

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第6期

Vol.33 No.6

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

我国湖泊富营养化效应区域差异性分析 曹金玲,许其功,席北斗,李小平,杨柳燕,江立文,魏自民,吴献花(1777)

基于“源”“汇”景观格局指数的海河流域总氮流失评价 孙然好,陈利顶,王伟,王赵明(1784)

云蒙湖流域土地利用变化对非点源氮污染负荷的影响 孟晓云,于兴修,泮雪芹(1789)

深圳市沿岸表层海水中全氟化合物的残留特征及其分布规律 陈清武,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波(1795)

典型电器工业区河涌沉积物中多环芳烃的分布、来源和潜在生态风险 邓代永,邱孟德,孙国萍,郭俊,张宏涛,张琴,许玫英(1801)

珠江下游河段沉积物中重金属含量及污染评价 谢文平,王少冰,朱新平,陈昆慈,潘德博,洪孝友,尹怡(1808)

扎龙湿地南山湖沉积岩芯重金属污染特征及来源判别 苏丹,臧淑英,叶华香,孙丽,贾晓丹,李苗(1816)

汕头湾沉积物磷的形态分布与季节变化特征研究 赵建刚,乔永民(1823)

氮磷比对东海浮游植物群落生长影响的微宇宙实验 黄伟,朱旭宇,曾江宁,寿鹿,陈全震,江志兵(1832)

春季福建北部海域浙闽沿岸流消亡期浮游桡足类种类组成及其分布 王彦国,林景宏,王春光,林茂(1839)

滩涂红树林种植-养殖耦合系统中多环芳烃含量水平分析 陈冠秋,李耀初,黄晋沐,南燕,林茂宏(1846)

四溴双酚A在5种巢湖鱼类体内的组织分布与生物浓缩因子研究 杨苏文,王圣瑞,闫振广,张普青(1852)

五氯酚对稀有鮑肌卵黄蛋白原及p53的诱导效应 熊力,马永鹏,张晓峥,金帮明,李伟,苏永良,毛思予,刘堰(1858)

全氟辛烷磺酸(PFOS)对斑马鱼卵黄蛋白原 mRNA 水平的影响 程艳,崔媛,党志超,谢文平,李海山,殷缓缓,陈会明(1865)

水溶性有机物电子转移能力与荧光峰强度的关系研究 陶亚,袁田,周顺桂,袁勇,庄莉,王辉亮(1871)

MIEX中试实验对二级出水中有机物去除的3DEEM解析 杨建,高金华,常江(1878)

XDLVO理论解析钙离子对腐殖酸反渗透膜污染的影响机制 姚淑娣,高欣玉,郭本华,包南,谢慧君,梁爽(1884)

栅藻LX1在水产养殖废水中的生长、脱氮除磷和油脂积累特性 马红芳,李鑫,胡洪管,于茵,巫寅虎(1891)

氯化铁用于反硝化同步化学生物絮凝工艺研究 王宏杰,董文艺,刘莉莎,韩贵超(1897)

合成氨废水短程反硝化特性研究 李妍,李泽兵,马家轩,王晓毅,赵白航,李军(1902)

基于新型反应器的好氧颗粒污泥的稳定性控制 李志华,杨帆,李胜,谢磊,王晓昌(1907)

采用非生长能量代谢参数表征颗粒污泥稳定性 李志华,吴军,李胜,谢磊,王晓昌(1913)

酸-碱预处理促进剩余污泥厌氧消化的研究 袁光环,周兴求,伍健东(1918)

小回流比条件下污泥浓度分区试验研究 史思,王素兰,李瑞,邢传宏(1923)

非离子表面活性剂对污泥调理脱水效果的影响 侯海攀,濮文虹,时亚飞,于文华,樊明明,刘欢,杨昌柱,李野,杨家宽(1930)

中国空气污染指数变化特征及影响因素分析 李小飞,张明军,王圣杰,赵爱芳,马潜(1936)

南京3类不同大气污染过程下气溶胶水溶性无机离子的特征研究 张秋晨,朱彬,苏继峰,王红磊(1944)

深圳市郊区大气中PM_{2.5}的特征分析 戴伟,高佳琪,曹罡,欧阳峰(1952)

餐饮业油烟的颗粒物分析 谭德生,邝元成,刘欣,戴飞鸿(1958)

Fe-MnO_x-CeO₂/ZrO₂低温催化还原NO性能研究 刘荣,杨志琴(1964)

自然型氨基酸及其钾盐的CO₂吸收和再生特性 晏水平,陈竞翔,徐明亮,艾平,张衍林(1971)

耕作方式对紫色水稻土农田生态系统CH₄和N₂O排放的影响 张军科,江长胜,郝庆菊,唐其文,程炳红,李辉,陈璐豪(1979)

垄作覆膜条件下田间氨挥发及影响因素 上官宇先,师日鹏,李娜,韩坤,李会科,王林权(1987)

添加不同N源条件下典型除草剂对土壤呼吸和N₂O排放的影响 孙青,史淳星,石坤,言儒斌,蒋静艳,吴以中(1994)

某石墨阳极法氯碱生产场地二噁英污染特征分析 余立凤,魏文侠,田亚静,吴广龙,李培中,赵丹(2000)

脱硫石膏对酸化森林土壤短期修复效果的研究 罗遥,康荣华,余德祥,谭炳全,段雷(2006)

岩溶山地土壤氧化铁形态及其与成土环境的关系 张治伟,朱章雄,傅瓦利,文志林(2013)

废弃尾矿库15种植物对重金属Pb、Zn的积累和养分吸收 施翔,陈益泰,王树凤,李江川(2021)

铬胁迫对3种草本植物生长及铬积累的影响 王爱云,黄姗姗,钟国锋,徐刚标,刘志祥,申响保(2028)

湘西花垣矿区主要植物种类及优势植物重金属蓄积特征 杨胜香,田启建,梁士楚,周耀渝,邹慧成(2038)

增施CO₂对C3和C4植物根际氯氰菊酯残留浓度的影响 慕楠,刁晓君,王曙光,王鹏腾,李攀峰(2046)

