



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106190927 B

(45)授权公告日 2019.08.30

(21)申请号 201610771653.9

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2016.08.30

C12N 1/20(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

C05F 11/08(2006.01)

申请公布号 CN 106190927 A

C05G 1/00(2006.01)

C12R 1/01(2006.01)

(43)申请公布日 2016.12.07

审查员 彭海航

(83)生物保藏信息

CGMCC NO.12329 2016.04.01

(73)专利权人 北京中明和远环保科技有限公司

地址 100086 北京市海淀区中关村大街49

号大华科技商厦A-503

(72)发明人 孙学忠

(74)专利代理机构 北京欣永瑞知识产权代理事

务所(普通合伙) 11450

代理人 张庆敏

权利要求书1页 说明书6页

序列表1页 附图2页

(54)发明名称

一种用于污泥高温堆肥的菌株及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种用于污泥高温堆肥的菌株及其应用,属于微生物发酵技术领域。本发明的菌株D1为热球状尿素芽孢杆菌(*Ureibacillus thermosphaericus*),其保藏编号为CGMCC No.12329。该菌株最高生长温度达80℃,堆肥污泥等有机质发酵起温快,高温维持时间长,能在高温堆肥环境迅速增殖,降解有机物质,促进堆肥进程,各项指标达到堆肥排放标准。本发明还提供了利用菌株D1制备的堆肥接种剂的方法和应用,该堆肥接种剂生产成本低,质量稳定,可应用于高温污泥堆肥,不会增加堆体的含水率,且绿色环保,无污染,性能优良,具有较好的经济效益和社会效益。

1. 热球状尿素芽孢杆菌 (*Ureibacillus thermosphaericus*), 其特征在于, 所述热球状尿素芽孢杆菌保藏编号为CGMCC No.12329。

2. 含有权利要求1所述热球状尿素芽孢杆菌的生物制剂。

3. 含有权利要求1所述热球状尿素芽孢杆菌的菌剂。

4. 权利要求1所述的热球状尿素芽孢杆菌, 或权利要求2所述的生物制剂, 或权利要求3所述的菌剂在快速升温并长时间维持高温发酵的堆肥或有机物发酵中的应用。

5. 权利要求1所述的热球状尿素芽孢杆菌, 或权利要求2所述的生物制剂, 或权利要求3所述的菌剂在制备快速升温并长时间维持高温发酵的堆肥接种剂中的应用。

6. 一种能使堆肥快速升温并长时间维持高温发酵的堆肥接种剂, 其特征在于, 其制备方法包括以下步骤:

1) 活化培养: 将权利要求1所述热球状尿素芽孢杆菌的菌种在60-80℃下活化培养12-48h;

2) 种子液制备: 将活化菌种接种于培养液中, 密封瓶口, 在65-80℃下振荡培养1-3天, 振荡频率为160-200rpm;

3) 发酵菌液制备: 将步骤2) 制得的种子液按3%-10%的体积比加入灭菌培养液中, 发酵时间48-72小时; 在进行发酵时, 通气量的气: 液的通气比在0-24小时是1:0.5, 24-72小时是1:1, 发酵罐的罐压为0.08-0.1MPa, 搅拌速率为180-200rpm;

4) 堆肥接种剂制备: 将发酵菌液与糖类混合均匀, 加吸附料, 与堆肥物料混合均匀, 进行堆置发酵, 发酵至含水量10%-15%即得。

7. 如权利要求6所述的堆肥接种剂, 其特征在于, 步骤2) 和步骤3) 所述的培养液为: 按照质量百分比计, 工业酵母粉0.5-1%, 工业蔗糖1.0-3%, 工业蛋白胨1-2%, 氯化钠1-2%, 余量为水。

8. 如权利要求6所述的堆肥接种剂, 其特征在于, 步骤4) 中, 吸附料为玉米面、麸皮、豆粕、锯沫中的一种或多种;

