

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第4期

Vol.33 No.4

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

碳同位素比技术定量估算城市大气 CO₂ 的来源 刘卫, 位楠楠, 王广华, 姚剑, 曾友石, 范雪波, 耿彦红, 李燕 (1041)

广州大气降水中稳定同位素对 2008 年初华南地区冰雪灾害期间水汽来源的反映 廖聪云, 钟巍, 马巧红, 薛积彬, 尹焕玲, 龙昆 (1050)

北京雾霾天气期间气溶胶光学特性 于兴娜, 李新妹, 登增然登, 德庆央宗, 袁帅 (1057)

白马泉风景区夏季大气 PM_{2.5} 中二次有机物的初步研究 代东决, 李黎, 刘子芳, 赵敏, 冯加良, 赖玮, 曾燕梅, 周宇, 刘露云, 邓仕槐 (1063)

机动车尾气排放 VOCs 源成分谱及其大气反应活性 乔月珍, 王红丽, 黄成, 陈长虹, 苏雷燕, 周敏, 徐骅, 张钢锋, 陈宜然, 李莉, 陈明华, 黄海英 (1071)

法国梧桐叶片氮含量及氮同位素对城市大气湿沉降氮的响应研究 王燕丽, 肖化云, 肖红伟 (1080)

胶州湾及邻近海域表层海水中一氧化氮浓度分布及其影响因素探讨 薛超, 刘春颖, 杨桂朋, 祝陈坚, 张洪海 (1086)

基于不确定性分析的太湖水体多环芳烃的生态风险评价 郭广慧, 吴丰昌, 何宏平, 冯承莲, 张瑞卿, 李会仙 (1091)

流域水质时空分布特征及其影响因素初析 黄金良, 黄亚玲, 李青生, 周增荣, 冯媛, 张祯宇 (1098)

潮白河周丛生物群落元素组成与水质变化的生态计量学关系研究 崔经国, 单保庆, 王帅 (1108)

春季盘溪河水质日变化规律及水质评价 张千千, 王效科, 郝丽岭, 逯非, 欧阳志云, 侯培强 (1114)

西南喀斯特流域风化作用季节性变化研究 肖琼, 沈立成, 杨雷, 伍坤宇, 陈展图 (1122)

三峡水库开县消落区水域冬季蓄水期间藻类群落结构与水质评价 郭劲松, 谢丹, 李哲, 陈园, 孙志禹, 陈永柏, 龙曼 (1129)

淀山湖水华高发期浮游植物群落变化特征研究 徐春燕, 杨洁, 马明睿, 胡雪芹, 由文辉 (1136)

三峡库区典型消落带草本植物氮磷养分浸泡释放实验 王建超, 朱波, 汪涛, 易礼军 (1144)

沂蒙山区典型小流域特殊降雨的磷素输出特征 李振炜, 于兴修, 刘前进, 井光花 (1152)

合肥城区地表灰尘氮磷形态分布及生物有效性 李如忠, 周爱佳, 童芳, 李峰, 钱家忠 (1159)

鹤地水库沉积物营养盐及重金属分布和污染特征分析 张华俊, 陈修康, 韩博平, 罗勇, 杨浩文, 曾艳, 陈敬安 (1167)

三门峡库区河流湿地沉积物重金属赋存形态和风险评价 敖亮, 单保庆, 张洪, 唐文忠 (1176)

黄河三角洲滨海湿地表层沉积物重金属区域分布及生态风险评价 刘志杰, 李培英, 张晓龙, 李萍, 朱龙海 (1182)

竺山湾重金属污染底泥环保疏浚深度的推算 姜霞, 王雯雯, 王书航, 金相灿 (1189)

雷州近海、流沙湾和深圳湾沉积物 PAHs 污染特征分析 赵利容, 孙省利, 柯盛 (1198)

中国与印度典型城市道路街尘中多环芳烃与黑碳的对比研究 潘苏红, 张千, 孙亚莉, 解启来 (1204)

三江平原典型灌区井灌地下水中铁的随水迁移特征 邹元春, 于晓菲, 霍莉莉, 吕宪国, 姜明 (1209)

海水淡化水在既有管网输配的铁释放控制研究 田一梅, 刘扬, 赵鹏, 单金林, 杨所印, 刘伟 (1216)

新生态铁的混凝作用探索 杨雪, 张景成, 关小红 (1221)

饮用水中甲羟孕酮的臭氧氧化降解研究 岳婵媛, 缪恒锋, 任洪艳, 阮文权 (1227)

核壳式磁性碳纳米吸附剂的制备及其对水环境中金霉素的吸附研究 王懿萱, 张娣, 牛红云, 孟昭福, 蔡亚岐 (1234)

络合-超滤耦合工艺去除水中镍离子的研究 秦妹, 邵嘉慧, 何义亮, 李雯奎 (1241)

赤铁矿光助类 Fenton 降解有毒有机污染物 张钰, 顾彦, 杨慧, 何燕, 李瑞萍, 黄应平, 张爱清 (1247)

掺氮 Ta₂O₅ 诱发可见光-类 Fenton 体系降解阿特拉津研究 赵璐, 邓一荣, 杜瑛珣, 傅翔 (1252)

O₃/H₂O₂ 降解水中扑灭通效能研究 李绍峰, 孙楚 (1260)

Pr-N 共掺杂 TiO₂ 光电催化降解孔雀石绿动力学 沙爽, 周少奇, 张小娜, 周晓 (1267)

铜陵相思谷尾矿用于处理酸性矿山排水的实验研究 张楠, 陈天虎, 周跃飞, 黎少杰, 金杰, 王延明 (1272)

聚合铝铁对 A²/O 系统 EPS 及生物絮凝性能的影响 温沁雪, 刘爱翠, 陈志强, 施汉昌, 吕炳南 (1278)

温度对污水脱氮系统污染物去除效果及氧化亚氮释放的影响 张婷婷, 张建, 杨芳, 谢慧君, 胡振, 李一冉 (1283)

温度对厌氧氨氧化反应器脱氮效能稳定性的影响 李祥, 黄勇, 郑宇慧, 袁怡, 李大鹏, 潘杨, 张春蕾 (1288)

好氧颗粒污泥处理制糖工业废水厌氧出水的除磷特性研究 王硕, 于水利, 时文歆, 暴瑞玲, 衣雪松, 李建政 (1293)