生物强化去除吡啶的特性及微生物种群动态变化分析 乔琳,赵宏,王建龙(2052)

A/O MBR处理生活污水效率与菌群多样性的关系 邝斌宇,史青, Montcho Leon Monthero,丁嫄,温东辉(2061)

石油污染土壤生物修复过程中氮循环功能基因的动态检测 吴彬彬,卢滇楠,刘铮(2068)

武汉市儿童多途径铅暴露风险评估 郝汉舟,陈同斌,吴基良,雷梅,田辉,祖文普,钟学斌(2075)

电子鼻预处理装置的开发及适用性研究 卜凡阳,文晓刚,万梅,刘锐,陈吕军,张永明(2083)

ToxTell生物传感器在Cu²⁺、Cd²⁺冲击活性污泥系统分析中的应用 王学江,王鑫,刘免,吴真,杨连珍,夏四清(2090)

环境样品免疫检测基质效应分析与控制 盛建武,何苗,施汉昌(2095)

热等离子体熔融固化模拟医疗废物的研究 张璐,严建华,杜长明,陆胜勇,李晓东(2104)

城市生活垃圾组分低温干燥特性及模型研究 吴亚娟,刘红梅,陆胜勇,严建华,李晓东(2110)

厌氧-准好氧联合型生物反应器填埋场产气规律的研究 韩智勇,刘丹,李启彬(2118)

处理垃圾渗滤液的Fe/C空气阴极MFC性能研究 唐玉兰,彭漫,于燕,何亚婷,傅金祥,赵玉华(2125)

基于冗余分析的典型喀斯特山区土壤-石漠化关系研究 龙健,廖洪凯,李娟,陈彩云(2131)

北京市能源消费与经济增长关系的协整检验分析 陈操操,张妍,刘春兰,王海波,李铮(2139)

《环境科学》征稿简则(1877) 《环境科学》征订启事(1890) 信息(1822,1857,1896,2138)

全氟辛烷磺酸 (PFOS) 对斑马鱼卵黄蛋白原 mRNA 水平的影响

程艳¹, 崔媛¹, 党志超², 谢文平¹, 李海山¹, 殷缓缓¹, 陈会明^{1*}

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123; 2. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, 3721, Netherlands)

摘要: 为了研究环境低剂量全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)对水生生物的内分泌干扰效应和可能的作用机制,测定了PFOS对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)肝脏中卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG) mRNA水平的影响.将斑马鱼暴露于4个PFOS的环境低剂量浓度组(0.1、1、10、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)中进行21d毒性试验,收集肝脏样品,提取RNA,采用荧光定量PCR(qRT-PCR)分别检测VTG1和VTG3的mRNA水平.结果表明:①PFOS暴露引起雄性斑马鱼肝脏VTG1和VTG3 mRNA水平升高,VTG1 mRNA水平升高与剂量呈正相关,在100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异;VTG3的mRNA水平变化与剂量呈倒U型曲线,呈现典型的毒物刺激荷尔蒙效应,在10和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异;②PFOS暴露引起雌性斑马鱼肝脏中VTG1 mRNA水平升高,在10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异,但在高浓度(10和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)处试验结果误差较大;VTG3 mRNA水平只在10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处升高,但相比于对照组均没有显著性差异.试验结果表明PFOS暴露对斑马鱼的内分泌干扰作用明显,其毒性作用机制可能是类雌激素效应,而肝脏中VTG1和VTG3 mRNA水平可能作为PFOS内分泌干扰效应评价的敏感生物标志物,但VTG1和VTG3 mRNA水平的响应曲线呈现基因亚型和性别差异.

关键词:全氟辛烷磺酸(PFOS); 斑马鱼(*Brachydanio rerio*); 卵黄蛋白原(VTG); mRNA水平; 荧光定量PCR(qRT-PCR)

中图分类号: X171.5; X592 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)06-1865-06

Effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Exposure on Vitellogenin mRNA Level in Zebrafish (*Brachydanio rerio*)

CHENG Yan¹, CUI Yuan¹, DANG Zhi-chao², XIE Wen-ping¹, LI Hai-shan¹, YIN Huan-huan¹, CHEN Hui-ming¹

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China; 2. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, 3721, Netherlands)

Abstract: To study the endocrine disrupting effects and action mechanism of environmental levels of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on the aquatic species, the research for the effects of PFOS exposure on vitellogenin (VTG) mRNA level in livers of zebrafish (*Brachydanio rerio*) was conducted. Zebrafish were exposed to PFOS at four environmental low concentrations (0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) for 21 days. Livers from male and female zebrafish were collected for RNA extraction, VTG1 and VTG3 mRNA levels were measured respectively using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). The results show that: ① The VTG1 and VTG3 mRNA level in the livers of male zebrafish increased after PFOS exposure. The VTG1 mRNA level increased with a positive dose response pattern, with the maximum response at 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFOS exposure where a significant difference compared with the control was observed. The VTG3 mRNA level increased as an inverted U-shaped dose response pattern, indicated as hormesis effects, where significant differences compared with the control were observed at 10 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFOS exposure. ② The VTG1 mRNA level in the livers of female zebrafish increased where a significant difference compared with the control was observed at 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFOS exposure, but the standard errors for mRNA level at 10 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFOS exposure were distinct. The VTG3 mRNA level in the livers of female zebrafish increased at 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFOS exposure but had no significant difference compared with the control. Thus, it deduced that PFOS exposure could be active on the endocrine system of zebrafish with the oestrogenic simulation action mechanism, and the VTG1 and VTG3 mRNA level in the livers of zebrafish might be sensitive biomarkers for the endocrine disrupting effects evaluation after PFOS exposure, with different responding patterns related to the gene subtypes and sex.