堆肥物料为污泥和辅料或动物粪便和辅料, 污泥与辅料的质量比1:0.05~0.5, 动物粪便与辅料的质量比为:1:0.1-0.5。

9. 如权利要求6-8任一所述的堆肥接种剂, 其特征在于, 含有热球状尿素芽孢杆菌活菌数为 10^3 - 10^8 CFU/g。

10. 权利要求6所述的堆肥接种剂在快速升温并长时间维持高温发酵的有机物料中的应用, 包括以下步骤:

首次发酵: 将有机物料、辅料按照质量比1:0.05-0.5混合, 按与前者混合物质量比0.08%-1%加入堆肥接种剂, 充分搅拌发酵;

后期发酵: 将有机物料、首次发酵的腐熟料、辅料、堆肥接种剂按照质量比1:(0.3-1):(0.05-0.5):(0.0008-0.01)充分搅拌发酵;

所述辅料为玉米芯、秸秆、麸皮、花生壳、枯枝落叶、磷矿粉、中药渣、沸石粉、麦饭石、豆粕和蔗糖中的一种或多种。

一种用于污泥高温堆肥的菌株及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于微生物发酵技术和环境保护技术领域,具体地说,涉及一种用于污泥和畜禽粪便等有机污染物高温堆肥的菌株与应用。

背景技术

[0002] 随着我国城镇化水平不断提高,污水处理设施建设得到了高速发展,2014年底我国城镇污水处理厂已经建有4436多座,城市污水处理能力已达到每天1.71亿吨,为实现国家的减排目标和水环境改善,做出了巨大贡献。但是污水厂的建设及运行伴随产生了大量剩余污泥,以产泥量0.8‰计,全国年污泥总产量将很快突破13.6万吨,污泥处理形势十分严峻。在城市污水处理过程中必然会产生大量的污水污泥,它容量大、不稳定、易腐败、有恶臭,如不加妥善处理 and 处置,将造成堆放和排放区周围环境严重的二次污染,更有甚者,将污泥任意施于农业,导致农作物污染,土壤受到不可逆转的中毒受害。

[0003] 传统污泥处理方法有三种:焚烧、填埋和资源化利用。国外多采用焚烧工艺,但投资巨大,易造成大气污染;国内多采用填埋,但需要占用大量的土地,同时会造成环境的二次污染;国内大中城市土地资源很少,难以长期采用此方式。国内外常用的污泥稳定化技术有:厌氧消化、好氧消化、堆肥、碱法稳定和干化稳定。碱法稳定因无法长期使污泥稳定,仅做应急之用;干化稳定因投资运行费用高,应用很少;好氧消化需要较高的动力能耗,寒冷季节处理效率降低,副产品没有实用价值,仅适用于小型污水厂;厌氧消化应用最为广泛,但有安全隐患、运行管理要求高;堆肥是一种生物处理方法,因其充分利用污泥中有用成分,可变废为宝,有利于建立循环型经济而受到广泛关注。

[0004] 同时,工业养殖技术的兴起,奶牛场,养猪场,养鸡场等地的畜禽类粪便也成为环境一大污染源,采用传统堆肥技术,发酵慢,产生臭气多,发酵效果差。现有微生物菌剂在畜禽粪便和污泥的发酵中,也常有采用,但菌种活性差,菌群生态环境构建不够茁壮,发酵效果不稳定。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于针对污泥和畜禽粪便发酵中普遍存在厌氧的情况,采用兼氧和好氧的菌种结合的方案,提供一种堆肥污泥发酵效率高,高温维持时间长,发酵后物料体积、密度及有机质显著下降的菌株及由该菌株制得的堆肥接种剂,使发酵效果更稳定。

[0006] 本发明首先提供一种分离自土壤的热球状尿素芽孢杆菌(*Ureibacillus thermosphaericus*),命名为D1。

[0007] 本发明利用细菌16S rDNA通用引物,用PCR的方法扩增D1菌株16S rDNA部分片段,PCR产物测序获得该片段序列,测序所得D1菌株的16S rDNA(长度1.4kbp)如SEQ ID NO.1所示。