除磷颗粒污泥系统中不同粒径颗粒的理化特性分析 李志华, 张玉蓉, 杨帆, 李胜, 姬晓琴 (1299)

利用氧化亚氮还原酶基因 (nosZ) 评价人工湿地系统中的反硝化菌 王晓君, 陈少华, 张兆基, 肖俊超 (1306)

紫外诱变法提高好氧反硝化菌降解性能的研究 于佳佳, 陈浚, 杨宣, 陈建孟 (1313)

1 株异养硝化菌胞外聚合物的研究 陈哲, 张斌, 湛志强, 邱志刚, 郭迎庆, 李君文, 王景峰 (1318)

氨氮对稀有鮕鲫胚胎及卵黄囊期仔鱼的毒性效应研究 王志坚, 鲁增辉, 石萍 (1323)

多年蔬菜连作对土壤氨氧化微生物群落组成的影响 孟德龙, 杨扬, 伍延正, 吴敏娜, 秦红灵, 朱亦君, 魏文学 (1331)

生物质炭施用对土壤中氯虫苯甲酰胺吸附及消解行为的影响 王廷廷, 余向阳, 沈燕, 张超兰, 刘贤进 (1339)

水稻光合同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究:¹⁴C连续标记法 聂三安, 周萍, 葛体达, 童成立, 肖和艾, 吴金水, 张杨珠 (1346)

油田污染土壤残留油组成与特征参数分析 王坚, 张旭, 李广贺 (1352)

挥发性氯代烃在湿润土壤中的平衡吸附研究 孟凡勇, 刘锐, 小林刚, 万梅, 余素林, 陈吕军 (1361)

田间土壤外源铜镍在小麦中的累积及其毒害研究 黄锦孙, 韦东普, 郭雪雁, 马义兵 (1369)

中国磷消费结构的变化特征及其对环境磷负荷的影响 马敦超, 胡山鹰, 陈定江, 李有润 (1376)

基于 3MRA 模型的填埋场安全填埋废物污染物阈值评估方法与应用研究 袁英, 席北斗, 何小松, 魏自民, 李鸣晓, 姜永海, 苏婧, 安达 (1383)

填埋垃圾初始含水率对渗滤液产量的影响及修正渗滤液产量计算公式 兰吉武, 詹良通, 李育超, 陈云敏 (1389)

生物反应器填埋场中邻苯二甲酸二丁酯的迁移转化 方程冉, 龙於洋, 沈东升 (1397)

岩溶区峰丛洼地植被指数的克里格分析 杨奇勇, 蒋忠诚, 马祖陆, 曹建华, 罗为群, 李文军, 段晓芳 (1404)

《环境科学》征订启事(1062) 《环境科学》征稿简则(1107) 信息(1135, 1215, 1396)

氨氮对稀有鮡鲫胚胎及卵黄囊期仔鱼的毒性效应研究

王志坚, 鲁增辉, 石萍

(西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 水产科学重庆市市级重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 为探究氨氮溶液暴露对鱼类早期发育阶段产生的毒性, 本研究选取中国特有种稀有鮡鲫为试验材料, 观察并记录了胚胎至卵黄囊期仔鱼发育过程中一些具代表性的毒理学终点, 同时选取了氨转运体蛋白 Rhb_g 基因作为毒性指标, 反映暴露在氨氮溶液中的稀有鮡鲫胚胎的 Rhb_g 基因表达变化情况. 结果表明, 本研究所选取的氨氮溶液暴露影响了胚胎及仔鱼的孵化率、死亡率、心率减缓和心律不齐、未形成功能性的鳔、体长体重的降低以及心包、卵黄囊水肿的发生等多种毒性效应, 对其它毒理学终点有较为微弱的影响. 氨氮溶液的暴露影响了氨转运体蛋白 Rhb_g 基因的表达变化, 特别是在 72 h 时显著性影响了 Rhb_g 基因的表达变化, Rhb_g 基因在稀有鮡鲫胚胎时期氨氮转运方面可能有着重要的功能.

关键词: 氨氮; 稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus*); 胚胎; 卵黄囊期仔鱼; Rhb_g

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)04-1323-08

Study on Toxic Effects of Ammonia on Embryonic and Yolk-sac Stage Larvae of Rare minnow

WANG Zhi-jian, LU Zeng-hui, SHI Ping

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, The Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: To investigate the toxicity to fish which were exposed to ammonia during early life stages. This study choose rare minnow which is unique to China for experimental subject. Representative toxicological endpoints were observed and recorded during the development of embryo and yolk-sac stage larvae. Meanwhile, selected ammonia transporter protein Rhb_g gene as a toxicity parameter to reflect the changes of rare minnow embryos Rhb_g gene expression. The result shows that ammonia we have chosen in this research had an influence on many toxic effects including the hatching rate of fry, mortality rate, the slowing of heart rate and arrhythmia, unformed functional swim bladder, the decreasing of body length and weight and the occurrence of pericardium and yolk-sac edema etc. But other toxicological endpoints have relatively weak effect. The ammonia also affect the Rhb_g gene expression changes, especially that of Rhb_g gene at 72 hours post-fertilization distinctly. Rhb_g may have important functions to facilitate ammonia transport during rare minnow embryo stages.

Key words: ammonia; rare minnow (*Gobiocypris rarus*); embryo; yolk-sac stage larvae; Rhb_g

氨氮在未受污染的正常水体中浓度较低, 但是由于生活污水、工业废水、肥料径流等有机污染会导致水体中氨氮浓度的升高, 氨氮在我国水域污染非常严重, 对渔业以及人民生活造成一定程度的威胁, 一些水体氨氮含量远远超过渔业水质标准. 氨氮对各种水生生物包括鱼类均会产生毒害作用^[1]. 非离子形式的氨对水生生物具有极大的毒性, 它能快速通过细胞膜, 引起鱼类脑能量代谢的损伤、鳃破坏、肝、肾、脾、甲状腺等组织的破坏^[2].