Key words: perfluorooctane sulfonate (PFOS); zebrafish (*Brachydanio rerio*); vitellogenin (VTG); mRNA level; quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR)

收稿日期: 2011-08-11; 修订日期: 2011-09-13

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局科研项目(2010IK030); 国家质量监督检验检疫总局2011年度公益项目(201110250, 201110020); 中国检验检疫科学研究院专项基金项目(2009JK017); 科技部科研院所技术专项(2010EG12847)

作者简介: 程艳(1977~), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为生态毒理学, E-mail: yanzi77pku@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: chenhm@aqsiqch.ac.cn

生物标志物 (biomarker) 指在亚个体和个体水平上既可以测定污染物暴露水平,也可以测定污染物效应的生理和生化指标^[1]. 水生鱼类的卵黄蛋白原 (vitellogenin, VTG) 是一种应用广泛的评价化学物质的内分泌干扰效应的生物标志物^[2-5]. VTG 是卵黄蛋白的前体,通常受循环的内源性雌激素的刺激,由雌性卵生脊椎动物的肝脏产生,由血流进入卵巢,并被发育中的雌性配子吸收并改变. 在受外源性的雌激素的刺激下,肝脏能够合成并分泌 VTG; 而芳香酶通过抑制转化内源性雄激素为天然雌激素 17 β -雌二醇,会引起 VTG 降低. 斑马鱼有 7 种 VTG 亚型^[6,7],其中含 87 kb 片段基因组的 VTG1、VTG2、VTG4、VTG5、VTG6 和 VTG7 主要分布于染色体 22 上,而含卵黄高磷蛋白较少的 VTG3 单独存在于染色体 11 上. 卵黄蛋白原分子进化比较保守,不同种类之间具有一定同源性^[8]. 因此,通过检测 VTG 的 mRNA 水平的变化,能够探索不同化学物质的内分泌干扰作用机制. 已有报道 17 β -雌二醇能够引起 VTG1 mRNA 水平升高^[9],而 VTG3 在生物体中位点不同于其他 VTG,故本研究中采用 VTG1 和 VTG3 作为检测指标.

全氟辛烷磺酸 (perfluorooctane sulfonate, PFOS) 是一类重要的全氟表面活性剂,广泛用于近千种不同民用和工业产品生产中,由于其高度稳定性,已成为新型持久性有机污染物质. PFOS 可以通过呼吸和食物被生物体摄取,有很高生物蓄积性(易于在生物体内富集),可能具有内分泌干扰毒性、遗传毒性、肝脏毒性等^[10-13]. 2006 年 12 月 27 日,欧洲议会和部长理事会联合发布《关于限制全氟辛烷磺酸销售及使用的指令》(2006/122/EC),并于 2008 年 6 月 27 日正式实施,对产品中 PFOS 的含量进行了明确规定^[14].

关于 PFOS 暴露对水生鱼类 VTG 影响的研究包括:PFOS 暴露 (10、50、250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 能抑制斑马鱼性腺生长,引起斑马鱼肝脏 VTG 的 mRNA 水平升

高^[15],但 PFOS 暴露剂量较大,且并未区分 VTG1 和 VTG3 的 mRNA 水平变化影响;PFOS 暴露引起黑头呆鱼 (fathead minnow) 和虹鳟鱼 (rainbow trout) 血浆中 VTG 蛋白水平的改变^[16];PFOS 暴露引起剑尾鱼 (swordtail fish) 肝脏中 VTG mRNA 水平的改变^[17]. 目前尚未见环境低剂量 PFOS 暴露对斑马鱼 VTG1 和 VTG3 的 mRNA 水平变化影响的研究.

本研究以斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 为试验动物,分析了不同环境低剂量浓度的 PFOS 暴露对斑马鱼肝脏中 VTG1 和 VTG3 mRNA 水平的影响,以探讨 PFOS 对水生鱼类内分泌干扰作用和可能的毒性作用机制,并筛选相关的敏感生物标志物.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:荧光定量 PCR 仪 (ABI-7500,ABI 公司,美国),混合型球磨仪 (MM400,RETSCH 公司,德国),冷冻离心机 (3-18K, Sigma 公司,德国),涡旋混匀器 (IKA MS3 digital,北京德泉兴贸有限公司);紫外分光光度计 (UNIC 4802 UV/Vis Spectrophotometer,北京德泉兴贸有限公司);peqSTAR 梯度 PCR 仪 (德国 peqLab,北京德泉兴贸有限公司);微型离心机 (BAYGENE QspinTM,北京德泉兴贸有限公司).

试剂:全氟辛烷磺酸 (Assay LC-MS 98% ,Sigma-Aldrich 公司,美国); Trizol 试剂 (CAS 15596-026, Invitrogen Beijing Office); 三氯甲烷,异丙醇,乙醇 (北京化工厂,分析纯); 氧化锆 (3 mm, BioLAB Materials Institute); Oligo dT (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), dNTP (99% 以上, 2.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Quant Reverse Transcriptase, 10 \times RT Buffer, RNase-free H₂O [TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD]; Taqman Mixture (2 \times), ROXII [TakaRa, 宝生物工程 (大连) 有限公司], 目的基因和内参基因引物和探针 (Invitrogen 英潍捷基 (上海) 贸易有限公司). 基因引物和探针设计分别如表 1.

表 1 目的基因和内参基因引物和探针序列

Table 1 Primer and labeled probe sequences of the target genes and β -actin used for RT-PCR

引物和探针名称	序列 (5'-3')	扩增产物
vtg1 F-2654	CAGCAAGAGCAGACATTCTCAAG	106
vtg1 R-2759	CTGACCAACGGCATAAGTCTCAA	
vtg1 Probe 2679-2703	FAM-CAACTACAAGGTGGAGGCTCTGCCTGT-TAMRA	100
vtg3 F-2696	CCGAATTATTTTCAGTCAGTTCTAATGT	
vtg3 R-2795	TCCCCTGTCTCAGGCATCAT	100
vtg3 probe 2744-2759	FAM-ACCCAACCTCATCTAAAATAACCCCATG-TAMRA	
actinF-192	CCTGACCCTCAAATACCCCAT	100
actinR-291	GGCAACACGGAGCTCATTTG	
actinProbe 222-249	JOE-TATTGTGACCAACTGGGATGACATGGAG-TAMRA	

1.2 供试生物

试验鱼:斑马鱼(*Brachydanio rerio*), 体长 1.0 ~ 1.5 cm, 体重 0.120 ~ 0.220 g, 雌雄兼有, 购于北京市东郊市场. 采用反渗透纯净水机制备的水, 确保此水质符合 OECD 试验要求^[2]. 试验前将雌雄斑马鱼分开, 在试验条件下预养 7 d, 水温(25 ± 2) °C, 饲养容器为 2 L 烧杯, 饲养密度不大于 1 g·L⁻¹ (即每升水容纳斑马鱼的质量为 1 g), 每日光照 12 ~ 14 h, 早晚定时投喂孵化的丰年虫 2 次, 并每天清除排泄物, 预养期间斑马鱼死亡率不超过 5%.