[0008] 该菌株D1已于2016年4月1日保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称CGMCC,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,邮编

100101), 分类命名为热球状尿素芽孢杆菌 *Ureibacillus thermosphaericus*, 保藏编号为 CGMCC No.12329。

[0009] 本发明提供了保藏编号为CGMCC No.12329的热球状尿素芽孢杆菌 (*Ureibacillus thermosphaericus*) 在污泥堆肥发酵和有机污染物发酵中的应用。

[0010] 含有保藏编号为CGMCC No.12329的热球状尿素芽孢杆菌 (*Ureibacillus thermosphaericus*) 的生物制剂属于本发明的保护范围。

[0011] 含有保藏编号为CGMCC No.12329的热球状尿素芽孢杆菌 (*Ureibacillus thermosphaericus*) 的菌剂属于本发明的保护范围。

[0012] 本发明提供了保藏编号为CGMCC No.12329热球状尿素芽孢杆菌D1或其发酵产物或含有其的生物制剂或菌剂在堆肥或有机物发酵中的应用。

[0013] 本发明提供了保藏编号为CGMCC No.12329热球状尿素芽孢杆菌D1或其发酵产物或含有其的生物制剂或菌剂在制备堆肥接种剂中的应用。

[0014] 进一步地, 本发明提供一种堆肥接种剂, 其制备方法包括以下步骤:

[0015] 1) 活化培养: 将保藏编号为CGMCC No.12329的热球状尿素芽孢杆菌D1的菌种在 60-80℃ 下活化培养12-48h;

[0016] 2) 种子液制备: 将活化菌种接种于培养液中, 密封瓶口, 在65-80℃ 下振荡培养1-3天, 振荡频率为160-200rpm;

[0017] 3) 发酵菌液制备: 将步骤2) 制得的种子液按3%-10%的体积比加入灭菌培养液中, 发酵时间48-72小时。在进行发酵时, 通气量的气: 液的通气比在0-24小时是1:0.5, 24-72小时是1:1, 发酵罐的罐压为0.08-0.1MPa, 搅拌速率为180-200rpm;

[0018] 4) 堆肥接种剂制备: 将发酵菌液与糖类混合均匀, 加吸附料, 与堆肥物料混合均匀, 进行堆置发酵, 发酵至含水量10%-15%即得。

[0019] 上述方法中, 步骤2) 和步骤3) 所述的培养液为: 按照与水的质量百分比, 工业酵母粉0.5-1%, 工业蔗糖1.0-3%, 工业蛋白胨1-2%, 氯化钠1-2%。

[0020] 其中步骤4) 中, 吸附料为玉米面、麸皮、豆粕中的一种或多种;

[0021] 堆肥物料为污泥和辅料或动物粪便和辅料, 污泥与辅料的质量比1:0.05-0.5, 动物粪便与辅料的质量比为:1:0.1-0.5;

[0022] 本发明提供的堆肥接种剂, 其含有热球状尿素芽孢杆菌D1活菌数为 10^3 - 10^8 CFU/g。

[0023] 进一步地, 本发明还提供了上述堆肥接种剂在高温发酵有机物料中的应用, 包括以下步骤:

[0024] 首次发酵: 将有机物料、辅料按照质量比1:0.05-0.5混合, 按与前者混合物质量比0.08%-0.15%加入堆肥接种剂, 充分搅拌, 堆积在高度0.5-2米, 宽度2-5米, 长度10-50米, 底部曝气发酵, 首次发酵混合后物料的含水率应为35%-65%, 环境温度应大于5度, 发酵时间1~3周;

[0025] 后期发酵: 将有机物料、首次发酵的腐熟料、辅料、堆肥接种剂按照质量比1:0.3-1:0.05-0.5:0.0008-0.0015充分搅拌发酵, 堆积在高度0.5-2米, 宽度2-5米, 长度10-50米, 底部曝气发酵, 首次发酵混合后物料的含水率应为35%-65%, 环境温度应大于5度, 发酵时间1~3周。