氨氮对鱼类的毒性研究较多, 但是对鱼类早期生活阶段的毒性研究却较少, 尤其是针对鱼类早期生活阶段的毒性效应研究. Brinkman 等^[3]研究了氨氮对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 早期生活阶段的毒性试验, Fairchild 等^[4]报道了 NH₃ 对黑头软口鲮 (*Pimephales promelas*)、科罗拉多米诺狗鱼 (*Ptychocheilus lucius*)、剃刀背胭脂鱼 (*Xyrauchen*

texanus) 平游期仔鱼 28 d 的亚慢性毒性, Mayes 等^[5]以黑头软口鲮为材料做了 28 d 胚胎仔鱼试验, James 等^[6]对黑头软口鲮早期生活阶段进行了 30 d 暴露试验, 蓝伟光等^[7]研究了氨氮对真鲷 (*Pagrus major*) 仔鱼 24、48、96 h 的 LC₅₀, Barimo 等^[8]对海湾豹蟾鱼 (*Opsanus beta*) 胚胎和幼鱼 96 h LC₅₀ 做了研究. 杜浩等^[9]研究了总氨氮对中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 稚鱼的急性毒性. Rhb_g 基因是国外学者新近发现的可能与鱼类的氨转运有关的基因, 目前仅在虹鳟^[10]、花溪鱗 (*Kryptolebias marmoratus*)^[11]、红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*)^[12] 有研究.

本研究首次利用中国特有种稀有鮡鲫

收稿日期: 2011-06-19; 修订日期: 2011-10-12

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2010CB134405)

作者简介: 王志坚 (1969 ~), 男, 副教授, 主要研究方向为鱼类资源与渔业生物学, E-mail: wangzj1969@126.com, wangzj@swu.edu.cn

(*Gobiocypris rarus*)为研究对象,分析了氨氮对稀有鮡鲫胚胎及卵黄囊期仔鱼的毒性效应,同时探讨了稀有鮡鲫胚胎氨转运体蛋白 Rhbg 基因的表达变化.主要目的是为氨氮对鱼类早期生活阶段的毒性提供资料,也为稀有鮡鲫的人工养殖及毒理学研究方面提供参考,同时 Rhbg 基因的表达变化为鱼类的氨运输机制提供了资料.

1 材料与方法

1.1 试验亲鱼饲养及受精卵获取

试验亲鱼为实验室长期饲养的稀有鮡鲫,从养殖群体中选择健康、体表无损伤、体质健壮的成鱼作为亲鱼,饲养于实验室内循环养殖系统中,溶氧 $\geq 7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.每日定时投喂人工配合饵料(四川正大集团)2次,外加丰年虫(天津市丹阳水产科技有限公司)1次.水温保持在 $25^\circ\text{C}\pm 1^\circ\text{C}$,光照:黑暗周期控制在12:12 h.雌雄稀有鮡鲫以1:1比例配对.通过昼夜节律控制,使稀有鮡鲫大约每天20:00左右产卵,在试验当天晚上20:00左右,开始观察雌雄鱼的行为,当观察到雄鱼追逐雌鱼,并用头部顶撞雌鱼腹部等产卵迹象时,将雌雄鱼捞出,人工授精获取受精卵.

1.2 试验用水

整个试验过程中的试验用水,为统一配制、充氧饱和,温度保持 $25^\circ\text{C}\pm 0.5^\circ\text{C}$ 的重组水,参照ISO 6341^[13],用分析纯试剂和双蒸水配制而成.具体方法如下.

储备液:①氯化钙溶液,称取11.76 g $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶于蒸馏水中,稀释至1 L;②硫酸镁溶液,称取4.93 g $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶于蒸馏水中,稀释至1 L;③碳酸氢钠溶液,称取2.59 g NaHCO_3 溶于蒸馏水中,稀释至1 L;④氯化钾溶液,称取0.23 g KCl 溶于蒸馏水中,稀释至1 L.

取4种储备液各25 mL,混合,并用双蒸水稀释至1 L.配置好的稀释水pH值为 7.8 ± 0.2 ,稀释水在用之前曝气3 d以上,用NaOH和HCl调节pH至 8.0 ± 0.05 .

1.3 试验设计

根据Schulte等^[14]长期研究的方法,设计胚胎毒性试验.为减少试验误差,在暴露试验进行之前,挑选形态正常,卵径大小基本一致的鱼卵进行试验.根据预试验结果,设置1个对照组和5个试验浓度组:0、6.25、12.5、25、50、75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.试验重复3次,每个浓度设3个平行组.取胚胎30粒,置于直径

12 cm,高2.0 cm的有盖培养皿中(避免因为水分的蒸发影响试验溶液的浓度),分别注入梯度浓度的 NH_4Cl 溶液40 mL,后将培养皿置于精密恒温液浴槽中,使得水温始终保持在 $25^\circ\text{C}\pm 0.5^\circ\text{C}$.试验期间及时剔除死亡个体,每间隔12 h在显微镜下观察和数据统计,每间隔24 h换2/3同等浓度和pH的溶液,记录试验期间胚胎/幼鱼出现的死亡率、孵化率、心率等以及一些形态学上的畸形等.当用显微镜观察到任一组仔鱼的卵黄囊吸收完全时试验结束,在 $25^\circ\text{C}\pm 0.5^\circ\text{C}$ 下,时间大约为168 h.

1.3.1 死亡的判断标准

死亡的判断标准依不同时期而改变.

受精卵到肌肉效应期之前的胚胎:肉眼观察到胚胎呈白色,在显微镜下能观察到由蛋白质凝固或沉淀导致的白色絮状物形成,胚胎变的不透明.

肌肉效应期胚胎到出膜期胚胎:胚体摆动的停止和心跳消失,及半透明胚胎上有一系列不透光的污点出现.

卵黄囊期仔鱼:呼吸消失,心跳停止或缺乏对机械刺激的反应.

1.3.2 心率的统计

稀有鮡鲫胚胎发育到48 h能观察到明显的心脏搏动.本试验选取发育48 h的胚胎,在40倍焦距的光学显微镜下观察,统计60 s内胚胎的心跳次数,测算胚胎每分钟平均心率.

1.3.3 心包囊和卵黄囊水肿面积的计算

按照Henry等^[15]提供的试验方法来统计胚胎水肿发生的严重程度,水肿的严重程度以水肿面积作为衡量标准.当幼鱼完全侧卧时,划定心包、卵黄区域,计算后分别得出试验组与对照组相应的心包、卵黄面积,并进行分析和比较^[16],如图1(a)、1(b)所示.试验中使用少量麻醉剂MS 222使幼鱼麻醉,并将鱼体小心地调整到合适的位置,使其完全侧卧.在Nikon SMZ1000解剖显微镜下观察并照相,拍照后用Image-Pro Plus 6.0图像软件(Media Cybernetics, America)对心包及卵黄面积进行计算,之后进行数据的统计分析.