1.3 21 d 毒性试验

预养结束后停止喂食 1 d, 然后进行以下试验: 设置染毒浓度为 0.1、1、10、100 μg·L⁻¹ 的 4 个试验组, 同时设置空白对照组, 每组 3 个平行样, 分别对雌、雄斑马鱼进行 21 d 的毒性试验. 试验在 2 L 烧杯中进行, 每缸内盛有 1.8 L 不同浓度的染毒液, 且每缸随机投放 8 尾斑马鱼. 暴露期间水温维持在 (25 ± 2) °C, 采用每周 2 次更换全部药液的半静态法进行暴露, 暴露周期为 21 d, 暴露期间每天喂食 2 次, 其余条件与预养期间相同.

1.4 肝脏提取

21 d 染毒结束后, 立即捞出斑马鱼并将其置于冰上冷冻处死, 每浓度组中分别取雌雄性斑马鱼肝脏 3 ~ 5 个 (约 20 mg 左右), 置于 1 mL Trizol 试剂中, 加入 1 颗氧化锆的小珠, 于 -80 °C 保存, 留待用于检测 VTG1 和 VTG3 mRNA 水平. 所有操作在冰上完成.

1.5 RNA 提取

将冷冻的含组织的 Trizol 试剂解冻, 使用组织破碎机在 30 Hz/2 min 进行匀浆. 匀浆后的组织液在冰上孵育 5 min. 在组织液中加入 200 μL 三氯甲烷, 颠倒混匀后冰浴 3 min. 以 12 000 r·min⁻¹ 的速度 4 °C 离心 15 min, 可见蛋白沉淀. 取 300 μL 上清液移入装有 700 μL 的 100% 异丙醇的 1.5 mL 离心管中, 颠倒混匀, 冰浴 10 min. 于 12 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 10 min, 离心管底部可见白色 RNA 沉淀. 弃去上清液, 加入 1 mL 的 75% 乙醇, 涡旋片刻. 在 7 400 r·min⁻¹, 4 °C 离心 5 min, 弃去上清. 简短离心, 用移液枪吸出残余乙醇, 室温晾干 3 ~ 5 min. 待 RNA 晾至半透明, 视沉淀大小加入适量无 RNA 酶的水. 待溶解后进行反转录.

1.6 反转录

取 1 μL 的 RNA 溶液, 用紫外分光光度法测其浓度并进行适当稀释至适当浓度范围 (200 ~ 500

ng·μL⁻¹), 然后进行反转录. 反转录体系 (20 μL) 为: 10 × RT Buffer 2 μL, Oligo dT (10 μmol·L⁻¹) 2 μL, dNTP (每个 2.5 mmol·L⁻¹) 2 μL, 定量反转录酶 1 μL, RNA 体积 (μL) = 1000/RNA 浓度 (ng·μL⁻¹), 无 RNA 酶的水体积 (μL) = 13 - RNA 体积 (μL). 由于 RNA 提取后马上进行反转录操作, 故反转录反应体系中可不加入 RNA 酶抑制剂.

将上述体系涡旋混匀, 简短离心后进行反转录, 反转录条件设置为: 37 °C 1 h, 94 °C 3 min.

1.7 Real Time PCR

反应体系用 Taqman Mixture + Rox II 进行扩增, 反应体系为目的基因与内参基因在同一管中进行反应, 具体反应体系 (20 μL) 为: Taqman Mixture (2 ×) 10 μL, ROXII 0.4 μL, 目的基因上游引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.4 μL, 目的基因下游引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.4 μL, 目的基因探针 (10 μmol·L⁻¹) 0.4 μL, 内参基因上游引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.4 μL, 内参基因下游引物 (10 μmol·L⁻¹) 0.4 μL, 内参基因探针 (10 μmol·L⁻¹) 0.5 μL, cDNA 模板 2 μL, 无 RNA 酶的水 5.1 μL.

两步法 PCR 扩增标准程序: ① Stage 1: 预变性, Reps: 1, 95 °C 30 s; ② Stage 2: PCR 反应, Reps: 40, 95 °C 5 s, 60 °C 34 s.

1.8 样品相对定量分析结果

用 AB 7500 型荧光定量 PCR 仪, 采用 2^{-ΔΔC_t} 法进行数据的相对定量分析. 根据 Real Time PCR 原始检测结果, 按照 2^{-ΔΔC_t} 相对定量计算公式, 即:

$$F = 2^{-\left[\left(\frac{\text{对照组目的基因平均}C_t}{\text{对照组看家基因平均}C_t}\right) - \left(\frac{\text{待检样品目的基因平均}C_t}{\text{待检样品看家基因平均}C_t}\right)\right]}$$

计算出各样品的目的基因相对定量结果, 即各个样品相对于对照样品, 目的基因 mRNA 转录水平的差异.

1.9 数据处理

试验数据用统计学方法进行处理, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行显著性分析, 各数据均用平均值 ± 标准偏差 (Mean ± SD) 表示, 各组间的差异采用单因素方差分析 (ONE-WAY ANOVA), $P \leq 0.05$ 为差异显著.