[0026] 所述辅料为玉米芯、秸秆、麸皮、锯沫、花生壳、枯枝落叶、磷矿粉、中药渣、沸石粉、

麦饭石、饼粕和蔗糖中的一种或多种。

[0027] 所述有机物料为污泥或畜禽粪便。

[0028] 本发明的保藏编号为CGMCC NO.12329的热球状尿素芽孢杆菌对堆肥发酵效果有着明显的优化作用,具体表现在堆体升温快,高温持续时间长,有机物降解彻底,降解过程中堆体散发的氨气等臭气明显减少。含有保藏编号为CGMCC NO.12329的热球状尿素芽孢杆菌的本发明的菌剂可以有效抵制杂菌的干扰,使得发酵快速、高效,堆肥污泥发酵起温快,0.5-3天就能达到最高温度,高温期维持时间长,达3-15天,经发酵后,检测物料体积、密度及有机质,与堆肥初期相比,堆体体积减小到原来的45%-60%,有机质降解了35-67.2%,纤维素降解了35%-55%,半纤维素降解了55%-61%,木质素降解了23%-38%,湿度下降到20-30%,粪大肠杆菌数 $<10^2$,蛔虫卵死亡率100%,减少发酵过程中臭气氨气,减少量约80%以上,其它臭气约70%的排放,发酵后的有机物松散,不结块,没有臭味,极大地优化发酵效果,达到堆肥排放标准。

附图说明

[0029] 图1为热球状尿素芽孢杆菌镜下形态图。

[0030] 图2为实施例3中污泥接种堆肥和未接种堆肥温度曲线比较图。

[0031] 图3为实施例3中15天发酵期接种堆肥的效果图。

[0032] 图4为实施例3中15天发酵期未接种堆肥的效果图。

具体实施方式

[0033] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。

[0034] 本发明实施例中涉及的试验材料和试剂均为市售。

[0035] 实施例1热球状尿素芽孢杆菌D1的分离与鉴定

[0036] 1) 取样:在高温达到50-70℃以上2天的堆体取样50g,放入无菌三角瓶中加入250ml灭菌水,震荡30分钟。

[0037] 2) 分离:在无菌操作台中,将上述样品用绝迹稀释法涂布平板,放入培养袋,再将其一起放入培养箱中。

[0038] 培养:放置在50-65℃恒温培养箱中培养12-48h;

[0039] 固体培养平板配方:按照与水的质量百分比,进口酵母粉0.5-1%,蔗糖2%,工业蛋白胨2%,氯化钠1%,琼脂2.0-2.5%,蒸馏水,121摄氏度灭菌30min。

[0040] 3) 纯化:将培养出的菌株用上述固体培养平板进行划线分离,分离出纯培养物为止。该菌株显微镜下图见图1。

[0041] 4) 鉴定:分离出纯培养物经DNA提取,PCR测序,鉴定。

[0042] 将分离得到的菌株D1进行生物学特性验证,该菌株为革兰氏阳性长杆状菌株,适宜生长温度为50-75℃的兼性嗜热菌,经过生物学实验,最高80℃不生长。

[0043] 将该菌种在培养液平板上55-65℃活化培养24小时,然后接种于培养基上,分别放入40、50、60、70、80℃的恒温箱中恒温培养,24小时后观察菌株生长情况,观察结果如下表1。

[0044] 该菌株能以葡萄糖、麦芽糖、蔗糖为唯一碳源生长,发酵产酸。生长pH范围5.0-

9.5,最适pH值为7.5。最适生长的NaCl浓度为0-1.5%。

[0045] 表1菌株温度生长表

[0046]