1.3.4 仔鱼体长、体重的计算

仔鱼体长的计算采用方法如1.3.3节,在Nikon SMZ1000解剖显微镜下观察并照相,拍照后用Image-Pro Plus 6.0图像软件分析仔鱼体长,如图1(c).

试验结束时,将仔鱼置于60℃的烘箱烘干(24 h), $1/10^5$ g电子天平测量干重.

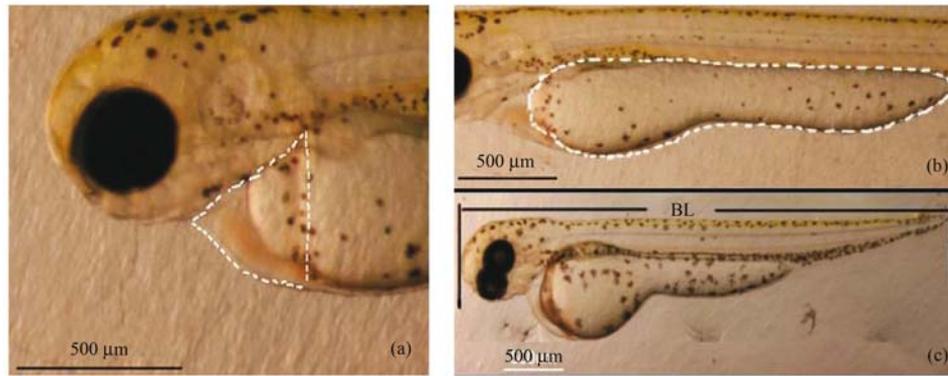


图1 心包水肿面积, 卵黄囊水肿面积及体长的测量

Fig. 1 Area of pericardial edema, area of sac-yolk edema and body length measurement

1.3.5 稀有鮕鲫 Rhbg 基因 mRNA 定量分析

(1) Rhbg 基因引物的设计

在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上查找虹鳟鱼、斑马鱼、大西洋鲑、中华青鲮、红鳍东方鲀的 Rhbg 基因序列, 使用 ClustalW 多序列比对软件找到保守区, 利用 Beacon Designer 软件设计引物 (如表 1), 由 Invitrogen 公司合成。

(2) RNA 的提取及逆转录

选取 24、48、72、96 h 试验组 ($75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和对照组稀有鮕鲫胚胎/仔鱼, 总 RNA 参照 Invitrogen 公司的 RNeasy 试剂盒说明书进行提取, 总 RNA 浓度及 D_{260}/D_{280} 值用 DNA/RNA 浓度测定仪测定。使用 TaKaRa 公司的 PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒将各样品的 RNA 进行反转录, 此试剂盒只需 2 min 就可以除去基因组 DNA, 并且高效合成 Real Time PCR 反应模板 cDNA。

(3) 实时定量 PCR

以各时期不同胚胎/仔鱼的 cDNA 为模板, 每个样品分别用目的基因引物扩增和内参基因 18S 引物扩增, 并重复 3 次。反应体系为 $25 \mu\text{L}$: SYBR® Premix Ex Taq™ II (TaKaRa, Dalian, China) $12.5 \mu\text{L}$, 上下游引物各 $1 \mu\text{L}$, 模板 cDNA $2 \mu\text{L}$, 补充无酶水至终体积。荧光定量反应在 IQ5 (Bio-Rad, USA) 仪器上进行, 反应条件如下: 95°C 30 s; 95°C 5 s, 60°C 30 s, 读板收集荧光, 40 个循环; 熔解曲线从

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 Primers for qRT-PCR

基因简称	引物序列 (5'-3')	产物大小 /bp
Rhbg	F: CGAGAACGACTTCTACTTTTCGC	175
	R: GAAGAAGCCTTGATCAGAG	
18S rRNA	F: CCTGAGAAACGGCTACCACATCC	180
	R: AGCAACTTTAATATACGCTATTGGAG	

60°C 到 95°C , 每隔 0.5°C 读板 5 s。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析荧光定量结果, 并利用统计学软件进行单因素方差分析。

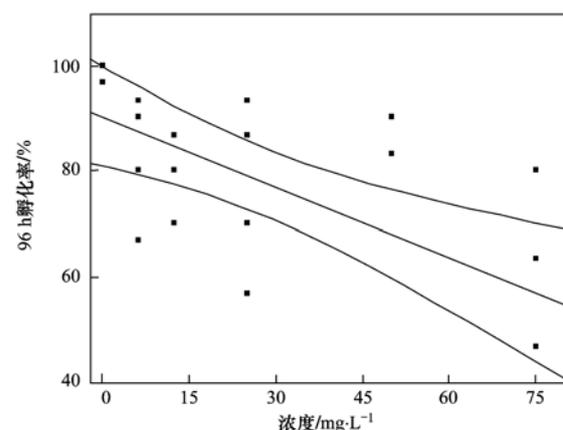
1.3.6 统计分析

试验数据表示为平均值 \pm 标准差 ($M \pm SD$), 利用 SPSS 16.0 统计分析软件中的 One-way ANOVA 程序对数据进行方差分析和 LSD 多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。回归分析采用 Jmp 9.0 软件, 柱形图采用 GraphPad Prism 4 软件。图片处理用 Illustrator 完成。

2 结果

2.1 对胚胎孵化率的影响

胚胎毒性试验结果表明, 随着 NH_4Cl 浓度的增加, 孵化率也相应的随之降低 (图 2), 孵化速率显著性降低, 本试验观察到在 $25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 的情况下, 对



图中每个点代表的是每个培养皿中的 30 个胚胎, 每个浓度有 3 个点 (有些点被覆盖)

图 2 稀有鮕鲫胚胎 96 h 孵化率 ($25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$)

Fig. 2 Hatching success of rare minnow embryos at 96 h ($25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$)

照组稀有鮟鮟胚胎最早能在 60 h 孵化出膜,但 5 个浓度组均未发现出膜现象. 氨氮的暴露延迟了胚胎孵化出膜的时间. 受精后 96 h 未孵化出膜的胚胎,特别是暴露在 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氨氮溶液中未孵化出膜的胚胎大多数最终会在膜内死亡.

