌优势度方差不齐, 故采用 t' 检验, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 应用种属特异 16S rDNA 的 PCR 技术对溶藻菌的初步鉴定

对从太湖梅梁湾中试基地的微生物富集组合介质上分离、筛选的 20 株溶藻菌进行了 4 个种属的细菌 16S rDNA 基因特异片段的分析, 结果显示 20 株细菌 DNA 样本用细菌通用引物扩增, 均可扩出 370 bp 的 16S rDNA 片段; 4 株细菌 DNA 样本可扩出假单胞菌的特异性条带; 7 株细菌 DNA 样本可扩出芽孢杆菌的特异性条带; 1 株细菌 DNA 样本可扩出气单胞菌的特

异性条带; 3 株细菌 DNA 样本可扩出弧菌的特异性条带; 另有 5 株细菌的 DNA 样本用这 4 个种属特异性引物均无法获得特异性片段, 提示可能为这 4 种细菌以外的其它种属细菌。16S rDNA 基因扩增的电泳图谱如图 1, 细菌的 16S rDNA 鉴定结果如表 2。



A: 气单胞菌属特异性引物扩增的 16S rDNA 基因片段 (Aeromonas PCR product of 16S rDNA genes); B: 芽孢杆菌属 (Bacillus Cohn) 特异性引物扩增的 16S rDNA 基因片段 (Bacillus PCR product of 16S rDNA genes); C: 假单胞菌属 (Pseudomonas Migula) 特异性引物扩增的 16S rDNA 基因片段 (Pseudomonas PCR product of 16S rDNA genes); D: 弧菌属 (Vibrio) 特异性引物扩增的 16S rDNA 基因片段 (Vibrio PCR product of 16S rDNA genes); E: 细菌通用引物扩增的 16S rDNA 基因片段 (PCR product of common 16S rDNA genes in bacteria)

其中, 第 1 泳道均为 100bp 的 DNA 分子量 Marker; 第 2、3 泳道为种属特异性引物扩增的阳性或阴性样本 (lane 1: 100 bp DNA marker; lane 2 or 3: positive or negative sample of genus-specific analysis)

图 1 太湖除藻装置组合介质中分离的溶藻菌 16S rDNA 基因特异性序列扩增图谱

Figure 1 PCR profiles of genus-specific 16S rDNA genes of algicidal bacteria in the artificial medium

表 2 应用 16S rDNA 基因特异性序列鉴定的太湖除藻装置组合介质中分离的溶藻菌

Table 2 Algicidal bacteria in the artificial medium based on genus-specific 16S rDNA sequence analysis

细菌种属 Genus	菌株数量 (株) Number of strains	比例 (%) Ratio
假单胞菌属 (Pseudomonas)	4	20
芽孢杆菌属 (Bacillus)	7	35
气单胞菌属 (Aeromonas)	1	5
弧菌属 (Vibrio)	3	15
其它 (Others)	5	25
合计 (Total)	20	100

2.2 组合介质与太湖底泥中溶藻菌的优势度及其分析

应用实时荧光定量 PCR 技术对太湖除藻装置组合介质和太湖底泥中溶藻菌的优势度进行了分析, 表 3 可见, 弧菌的优势度最高, 占细菌总数的 6.27%; 其次是气单胞菌和芽孢杆菌, 优势度分别为 4.30% 和 4.06%; 假单胞菌的优势度最低, 占细菌总数的 3.10%; 这 4 类细菌在总细菌中所占比例为 17.73%。

表 3 组合介质与太湖底泥中不同种属细菌的优势度

Table 3 Dominance of bacteria in the artificial medium and lake sediment

细菌种属 Genus	组合介质 (%) Artificial medium	太湖底泥 (%) Lake sediment	P 值 P value
假单胞菌属 (Pseudomonas)	3.10 ± 0.45	1.78 ± 0.70	0.174
芽孢杆菌属 (Bacillus)	4.06 ± 0.26	0.51 ± 0.04	0.028*
气单胞菌属 (Aeromonas)	4.30 ± 0.04	5.88 ± 0.29	0.076
弧菌属 (Vibrio)	6.27 ± 0.09	7.55 ± 0.59	0.194