2 结果与分析

2.1 雄性斑马鱼肝脏中 VTG 含量

雄性斑马鱼肝脏中 VTG1 和 VTG3 含量结果见图 1. 图中数据用平均值 ± 标准偏差 (Mean ± SD) 表示, 每组数据样本量 $n \geq 3$. 柱形上方参数有一个字

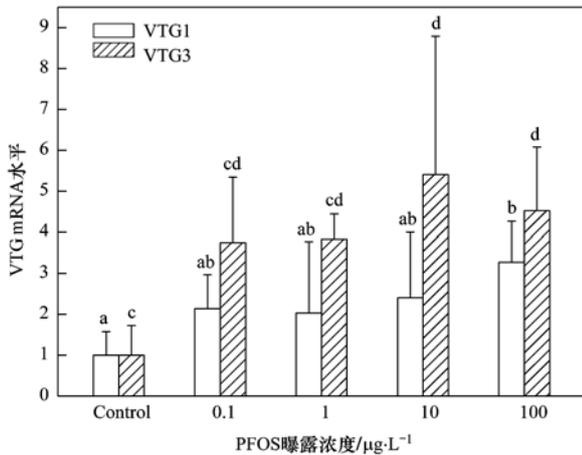


图1 PFOS暴露对雄性斑马鱼肝脏VTG1和VTG3 mRNA水平的影响

Fig. 1 Effects of PFOS on VTG1 and VTG3 mRNA level in livers of male zebrafish

母相同则无显著性差异,反之则有显著性差异($P \leq 0.05$).

由图1可看出,PFOS暴露引起雄性斑马鱼肝脏VTG1和VTG3 mRNA水平升高.其中VTG1 mRNA水平升高与剂量呈正相关,在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异;VTG3 mRNA水平升高与剂量呈倒U型曲线,呈现典型的毒物刺激荷尔蒙效应,在10和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异.

2.2 雌性斑马鱼肝脏中VTG含量

雌性斑马鱼肝脏中VTG1和VTG3含量结果见图2.图中数据用平均值 \pm 标准偏差(Mean \pm SD)表示,每组数据样本量 $n \geq 3$.柱形上方参数有一个字母相同则无显著性差异,反之则有显著性差异($P \leq$

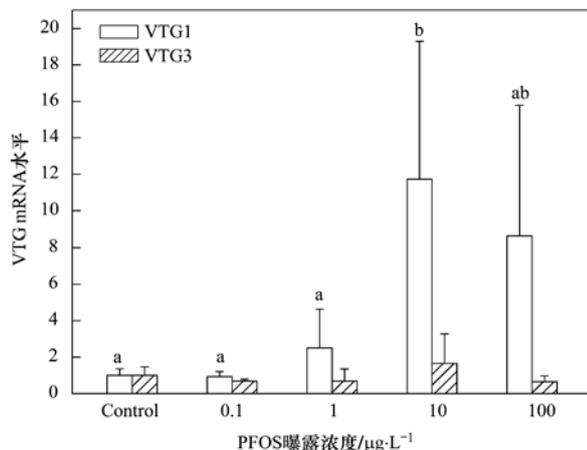


图2 PFOS暴露对雌性斑马鱼肝脏VTG1和VTG3 mRNA水平的影响

Fig. 2 Effects of PFOS on VTG1 and VTG3 mRNA level in livers of female zebrafish

0.05).

由图2中可看出,PFOS暴露引起雌性斑马鱼肝脏中VTG1 mRNA水平升高,在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异,但在高浓度(10和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)处试验结果误差较大;VTG3 mRNA水平只在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处升高,但相比于对照组均没有显著性差异.

3 讨论

VTG是由内源性雌激素或外源性雌激素作用下,刺激卵生动物肝细胞(作用于肝雌激素受体)而产生的,经血运输到卵巢,经过修饰后以卵黄蛋白形式储存于卵母细胞,为胚胎的发育提供氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、磷和硫等营养和功能物质.通过测定体内VTG可以评价环境内分泌干扰物的雌激素活性.试验结果表明,PFOS暴露引起雄性和雌性斑马鱼肝脏中VTG mRNA水平升高,说明PFOS暴露对斑马鱼的内分泌干扰作用明显,其毒性作用机制可能是类雌激素效应,肝脏中VTG1和VTG3 mRNA水平可能作为PFOS内分泌干扰效应评价的敏感生物标志物.

试验结果还表明,PFOS暴露后雄性鱼和雌性鱼VTG mRNA水平响应情况不同,呈现性别差异.其中,PFOS暴露引起雄性斑马鱼肝脏VTG1和VTG3 mRNA水平升高,雌性斑马鱼肝脏中VTG1 mRNA水平虽然在高浓度暴露时升高,但试验结果误差较大,而雌性斑马鱼VTG3 mRNA水平相比于对照组均没有显著性差异.说明雄鱼可能对PFOS暴露更为敏感,在低环境剂量浓度(0.1、1、10、 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)时VTG mRNA水平就与对照组呈现显著性差异,而雌鱼可能对PFOS暴露耐受性稍高,在本测试的环境剂量浓度下,VTG3 mRNA水平与对照组不呈现显著性差异.

另外,试验结果还表明,PFOS暴露引起VTG1和VTG3 mRNA水平响应情况也不同,呈现基因亚型差异.其中PFOS暴露引起VTG1 mRNA水平升高,在0.1、1、10、 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 测试浓度,雄鱼VTG1 mRNA水平升高与剂量呈正相关,在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异,说明 $\geq 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度有可能是VTG1 mRNA水平的响应敏感浓度区,在此浓度范围VTG1 mRNA水平升高,呈现一定的类雌激素内分泌干扰效应.另外,PFOS暴露引起雄鱼VTG3 mRNA水平升高与剂量呈倒U型曲线,呈现典型的毒物刺激荷尔蒙效应,在10和