2.2 对胚胎死亡率的影响

由图 3 可以看出, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度组相比对照组而言,死亡率无太大差异. $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的死亡率在 72 h 前与其它试验组也无太大差异,然随着胚胎发育的延续,暴露在 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NH_4Cl 浓度组,死亡率显著性升高. 说明氨氮对孵化出膜阶段的稀有鮟鮟胚胎的毒性最大.

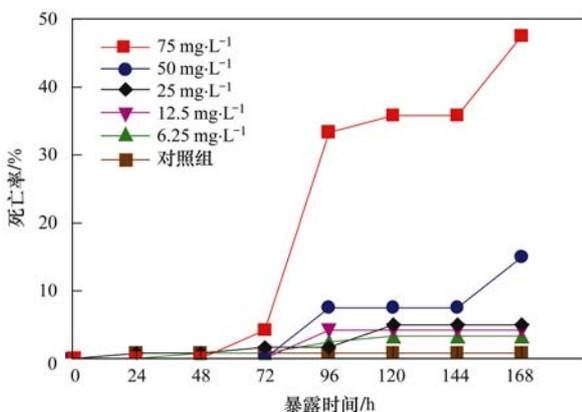


图 3 稀有鮟鮟胚胎平均死亡率

Fig. 3 Average mortality rate during embryonic development of rare minnow embryos

2.3 对胚胎心率的影响

相比较对照组而言, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以及 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NH_4Cl 溶液显著性的降低了稀有鮟鮟胚胎的心

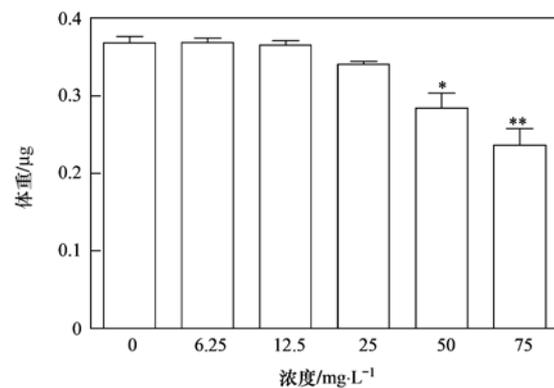
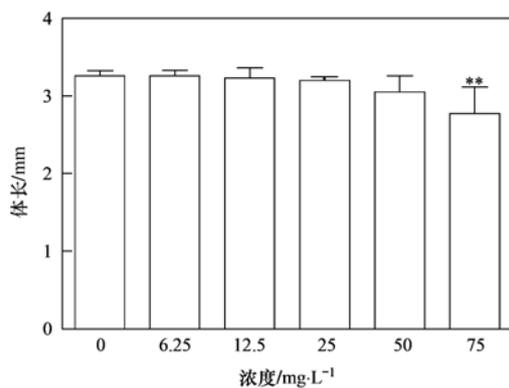


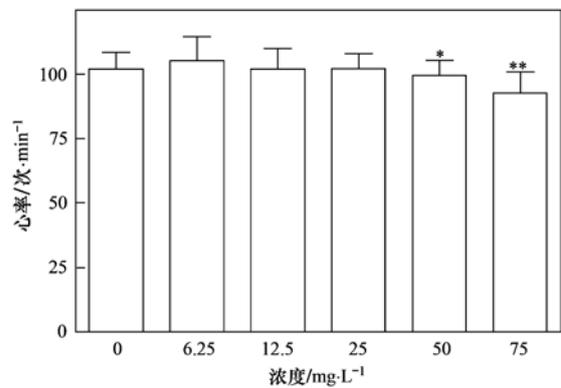
图 5 NH_4Cl 对稀有鮟鮟仔鱼体长及体重的影响 (168 h)

Fig. 5 Effect of ammonium chloride on body length and body weight of rare minnow larva (168 h)

2.5 对鳔的影响

氨氮对稀有鮟鮟胚胎及卵黄囊期仔鱼非常明显的影响体现在功能性鳔的形成. 在 108 h 时即能观察到部分仔鱼已经完成鳔充气, 但是, 在 50

率 (图 4), 心率明显减慢, 其它几组胚胎的心率与对照组相比均未发现有异常情况. 试验中发现随着暴露时间的延长, 胚胎还会出现心律不齐的症状.



各数值用“平均值 \pm 标准差”来表示; * 表示同一时间点时试验组与对照组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$), ** 表示试验组与对照组之间存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 下同

图 4 NH_4Cl 对稀有鮟鮟胚胎 48 h 心率的影响

Fig. 4 Effect of ammonium chloride on heart rate of rare minnow embryos at 48 h

2.4 对仔鱼体长及体重的影响

氨氮对稀有鮟鮟胚胎的影响还体现在影响了仔鱼体长与体重 (图 5) 上. 随着暴露浓度的增加, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的稀有鮟鮟仔鱼在体长方面相比对照组有所降低, $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的仔鱼体长呈显著性降低. 体重方面, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的稀有鮟鮟仔鱼与对照组相比, 呈显著性降低, 而暴露在其它几组较低的浓度组的仔鱼相比对照组无显著性差异.

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NH_4Cl 溶液中, 完成鳔充气的仔鱼数量显著性减少 (图 6), 很多都尚未形成鳔 [图 7(h)]. 随着暴露时间的延长, 一部分仔鱼会形成功能性的鳔, 另一部分未形成功能性鳔的仔鱼会

平躺在水底直至死亡。

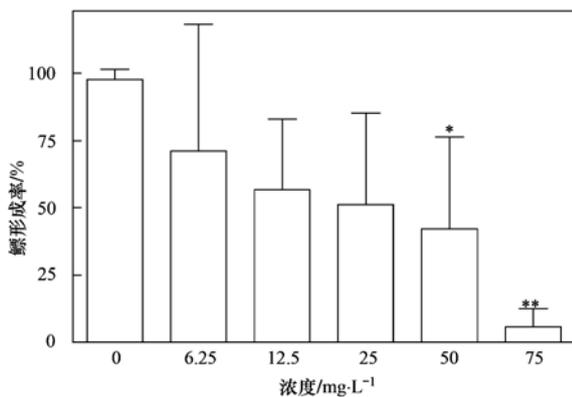


图6 NH_4Cl 对稀有鮕鲫仔鱼鳔形成的影响(108 h)