培养温度(°C)	40	50	60	70	80
生长情况	不生长	轻微生长	中度生长	生长良好	不生长

[0047] 利用细菌16S rDNA通用引物,用PCR的方法扩增D1菌株16S rDNA部分片段,PCR产物测序获得该片段序列,测序所得D1菌株的16S rDNA(长度1.4kbp)如SEQ ID NO.1所示。

[0048] 该菌株D1已于2016年4月1日保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称CGMCC,地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所,邮编100101),分类命名为热球状尿素芽孢杆菌*Ureibacillus thermosphaericus*,保藏号为CGMCC No.12329。

[0049] 实施例2堆肥接种剂的制备

[0050] 1)活化培养:将保藏编号为CGMCC No.12329的热球状尿素芽孢杆菌D1的菌种在60-80°C下活化培养12-48h;

[0051] 2)种子液制备:将活化菌种接种于培养液中,密封瓶口,在65-80°C下振荡培养1-3天,振荡频率为160-200rpm;

[0052] 3)发酵菌液制备:将步骤2)制得的种子液按3%-10%的体积比加入灭菌培养液中,发酵时间48-72小时。在进行发酵时,通气量的气:液的通气比在0-24小时是1:0.5,24-72小时是1:1,发酵罐的罐压为0.08-0.1Mpa,搅拌速率为180-200rpm;

[0053] 4)堆肥接种剂制备:将发酵菌液与糖类混合均匀,加吸附料,与堆肥物料混合均匀,进行堆置发酵,发酵至含水量10%-15%即得。

[0054] 上述方法中,步骤2)和步骤3)所述的培养液为:按照与水的质量百分比,工业酵母粉0.5-1%,工业蔗糖1.0-3%,工业蛋白胨1-2%,氯化钠1-2%。

[0055] 其中步骤4)中,吸附料为玉米面、麸皮、豆粕中的一种或多种;

[0056] 堆肥物料为污泥和辅料或动物粪便和辅料,污泥与辅料的质量比1:0.05-0.5,动物粪便与辅料的质量比为:1:0.1-0.5;

[0057] 本发明提供的堆肥接种剂,其含有热球状尿素芽孢杆菌D1活菌数为 10^3 - 10^8 CFU/g。

[0058] 实施例3本发明堆肥接种剂的应用与效果

[0059] 1、污泥堆肥效果

[0060] 以下以市政污泥的堆肥化处理说明本发明实施例2制得的堆肥接种剂的应用效果。按重量比1:0.5取市政污泥、秸秆粉初步混合均匀后,按总物料0.5%添加实施例2中制备的堆肥接种剂,进行堆置发酵,此为接菌处理。另设对照,不接种堆肥接种剂,进行试验。其中,常规处理,每5天或温度超过75°C进行翻堆;接种处理,每4-6天进行翻堆。通过堆肥温度变化、耗氧速率判定堆肥的腐熟度,并监测堆肥过程中臭气排放量。

[0061] 接菌处理达到50°C所需天数和降至40°C天数均比常规处理早;而高温期达到的最高温度、大于50°C维持天数、高温期积温、高温期平均温度,接菌处理均明显大于常规处理。说明接菌有利于堆体快速起温、提高堆温的持续性和强度,保证卫生无害化效果。堆肥污泥发酵起温快0.5-3天就能达到最高温度,高温期维持时间长3-12天。接种后的温度曲线图见图2。使用实施例2的堆肥接种剂和未接种的堆肥过程中臭气排放比较见表2,堆肥过程中的

温度变化记录见表3。

[0062] 表2堆肥接种和未接种臭气排放比较表

[0063]

	接种菌剂	未接种菌剂
堆体的各成分含量		
污泥 (Kg) (含水率 80%)	10000	10000
秸秆 (Kg) (含水率 10%)	3000	3000
菌种 (Kg) (含水率 10%)	50	0
堆体的含水率	63.6%	63.8%

[0064]