100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度处与对照组呈现显著性差异, 说明 10 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露浓度范围有可能是 VTG1 mRNA 水平的响应敏感浓度区, 在此浓度范围以下低浓度作用下 VTG1 mRNA 水平明显升高, 呈现明显的毒物作用效应, 而超过此浓度范围在较高浓度下呈现饱和抑制效应, 这也说明 PFOS 对斑马鱼毒性作用可能呈现典型的类雌激素内分泌干扰效应。故比较而言, 低环境剂量的 PFOS 暴露后肝脏中 VTG3 mRNA 水平变化比 VTG1 mRNA 水平更为敏感。

已有报道表明 PFOS 很可能干扰生物体内分泌系统, 例如 PFOS 显著调控斑马鱼胚胎中与雄激素、雌激素和甲状腺素发展相关的基因 mRNA 水平^[18,19], 改变淡水雄性罗非鱼的原代培养的肝细胞中雌激素活性, 抑制斑马鱼性腺生长并引起斑马鱼肝脏 VTG 的 mRNA 水平升高^[15], 引起黑头呆鱼和虹鳟鱼血浆中 VTG 水平的改变^[16], 引起剑尾鱼肝脏中 VTG mRNA 水平改变^[17], 干扰雄性大鼠甲状腺素荷尔蒙代谢基因^[20], 干扰大鼠甲状腺素功能^[21~24] 和神经内分泌系统^[25], 等。本研究结果在已有研究报道的基础上, 进一步确证了 PFOS 暴露对斑马鱼内分泌系统的类雌激素干扰效应, 同时表明 VTG1 和 VTG3 mRNA 水平的变化能评价 PFOS 暴露造成斑马鱼的内分泌干扰效应, 且 VTG3 mRNA 水平响应可能比 VTG1 更敏感。

4 结论

本试验结果表明 PFOS 暴露对斑马鱼内分泌干扰作用明显, 其毒性作用机制可能是类雌激素效应, 而肝脏中 VTG1 和 VTG3 mRNA 水平可能作为 PFOS 内分泌干扰效应评价的敏感生物标志物, 但 VTG1 和 VTG3 mRNA 水平的响应曲线呈现基因亚型和性别差异。

致谢: 感谢中国科学院生态环境研究中心王子健研究员、查金苗副研究员和北京大学生命科学学院张博教授的帮助和支持。

参考文献:

- [1] 刘淑芬, 方清明, 金祖亮, 等. 蛋白质加合物作为分子生物标志物的分析研究 [J]. 环境科学, 2000, **21**(5): 6-11.
- [2] OECD. OECD guideline for the testing of chemicals, OECD TG 230. 21-day Fish assay: a short-term screening for oestrogenic and androgenic activity, and aromatase inhibition [R]. OECD, 2009.
- [3] Sumpter J P, Jobling S. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment [J]. Environmental Health Perspectives, 1995, **103**(Suppl 7): 173-178.
- [4] Andersen L, Goto-Kazato R, Trant J M, et al. Short-term exposure to low concentrations of the synthetic androgen methyltestosterone affects vitellogenin and steroid levels in adult male zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Aquatic Toxicology, 2006, **76**(3-4): 343-352.
- [5] 张晖, 孔繁翔, 王世和, 等. 4 种环境雌激素对淡水鱼卵黄蛋白原诱导的混合物效应研究 [J]. 环境科学, 2008, **29**(7): 2005-2011.
- [6] Tong Y, Shan T, Poh Y K, et al. Molecular cloning of zebrafish and medaka vitellogenin genes and comparison of their expression in response to 17 β -estradiol [J]. Gene, 2004, **328**: 25-36.
- [7] Wang H, Tan J T T, Emelyanov A, et al. Hepatic and extrahepatic expression of vitellogenin genes in the Zebrafish, *Danio rerio* [J]. Gene, 2005, **356**: 91-100.
- [8] Mouchel N, Trichet V, Naimi B Y, et al. Structure of a fish (*Oncorhynchus mykiss*) vitellogenin gene and its evolutionary implication [J]. Gene, 1997, **197**(1-2): 147-152.
- [9] Alberti M, Kausch U, Haindl S, et al. Gene expression analysis for exposure to estrogenic substances [J]. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2005, **33**(1): 38-44.
- [10] Jensen A A, Leffers H. Emerging endocrine disruptors: perfluoroalkylated substances [J]. International Journal of Andrology, 2008, **31**(2): 161-169.
- [11] Clarke B O, Smith S R. Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids [J]. Environment International, 2011, **37**(1): 226-247.
- [12] 叶露, 吴玲玲, 蒋雨希, 等. PFOS/PFOA 对斑马鱼 (*Danio rerio*) 胚胎致毒效应研究 [J]. 环境科学, 2009, **30**(6): 1727-1732.
- [13] 周启星, 胡献刚. PFOS/PFOA 环境污染行为与毒性效应及机理研究进展 [J]. 环境科学, 2007, **28**(10): 2153-2162.
- [14] EU. Directive 2006/122/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 amending for the 30th time Council Directive 76/769/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations (perfluorooctane sulfonates) [R]. EU, 2006.
- [15] Du Y B, Shi X J, Liu C S, et al. Chronic effects of water-borne PFOS exposure on growth, survival and hepatotoxicity in zebrafish: a partial life-cycle test [J]. Chemosphere, 2009, **74**(5): 723-729.
- [16] Oakes K D, Sibley P K, Martin J W, et al. Short-term exposures of fish to perfluorooctane sulfonate: acute effects on fatty acyl-coa oxidase activity, oxidative stress, and circulating sex steroids [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2005, **24**(5): 1172-1181.
- [17] Han J, Fang Z Q. Estrogenic effects, reproductive impairment and developmental toxicity in oviparous swordtail fish