Fig. 6 Effect of ammonium chloride on swim bladder of rare minnow larva(108 h)

2.6 心包及卵黄囊水肿

本研究中,以相对较低剂量 NH_4Cl 暴露于稀有鮕鲫胚胎,不仅可导致幼鱼心跳速率的减慢,而且能引起轻微的水肿现象.正常的胚胎发育过程中,卵黄面积会因稀有鮕鲫发育过程中营养的吸收而逐渐变小,但氨氮暴露后却诱导了卵黄面积的增加,即胚胎发生了卵黄水肿现象.在相对高浓度组的氨氮溶液($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)中发现部分胚胎发生了心包水肿现象.在观测的时间点并未发现对照组出现心包及卵黄囊水肿现象的发生,且在72 h之前在各浓度组极少观测到水肿,从96 h开始便能观测到 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组出现水肿现象.对心包和卵黄囊面积的统计结果(图8),心包囊面积在低浓度组与高浓度组并无显著性差异,卵黄囊面积却出现了显著性差



(a)、(b)卵凝集;(c)胚胎自溶;(d)胚胎膜内死亡;(e)168 h 正常仔鱼;(f)、(g)168 h 体轴弯曲;
(h)168 h 未形成功能性的鳔;(i)168 h 卵黄囊水肿;(j)168 h 卵黄囊及心包水肿;(k)96 h 血液循环障碍

图7 NH_4Cl 对稀有鮕鲫胚胎/仔鱼的致死及致畸效应

Fig. 7 Effects of exposure to ammonia chloride in developing rare minnow

异.稀有鮕鲫仔鱼的水肿现象见图7(i)和7(j).

2.7 对其它毒理学终点的影响

在所选择浓度的氨氮溶液暴露之下,并未发现氨氮对选取的其它毒理学终点有明显的影响,或者说仅有微弱的影响,如:耳石发育、尾部延伸、肌节发

育等.故在此未作统计说明.另外,在试验中还能观察到 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氨氮溶液影响了仔鱼的血液循环[图7(k)],在显微镜下观察发现,心脏搏动,但是红色的血细胞却仅停留在心脏区域附近,具体原因有待于进一步研究.

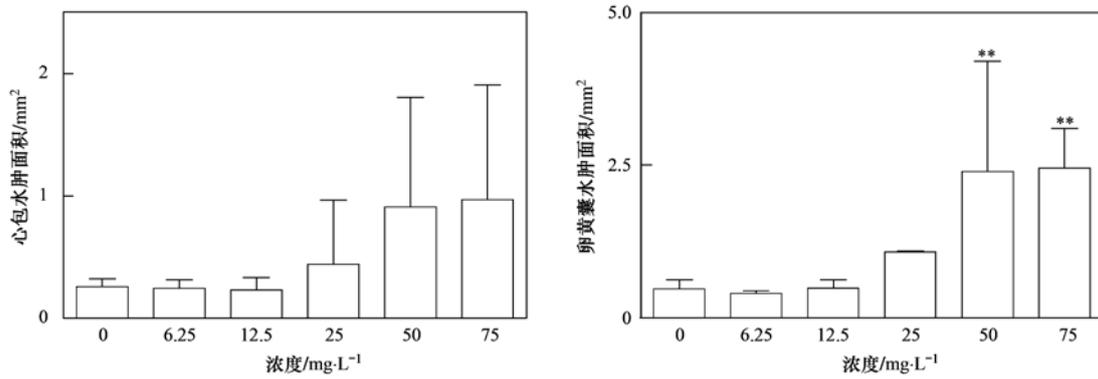
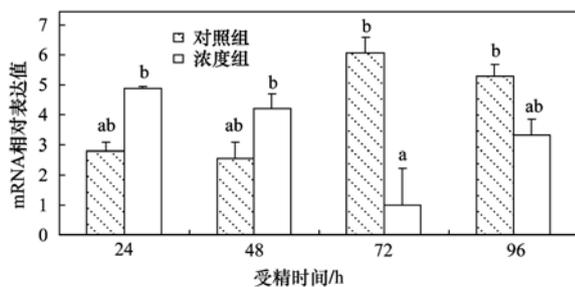


图8 NH_4Cl 对稀有鮡鲫仔鱼心包及卵黄囊面积的影响 (168 h)

Fig. 8 Effect of ammonium chloride on area of pericardium and yolk sac of rare minnow larva (168 h)

2.8 NH_4Cl 暴露对稀有鮡鲫 Rhb g 基因表达的影响

荧光定量的结果显示(图9),在胚胎孵化24 h就能检测到 Rhb g 基因的表达,对照组 Rhb g 基因在4个特定的时间点呈现先升高后降低的趋势,而试验组总体表现为先降低后升高的趋势.在受精后24 h以及48 h,试验组 Rhb g 基因表达量略高于对照组,但是无显著性差异.然而,随着胚胎发育的继续,在受精后72 h时氨氮显著性影响了 Rhb g 基因的表达,表现在试验组相对对照组的表达量有显著性的降低,不过这种作用并未一直持续,试验组 Rhb g 基因的表达量在受精后96 h时恢复到正常水平,与对照组之间无显著性差异.



不同字母表示差异显著, $P < 0.05$

图9 稀有鮡鲫 Rhb g 基因荧光定量分析结果

Fig. 9 Quantitative real-time PCR analysis of Rhb g gene of rare minnow

3 讨论

稀有鮡鲫由于个体小、饲养方便、温度适应范围广、繁殖周期长、繁殖能力强、连续产卵、卵膜透明等优点,目前被广泛应用于毒理学领域的研究.本试验采用相对较低剂量的 NH_4Cl 溶液,对发育初期的稀有鮡鲫持续暴露168 h.选择稀有鮡鲫早期发育过程中不同的时间点(每间隔12 h)进行观察,持续至168 h.在暴露期间,胚胎处于膜内,不能自由游动,

缺乏躲避污染的能力,结果表明, NH_4Cl 溶液暴露引起了仔鱼的死亡、心率减缓和心律不齐、鳃充气的完成、体长体重以及心包、卵黄囊水肿发生等多种毒性效应.