堆体体积	约 20m	约 20m
曝气情况		
间歇曝气	每 10 分钟曝气 2 分钟	每 10 分钟曝气 2 分钟
曝气风机曝气量	50m /min	50m /min
臭气曝气时排放情况		
氨气平均值	15ppm	110ppm
硫化氢平均值	2ppm	19ppm
臭气未曝气时挥发情况		
氨气平均值	5ppm	80ppm
硫化氢平均值	0ppm	5ppm

[0065] 表3堆肥温度分析

[0066]

试验处理	达到 50℃ 所需天数 (天)	达到的最高温度(℃)	大于 50℃ 维持天数 (天)	高温期累积温度(℃)	高温期平均温度(℃/天)	降至 40℃ 天数(天)
接菌处理	1	78	12	804.5	67	4
常规处理	2	55	7	379	54	2

[0067] 试验结束后接菌处理和常规处理有机物降解率分别 (67.2) % 和 (45.4) %，说明接菌有利于促进有机物的降解。

[0068] 试验结束后接菌处理和常规处理的发芽指数分别95%和60%，说明接菌处理较常规处理对堆肥物料腐熟有促进作用；从试验过程发芽指数的变化规律来看，接菌处理在堆肥的第15天发芽指数已趋于稳定，接近于试验结束值，达到腐熟；而常规处理的发芽指数仍呈上升趋势，说明常规处理在试验结束时还未达到腐熟。15天发酵期堆肥效果见图3和图4。

[0069] 经发酵后,检测物料体积、密度及有机质变化。与堆肥初期相比,堆体体积减小到原来的45-60% (最初体积100m³,减少为45m³-60m³),有机质降解了67.2% (有机质最初100公斤,降解了67.2公斤剩余22.8公斤),纤维素降解了35-55%,半纤维素降解了55-61%,木质素降解了23-38%,粪大肠杆菌数 $<10^2$,蛔虫卵死亡率100%,达到堆肥排放标准。

[0070] 从上表可见,接种本发明堆肥接种剂后,缩短了堆肥从中温进入高温期(>50℃)的时间,使堆肥高温期(>50℃)提前1天,高温期(>50℃)维持的天数延长5天,堆肥最高温度提高,微生物活性明显提高,保证有机物料的快速降解及提高堆料的无害化程度,从而缩短了堆肥周期。

[0071] 整个堆肥过程中,接种处理挥发分的含量均比相同时期的空白对照的低,堆肥结束时,接种处理与空白对照的挥发分降解率分别是55%与33%,接种处理明显要高于空白对照,说明接种本发明菌剂加快了有机物的分解速率。

[0072] 接菌堆肥与空白对照相比,碳氮比下降的速度快,在第15天后趋于稳定,而空白对照则一直呈下降趋势,说明接种本菌剂能加快堆肥有机物料的降解,达到稳定化的程度,最终的碳氮比及T值(终点C/N:初始C/N)分别为:1.5:1及3:1。

[0073] 堆肥过程中,发芽指数基本呈上升趋势;在第5天后,接种堆肥的发芽指数比空白对照上升的速率更快些,到堆肥结束时增加为80%,说明接种本发明提供的堆肥接种剂有利于减少堆肥的生物毒性。

[0074] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明技术原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

序列表

<110> 北京中明和远环保科技有限公司
 <120> 一种用于污泥高温堆肥的菌株及其应用
 <130> YRI20160055
 <160> 1
 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 1455
 <212> DNA
 <213> *Ureibacillus thermosphaericus*