- (*Xiphophorus helleri*) exposed to perfluorooctane sulfonate (PFOS) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, **99**(2): 281-290.
- [18] Shi X J, Du Y B, Lam P K S, *et al.* Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2008, **230**(1): 23-32.
- [19] Shi X J, Liu C S, Wu G Q, *et al.* Waterborne exposure to PFOS causes disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2009, **77**(7): 1010-1018.
- [20] Martin M T, Brennan R J, Hu W Y, *et al.* Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity [J]. *Toxicological Sciences*, 2007, **97**(2): 595-613.
- [21] Yu W G, Liu W, Jin Y H. Effects of perfluorooctane sulfonate on rat thyroid hormone biosynthesis and metabolism [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, **28**(5): 990-996.
- [22] Thibodeaux J R, Hanson R G, Rogers J M, *et al.* Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: maternal and prenatal evaluations [J]. *Toxicological Sciences*, 2003, **74**(2): 369-381.
- [23] Lau C, Thibodeaux J R, Hanson R G, *et al.* Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation [J]. *Toxicological Sciences*, 2003, **74**(2): 382-392.
- [24] Chang S C, Thibodeaux J R, Eastvold M L, *et al.* Negative bias from analog methods used in the analysis of free thyroxine in rat serum containing perfluorooctanesulfonate (PFOS) [J]. *Toxicology*, 2007, **234**(1-2): 21-33.
- [25] Austin M E, Kasturi B S, Barber M, *et al.* Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2003, **111**(12): 1485-1489.