孵化是鱼类生命周期开始的关键,是一系列生物化学和物理学机制联合作用的结果.鱼的孵化是由于孵化酶(包括高绒毛膜酶和低绒毛膜酶)的作用,加上胚胎的扭动,使卵膜破裂完成的^[17].本试验中观察到对照组最早在受精后60 h孵化出膜,而75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验组最早孵化出膜的时间比对照组晚8~12 h,说明氨氮延迟了稀有鮡鲫胚胎的孵化.鱼类孵化酶的水平必然会影响到鱼类胚胎孵化率和出膜时间,有资料表明氨氮对一些酶会产生影响^[18],是否因为氨氮影响了孵化酶的合成和释放等方面,从而导致胚胎孵化率降低和孵化时间的延长,有待于进一步研究.

毒物引起胚胎死亡的原因主要是由于毒物影响了胚胎孵化酶、生物物理学因素和渗透功能所致^[19].本试验氨氮暴露导致胚胎死亡原因可能为氨氮通过卵膜进入胚胎影响了上述一方面或多方面的正常功能,从而导致胚胎死亡.根据氨氮的特殊性质,分析造成受精后72 h之后,75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验组出现死亡率急剧上升的现象原因有2种可能:①刚孵化的幼鱼没有了卵膜的保护,直接暴露于氨氮溶液中;②即将孵化出膜的胚胎卵膜变薄造成氨氮较易渗透进入膜内,对胚体造成损害.

心率的减缓或加快,物质诱导的心率改变可被视为发育缺陷的表现^[20].随着暴露时间的延长,暴露在75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NH_4Cl 溶液中的胚胎还出现了心跳缓慢和心律不齐的症状.氨氮的暴露可能影响了心脏的正常功能.

氨氮溶液对稀有鮡鲫仔鱼体长和体重的影响,

说明氨氮影响了仔鱼的生长. 本试验的结果与 Brinkman 等^[3] 研究结果一致, Brinkman 研究了氨氮对仔鱼生长的影响, 结果表明高浓度的氨氮明显抑制了仔鱼的生长.

初孵仔鱼在发育过程中, 卵黄逐渐消耗, 卵黄囊逐渐缩小, 鱼体比重增加, 这些促使了鳔的形成与充气. 鳔的充气是仔鱼在发育过程中的一个基本事件, 通常在外源性摄食开始和卵黄即将吸收完毕时进行. Spectorova^[21]、Chatain^[22]、Battaglene^[23] 等认为, 仔鱼未能形成功能性的鳔是集约化养殖中, 造成仔鱼大量死亡的一个重要因素. 形成功能性的鳔对仔鱼存活非常重要. 一般认为造成仔鱼鳔器官发育异常有 5 种情况: 光照^[23]、水体充气量^[24]、水表面的油膜^[25]、盐度^[26]、温度^[27]. 本研究结果表明, 养殖水体氨氮浓度可能也是造成仔鱼鳔器官发育异常的又一因素.

本试验过程中, 明显观察到氨氮诱导了稀有鮕鲫仔鱼心包及卵黄囊水肿现象的发生. 心包囊的大小, 也是一个重要的心脏毒性的指标^[28], 所以心包水肿也反映了氨氮对心脏的毒性. 暴露试验中, $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 试验组明显出现部分仔鱼心包水肿的现象. 由于心包及卵黄囊水肿发生率较低, 所以心包的平均面积与对照组并无显著性差异. 另一方面, 从图 8 得知, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 试验组及 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 试验组仔鱼的卵黄囊面积却与对照组有显著性差异. 分析原因在于, 氨氮延迟了稀有鮕鲫胚胎-卵黄囊期仔鱼发育, 导致卵黄囊吸收减慢, 加上暴露试验本身导致的卵黄囊水肿, 二者的综合作用导致试验组与对照组出现显著性差异.

目前, 关于鱼类对氨氮的解毒机制有大量的研究, 但是在鱼类中, 针对氨的转运体 Rh 蛋白在鱼类氨转运方面的研究还处于初步阶段, 本研究选取了氨的转运体蛋白基因 Rhbg, 分析了暴露在氨氮溶液中 96 h 的稀有鮕鲫胚胎的 Rhbg 基因表达情况, 结果显示氨氮溶液从一定程度上影响了稀有鮕鲫胚胎 Rhbg 基因的表达, 特别是在受精后 72 h 显著性降低了 Rhbg 基因的表达. 相比受精后 24 h 以及 48 h 而言, 对照组在受精后 72 h 时, Rhbg 基因表达量上升了 1 倍左右, 原因可能是由于该时期皮肤和卵黄囊膜对胚胎本身代谢产生的氨氮废物和外界的氨氮所做出的升高反应. 鱼类在胚胎以及仔鱼时期, 功能性的鳔还未形成, 皮肤 (特别是卵黄囊膜) 是呼吸及离子调节的主要位置^[29], Hung 等^[11] 对花溪鱖的研究结果表明 Rhbg 基因在多个组织中表达, Rhbg 基

因在促进体内器官对氨运输方面可能有着非常重要的功能. Rhbg 能通过鱼类的鳃和皮肤促进氨的释放, 鳃和皮肤是氨挥发的重要场所^[30,31]. 而试验组在受精后 72 h 时, Rhbg 基因表达量却仅为对照组的 1/5 左右, 原因可能是由于脑组织中 Rhbg 表达量的下降. 暴露在氨氮溶液中 48 h 的虹鳟鱼脑组织中的 Rhbg 基因表达量显著性降低, Nawata 等^[10] 推断虹鳟脑组织中 Rhbg 的下调表达可能是为了阻止过多的氨进入脑细胞的一种保护性反应. Nawata 等^[12] 后来对暴露在高浓度氨氮溶液中的红鳍东方鲀 Rh 蛋白进行了研究, 也得出 Rhbg mRNA 表达水平的下调是由于减少外氨进入扁平细胞 (pavement cells) 的一种保护性反应的结论. 结合本试验研究结果, 该时期的稀有鮕鲫仔鱼脑细胞中的 Rhbg 基因在阻止氨进入脑细胞方面可能起到很重要的作用. 受精后 96 h 稀有鮕鲫胚胎 Rhbg 基因表达水平相近, 无显著性差异. 对照组略微下降, 试验组有所上升, 可能是仔鱼皮肤 Rhbg 基因对外界氨的反应和其它一些消除氨的机制共同作用的结果. 但是基因表达量的变化, 不一定与蛋白质的表达相对应. 由于目前无法得到稀有鮕鲫特异性的 Rh 蛋白抗体, 也就不能对 Rh 蛋白的变化进行定量分析. 以后对 Rh 蛋白在鱼类氨代谢中作用的研究可能首先需要寻求鱼类特异性的 Rh 蛋白抗体.