<400> 1

[0001]

```

gatgcggtcc gcagctataa tgcagtcgag cgaaccaatt gaaagcctag ctttcatgag      60
gtttagcggcg gacgggtgag taacacgtgg gtaacctgcc ctatagactg ggataactcg      120
cggaaacgcg tgctaatacc ggataacaca tcaaagtgca tgctttgatg ttgaaagatg      180
gttctgctat cactatagga tgggcccgcg gcgcattagc ttgttggtgg ggtaacggcc      240
taccaaggcg acgatgcgta gccgacctga gagggtgatc ggccacactg ggactgagac      300
acggcccaga ctctacggg aggcagcagt agggaatctt ccacaatggg cgaaagcctg      360
atggagcaac gccgcgtgag cgaagaaggt cttcggatcg taaagctctg ttgtaaggga      420
agaacaagtg cagtagtaac tggetgcacc ttgacggtag cttactagaa agccacggct      480
aactacgtgc cagcagccgc ggtaatacgt aggtggcaag cgttgtccgg aattattggg      540
cgtaaagcgc gcgcaggcgg tttcttaagt ctgatgtgaa agccccggc ttaaccgggg      600
agggtcattg gaaactggga gacttgagtg caggagaggg aagcgaatt ccatgtgtag      660
cggtgaaatg cgtagagata tggaggaaca ccagtggcga aggcgcttc ctggcctgta      720
actgacgctg aggcgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac      780
gccgtaaacg atgagtgcta agtgttaggg ggtttcacc cttagtgtc gcagctaacg      840
cattaagcac tccgctggg gtagcggtc gcaagactga aactcaaagg aattgacggg      900
ggcccgcaca agcgggtggag catgtggttt aattcgaagc aacgcgaaga acctaccag      960
gtcttgacat cccgctgacc gctatggaga catagcctc cttcgggga cagcgggtgac     1020
agggtgtgca tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga     1080
gcgcaaccct tgccttagt tgccatcatt cagttgggca ctctaaggag actgccgtac     1140
aaatacggag gaaggtgggg atgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca     1200
cacgtgctac aatggacggg acaaacggtc gcgaagtcgc gagacggagc caatccgaaa     1260
aaaccgttct cagttcgat tgcaggctgc aactgcctg catgaagccg gaatcgctag     1320
taatcgcgga tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccggg cttgtacac accgcccgtc     1380
acaccacgag agtctgtaac acccgaagtc ggtgaggtaa cccttcggg agccagccgc     1440
cgaagtgaca aagct

```



图1

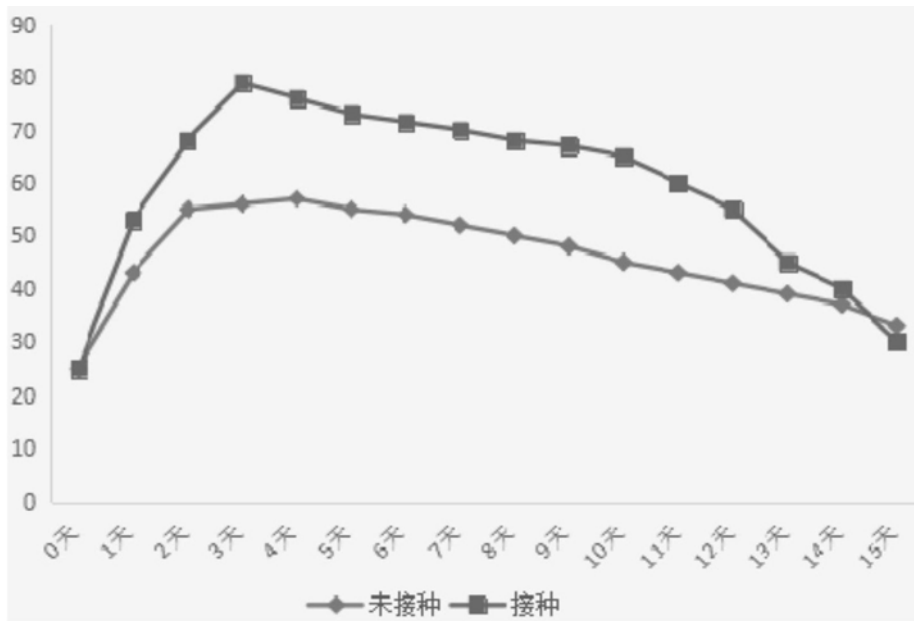


图2



图3



图4