[注]: 组合介质与太湖底泥中各种属细菌的优势度比较采用 t' 检验 (方差不齐) (t' -test was used in the dominance analysis of bacteria in the artificial medium and lake sediment), $P < 0.05$

同期太湖底泥中各种属细菌的优势度与组合介质上富集的细菌有所不同, 优势度最高的是弧菌, 为 7.55%; 其次是气单胞菌和假单胞菌, 优势度分别为 5.88% 和 1.78%; 芽孢杆菌的优势度最低, 占细菌总数的 0.51%; 这 4 类细菌在总细菌中所占比例为 15.72%。

对组合介质与太湖底泥中各种属细菌优势度的 t' -test 结果表明, 芽孢杆菌属 (Bacillus) 在组合介质与太湖底泥中的分布差异有统计学意义, 芽孢杆菌属在组合介质上富集的比例明显高于在底泥中的分布比例; 其他 3 种细菌在组合介质和底泥中的分布没有显著差异。

3 讨论

微生物除藻技术是近年来发展较为迅速的环境除藻技术之一, 现已发现多种细菌具有溶解藻细胞、降解藻毒素的作用, 被统称为溶藻菌^[10], 包括假单胞菌属、芽孢杆菌属、气单胞菌属、弧菌属、鞘氨醇菌属 (Sphingomonas)、粘细菌属 (Myxobacterium)、黄杆菌属 (Flavobacterium) 等。本次研究从太湖除藻中试装置的组合介质上分离并筛选了 20 株溶藻菌, 对铜绿微囊藻 (Microcystis aeruginosa) 的溶藻率 24 h 可达 40% 以上。为明确这些溶藻菌的优势类型, 我们应用 16S rDNA 对所筛选溶藻菌的菌属进行了初步鉴定^[11]。

由于对组合介质上溶藻菌的分离是通过对藻液的混合培养进行筛选并挑取不同生长形态的菌落来实现的, 这一方法无法对溶藻菌在介质环境中的分布特征进行准确定量, 因此本次试验同时分析组合介质和太湖底泥中上述种属细菌在总细菌中的优势度。结果显示, 4 个种属的细菌在组合介质上的优势度较为近似, 最高的是弧菌, 其绝对数量平均占细菌总数的 6.27%, 假单胞菌属、芽孢杆菌属和气单胞菌属的比例接近, 平均在 3.10%~4.30% 范围; 这一结果与筛选溶藻菌的种属优势情况不同, 提示在组合介质中检出的各种属细菌中可能有部分细菌并不具有溶藻活性, 尤其是弧菌属的细菌, 虽然其绝对数量较多, 但是具有溶藻活性的菌株较少, 仅分离得到一株溶藻弧菌; 而芽孢杆菌属虽然细菌绝对数量较少, 但有溶藻活性的菌株较多, 可能是组合介质上的优势菌。此外, 不同细菌对生长条件的要求不同可能也是细菌分离结果与 16S rDNA 测定结果差异的一个原因^[12]。

同期自太湖采集的底泥样本中 4 个种属的细菌优势度差异较大, 最高的是弧菌, 优势度平均为 7.55%, 芽孢杆菌的优势度最低, 仅为 0.51%, 而气单胞菌和假单胞菌的优势度与其它

湖泊水体细菌培养法的优势度结果近似^[13]。这一结果与前述组合介质的细菌分布特征不同,两种样本细菌优势度的 t' -检验结果显示,芽孢杆菌属在组合介质上的优势度显著高于其在底泥上的优势度,说明组合介质对芽孢杆菌属细菌有明显的富集效果。由此提示,其在组合介质生态系统中优势度的增加有可能促进了革兰氏阳性细菌的生长,并有可能使组合介质的细菌群落结构分布更为合理完善^[13]。

本试验不足之处是优势度分析仅考虑了 4 类比较有代表性的溶藻菌,加上试验时期也只是选择了 7 月份,还不足以对太湖土著溶藻菌进行较全面的分析。此后拟在这方面进一步开展工作。

参考文献:

- [1] 田永杰,唐志坚,李世斌.我国湖泊富营养化的现状和治理对策[J].环境科学与管理,2006,31(5): 119-121.
- [2] MAYALI X, AZAM F. Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms[J]. J Eukaryot Microbiol, 2004, 51(2): 139-144.
- [3] 纪荣平,吕锡武,李先宁,等.三种人工介质对太湖水质的改善效果[J].中国给水排水,2005,21(6): 4-7.
- [4] 赵传鹏,浦跃朴,尹立红,等.实时荧光定量 PCR 法检测环境假单胞菌属(*Pseudomonas* Migula)细菌丰度[J].东南大学学报(自然科学版),2006,36(1): 143-146.
- [5] WIDMER F, SEIDLER RJ, GILLEVEY PM, et al. A highly selective PCR protocol for detecting 16S rRNA genes of the genus *Pseudomonas* (sensu stricto) in environmental samples[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(7): 2545-2553.
- [6] DE CLERCK E, GEVERS D, DE RIDDER K, et al. Screening of bacterial contamination during gelatine production by means of denaturing gradient gel electrophoresis, focussed on *Bacillus* and related endospore-forming genera[J]. J Appl Microbiol, 2004, 96(6): 1333-1341.
- [7] LEE C, CHO J C, LEE S H, et al. Distribution of *Aeromonas* spp. as identified by 16S rDNA restriction fragment length polymorphism analysis in a trout farm[J]. J Appl Microbiol, 2002, 93(6): 76-85.
- [8] Thompson JR, Randa MA, Marcelino LA, et al. Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70: 4103-4110.
- [9] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [10] 吴刚,席宇,赵以军.溶藻菌研究的最新进展[J].环境科学研究,2002,15(5): 43-46.
- [11] JONES SW, DOBSON ME, FRANCESCONI SC, et al. DNA assays for detection, identification, and individualization of select agent microorganisms[J]. Croat Med J, 2005, 46(4): 522-529.
- [12] 高坤乾,顾继光,韩博平.三座不同营养类型水库春季细菌生理群分布特征[J].生态环境,2006,15(3): 469-474.
- [13] 冯胜,高光,朱广伟,等.基于 16S rDNA-DGGE 和 FDC 技术对富营养化湖泊不同生态修复工程区细菌群落结构的研究[J].应用与环境生物学报,2007,13(4): 535-540.

(收稿日期: 2008-02-22)

(校对: 洪琪)

欢迎订阅 2009 年《环境与职业医学》杂志

《环境与职业医学》杂志为中华预防医学会系列杂志优秀期刊(ISSN 1006-3617, CN 31-1879/R, CODEN: HYZYAZ),系由上海市疾病预防控制中心、中华预防医学会主办的专业性学术期刊,已连续三次被评为中国预防医学、卫生学类中文核心期刊,2001年被评为中国生物医学核心期刊,2004年被评为中国科技论文源期刊和中国科技核心期刊,也是美国化学文摘(CA)、美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich's International Periodicals Directory)、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)、波兰《哥白尼索引》(IC)及国内六大科技数据库的源期刊。

本刊内容主要介绍国内外劳动卫生与职业病防治工作、环境危害因素及其治理研究以及有关环境卫生学研究的学术动态、科研成果和实践经验。可供广大劳动安全卫生与职业病防治、环境保护、卫生监督、卫生防疫及疾病控制相关单位及医学院校教学科研等专业人员参考。

本刊为双月刊,大 16 开,80 页,每双月 25 日出版,全年定价 60.00 元(含包装及邮资)。由邮局及自办结合发行,本刊也接受广告刊载业务。邮发代号: 4-568,邮局办理征订。欢迎就近邮局办理订阅。同时,编辑部亦随时接受征订,并可补购已出各期杂志。

1. 银行汇款:上海市疾病预防控制中心;帐号:086803-82600054171;开户:中信银行上海北京西路支行。

2. 邮局汇款:上海市中山西路 1380 号,《环境与职业医学》杂志编辑部,邮编:200336。

联系人:忻霞萍;电话:(021)62758710-1326 分机;传真:(021)62084529;E-mail: zazhi2@scdc.sh.cn