CONTENTS

Regional Heterogeneity of Lake Eutrophication Effects in China	CAO Jin-ling, XU Qi-gong, XI Bei-dou, <i>et al.</i> (1777)
Correlating Landscape Pattern with Total Nitrogen Concentration Using a Location-weighted Sink-source Landscape Index in the Haihe River Basin, China	SUN Ran-hao, CHEN Li-ding, WANG Wei, <i>et al.</i> (1784)
Impact of the Land-use Change on the Non-point Source Nitrogen Load in Yunneng Lake Watershed	MENG Xiao-yun, YU Xing-xiu, PAN Xue-qin (1789)
Residue Characteristics and Distributions of Perfluorinated Compounds in Surface Seawater Along Shenzhen Coastline	CHEN Qing-wu, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i> (1795)
Distribution and Potential Ecological Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediments from Typical Electronics Industrial Zone	DENG Dai-yong, QIU Meng-de, SUN Guo-ping, <i>et al.</i> (1801)
Residues and Potential Ecological Risk Assessment of Metal in Sediments from Lower Reaches and Estuary of Pearl River	XIE Wen-ping, WANG Shao-bing, ZHU Xin-ping, <i>et al.</i> (1808)
Character and Sources Identification of Heavy Metals Contamination in Sediment from the Core Sediment in Nanshan Lake, the Zhalong Wetland	SU Dan, ZANG Shu-ying, YE Hua-xiang, <i>et al.</i> (1816)
Distribution Characteristics of Phosphorus Forms in Surface Sediments of the Shantou Bay in China	ZHAO Jian-gang, QIAO Yong-min (1823)
Microcosm Experiments on the Influence of Different N/P Ratios on Phytoplankton Community Growth in the East China Sea	HUANG Wei, ZHU Xu-yu, ZENG Jiang-ning, <i>et al.</i> (1832)
Species Composition and Distribution Characteristics of Pelagic Copepods in the Northern Sea of Fujian During Withdraw of Zhe-Min Coastal Current	WANG Yan-guo, LIN Jing-hong, WANG Chun-guang, <i>et al.</i> (1839)
PAHs Concentrations in Aquatic Products and Food Safety Evaluation in the Coupled Mangrove Planting-Aquaculture Ecological System	CHEN Guan-qiu, LI Yao-chu, HUANG Jin-mu, <i>et al.</i> (1846)
Tissue Distribution and Bioconcentration Factors of Tetrabromobisphenol A in Five Fishes in Lake Chaohu	YANG Su-wen, WANG Sheng-rui, YAN Zhen-guang, <i>et al.</i> (1852)
Induction Effects of Pentachlorophenol on Vitellogenin and p53 in Chinese Rare Minnow (<i>Gobiocypris rarus</i>)	XIONG Li, MA Yong-peng, ZHANG Xiao-zheng, <i>et al.</i> (1858)
Effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Exposure on Vitellogenin mRNA Level in Zebrafish (<i>Brachydanio rerio</i>)	CHENG Yan, CUI Yuan, DANG Zhi-chao, <i>et al.</i> (1865)
Relationship Between Electron Transfer Capacity and Fluorescence Characteristics of Dissolved Organic Matter	TAO Ya, YUAN Tian, ZHOU Shun-gui, <i>et al.</i> (1871)
Characterization of the Change in DOM During Municipal Secondary Effluent Treatment with Magnetic Ion Exchange Resin by 3DEEM	YANG Jian, GAO Jin-hua, CHANG Jiang (1878)
Reverse Osmosis Membrane Fouling by Humic Acid Using XDLVO Approach; Effect of Calcium Ions	YAO Shu-di, GAO Xin-yu, GUO Ben-hua, <i>et al.</i> (1884)
Growth, Removal of Nitrogen and Phosphorus, and Lipid Accumulation Property of <i>Scenedesmus</i> sp. LX1 in Aquaculture Wastewater	MA Hong-fang, LI Xin, HU Hong-ying, <i>et al.</i> (1891)
Iron Chloride for Simultaneous Denitrification and Chemical-Biological Flocculation Process	WANG Hong-jie, DONG Wen-yi, LIU Li-sha, <i>et al.</i> (1897)
Characteristic Research of Shortcut Denitrification in Synthetic Ammonia Industrial Wastewater Treatment Process	LI Yan, LI Ze-bing, MA Jia-xuan, <i>et al.</i> (1902)
Stability Control of Aerobic Granules Using an Innovative Reactor	LI Zhi-hua, YANG Fan, LI Sheng, <i>et al.</i> (1907)
Description of the Stability of Granules Using Nongrowth-related Parameters	LI Zhi-hua, WU Jun, LI Sheng, <i>et al.</i> (1913)
Enhancement of Anaerobic Digestion of Excess Sludge by Acid-Alkali Pretreatment	YUAN Guang-huan, ZHOU Xing-qiu, WU Jian-dong (1918)
Pilot Validation of Sludge Concentration Partition at Small Reflux Ratio Condition	SHI Si, WANG Su-lan, LI Rui, <i>et al.</i> (1923)
Influence of Non-ionic Surfactants on Sludge Dewaterability	HOU Hai-pan, PU Wen-hong, SHI Ya-fei, <i>et al.</i> (1930)
Variation Characteristics and Influencing Factors of Air Pollution Index in China	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, WANG Sheng-jie, <i>et al.</i> (1936)
Characteristics of Aerosol Water-Soluble Inorganic Ions in Three Types Air-Pollution Incidents of Nanjing City	ZHANG Qiu-chen, ZHU Bin, SU Ji-feng, <i>et al.</i> (1944)
Characterization of Atmospheric PM _{2.5} in the Suburb of Shenzhen	DAI Wei, GAO Jia-qi, CAO Gang, <i>et al.</i> (1952)
Analysis on Oil Fume Particles in Catering Industry Cooking Emission	TAN De-sheng, KUANG Yuan-cheng, LIU Xin, <i>et al.</i> (1958)
Low-Temperature Catalytic Reduction of NO over Fe-MnO _x -CeO ₂ /ZrO ₂ Catalyst	LIU Rong, YANG Zhi-qin (1964)
CO ₂ Absorption and Regeneration Performance of a Natural Amino Acid and Its Potassium Salt	YAN Shui-ping, CHEN Jing-ao, XU Ming-liang, <i>et al.</i> (1971)
Effects of Tillage-Cropping Systems on Methane and Nitrous Oxide Emissions from Agro-Ecosystems in a Purple Paddy Soil	ZHANG Jun-ke, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (1979)
Factors Influencing Ammonia Volatilization in a Winter Wheat Field with Plastic Film Mulched Ridges and Unmulched Furrows	SHANGGUAN Yu-xian, SHI Ri-peng, LI Na, <i>et al.</i> (1987)
Effects of Typical Herbicides on Soil Respiration and N ₂ O Emissions from Soil Added with Different Nitrogen Fertilizers	SUN Qing, SHI Chun-xing, SHI Kun, <i>et al.</i> (1994)
Analysis of Characteristics of Dioxin Contamination in the Chlor-alkali Site that Uses Graphite Anode for Production	YU Li-feng, WEI Wen-xia, TIAN Ya-jing, <i>et al.</i> (2000)
Effect of Flue Gas Desulfurization Gypsum Application on Remediation of Acidified Forest Soil	LUO Yao, KANG Rong-hua, YU De-xiang, <i>et al.</i> (2006)
Morphology of Soil Iron Oxides and Its Correlation with Soil-Forming Process and Forming Conditions in a Karst Mountain	ZHANG Zhi-wei, ZHU Zhang-xiong, FU Wa-li, <i>et al.</i> (2013)
Pb, Zn Accumulation and Nutrient Uptake of 15 Plant Species Grown in Abandoned Mine Tailings	SHI Xiang, CHEN Yi-tai, WANG Shu-feng, <i>et al.</i> (2021)
Effect of Cr(VI) Stress on Growth of Three Herbaceous Plants and Their Cr Uptake	WANG Ai-yun, HUANG Shan-shan, ZHONG Guo-feng, <i>et al.</i> (2028)
Bioaccumulation of Heavy Metals by the Dominant Plants Growing in Huayuan Manganese and Lead/Zinc Mineland, Xiangxi	YANG Sheng-xiang, TIAN Qi-jian, LIANG Shi-chu, <i>et al.</i> (2038)
Effect of CO ₂ Fertilization on Residual Concentration of Cypermethrin in Rhizosphere of C3 and C4 Plant	MU Nan, DIAO Xiao-jun, WANG Shu-guang, <i>et al.</i> (2046)
Bioaugmented Removal of Pyridine and the Microbial Community Dynamic Analysis	QIAO Lin, ZHAO Hong, WANG Jian-long (2052)
Relationship Between Sewage Treatment Efficiency and Bacterial Community Diversity in an A/O MBR	KUANG Bin-yu, SHI Qing, Montcho Leon Monthero, <i>et al.</i> (2061)
Dynamic Changes in Functional Genes for Nitrogen Cycle During Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil	WU Bin-bin, LU Dian-nan, LIU Zheng (2068)
Risk Assessment of Lead Exposure from Different Intake Pathways for Children in Wuhan City	HAO Han-zhou, CHEN Tong-bin, WU Ji-liang, <i>et al.</i> (2075)
Implementation of a Pretreatment Device for an Electronic Nose	BU Fan-yang, WEN Xiao-gang, WAN Mei, <i>et al.</i> (2083)
Copper and Cadmium Toxicities to Activated Sludge Investigated with ToxTell Biosensor	WANG Xue-jiang, WANG Xin, LIU Mian, <i>et al.</i> (2090)
Matrix Effect and Control of Immunoassay for Environmental Samples	SHENG Jian-wu, HE Miao, SHI Han-chang (2095)
Study on Vitrification of Simulated Medical Wastes by Thermal Plasma	ZHANG Lu, YAN Jian-hua, DU Chang-ming, <i>et al.</i> (2104)
Study on the Low Temperature Drying of Components of Municipal Solid Waste and Its Model Analysis	WU Ya-juan, LIU Hong-mei, LU Sheng-yong, <i>et al.</i> (2110)
Aerogenesis Evolution of the Anaerobic-semiaerobic Bioreactor Landfill	HAN Zhi-yong, LIU Dan, LI Qi-bin (2118)
Performance of Microbial Fuel Cells with Fe/C Catalyst Carbon Felt Air-Cathode for Treating Landfill Leachate	TANG Yu-lan, PENG Man, YU Yan, <i>et al.</i> (2125)
Relationships Between Soil and Rocky Desertification in Typical Karst Mountain Area Based on Redundancy Analysis	LONG Jian, LIAO Hong-kai, LI Juan, <i>et al.</i> (2131)
Energy Consumption and GDP Growth in Beijing: Cointegration and Causality Analysis	CHEN Cao-cao, ZHANG Yan, LIU Chun-lan, <i>et al.</i> (2139)

《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6月15日 33卷 第6期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 6 Jun. 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