4 结论

(1) 低剂量的 NH_4Cl 溶液暴露导致稀有鮕鲫胚胎孵化率显著性降低的同时, 延迟了胚胎孵化出膜的时间. 死亡率的升高表明氨氮对胚胎-卵黄囊期仔鱼有一定的毒性作用. 氨氮的暴露还影响了心脏的功能、功能性鳔的形成, 造成了心包及卵黄囊的水肿以及血液循环障碍等毒性效应.

(2) 稀有鮕鲫胚胎暴露在氨氮溶液中后, 显著性的影响了氨的转运体蛋白基因 Rhbg 在稀有鮕鲫胚胎发育过程中的表达, Rhbg 基因可能在稀有鮕鲫胚胎时期氨转运方面有重要的功能.

参考文献:

- [1] Harris J O, Maguire G B, Edwards S, et al. Effect of ammonia on the growth rate and oxygen consumption of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevis* Donovan [J]. Aquaculture, 1998, 160(3-4): 259-272.
- [2] Smart G R. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations [J]. Journal of Fish Biology, 1978, 12(1): 93-104.

- [3] Brinkman S F, Woodling J D, Vajda A M, *et al.* Chronic toxicity of ammonia to early life stage rainbow trout [J]. Transactions of the American Fisheries Society, 2009, **138**(2): 433-440.
- [4] Fairchild J F, Allert A L, Sappington L C, *et al.* Chronic toxicity of un-ionized ammonia to early life-stages of endangered colorado pikeminnow (*Ptychocheilus lucius*) and razorback sucker (*Xyrauchen texanus*) compared to the surrogate fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, **49**(3): 378-384.
- [5] Mayes M A, Alexander H C, Hopkins D L, *et al.* Acute and chronic toxicity of ammonia to freshwater fish: a site-specific study [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1986, **5**(5): 437-442.
- [6] James P S, Anne S. Survival and growth of warmwater fishes exposed to ammonia under low flow conditions [R]. West Lafayette; Purdue University, 1983.
- [7] 蓝伟光, 陈竟. 氨及亚硝酸盐对真鲷仔鱼的急性毒性研究 [J]. 海洋科学, 1992, **16**(3): 68-69.
- [8] Barimo J F, Walsh P J. The effects of acute and chronic ammonia exposure during early life stages of the gulf toadfish, *Opsanus beta* [J]. Aquatic Toxicology, 2005, **75**(3): 225-237.
- [9] 杜浩, 危起伟, 刘鉴毅, 等. 苯酚、Cu²⁺、亚硝酸盐和总氨氮对中华鲟稚鱼的急性毒性 [J]. 大连水产学院学报, 2007, **22**(2): 118-122.
- [10] Nawata C M, Hung C C Y, Tsui T K N, *et al.* Ammonia excretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence for Rh glycoprotein and H⁺-ATPase involvement [J]. Physiological Genomics, 2007, **31**(3): 463-474.
- [11] Hung C Y C, Tsui K N T, Wilson J M, *et al.* Rhesus glycoprotein gene expression in the mangrove killifish *Kryptolebias marmoratus* exposed to elevated environmental ammonia levels and air [J]. The Journal of Experimental Biology, 2007, **210**(14): 2419-2429.
- [12] Nawata M, Hirose S, Nakada T, *et al.* Molecular physiology of Ammonia excretion in the Pufferfish (*Takifugu rubripes*) [A]. In: Society for experimental biology. Annual main meeting 30th June-3rd July 2010 Prague Czech Republic [C]. London; Charles Darwin House, 2010. 170.
- [13] ISO 6341: 1989. Water quality-determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus [S].
- [14] Schulte C, Nagel R. Testing acute toxicity in the embryo of zebra fish *Brachydanio rerio*. as an alternative to the acute fish test; preliminary results [J]. Alternatives to Laboratory Animals, 1994, **22**(1): 12-19.
- [15] Henry T R, Spitsbergen J M, Hornung M W, *et al.* Early life stage toxicity of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1997, **142**(1): 56-68.
- [16] Prasch A L, Heideman W, Peterson R E. ARNT2 is not required for TCDD developmental toxicity in zebrafish [J]. Toxicological Sciences, 2004, **82**(1): 250-258.
- [17] De Gaspar I, Blaquez M J, Fraile B, *et al.* The hatching gland cells of trout embryos: characterisation of N-and O-linked oligosaccharides [J]. Journal of Anatomy, 1999, **194**(1): 109-118.
- [18] 韩力强, 康现江, 李双石, 等. 氨氮对斑马鱼 2 种代谢酶类的影响 [J]. 河北大学学报 (自然科学版), 2005, **25**(2): 179-184.
- [19] Yamagami K. Mechanisms of hatching in fish: secretion of hatching enzyme and enzymatic choriolysis [J]. American Zoologist, 1981, **21**(2): 459-471.
- [20] Milan D J, Peterson T A, Ruskin J N, *et al.* Drugs that induce repolarization abnormalities cause bradycardia in zebrafish [J]. Circulation, 2003, **107**(10): 1355-1358.
- [21] Spectorova L V, Doroshev S I. Experiments on the artificial rearing of the Black Sea turbot (*Scophthalmus maeoticus*) [J]. Aquaculture, 1976, **9**(3): 275-286.
- [22] Chatain B, Dewavrin G. The effects of abnormalities in the development of the swim bladder on the mortality of *Dicentrarchus labrax* during weaning [J]. Aquaculture, 1989, **78**(1): 55-61.
- [23] Battaglione S C, Talbot R B. Initial swim bladder inflation in intensively reared Australian bass larvae, *Macquaria novemaculeata* (Steindachner) (Perciformes; Percichthyidae) [J]. Aquaculture, 1990, **86**(4): 431-442.
- [24] Chapman D C, Hubert W A, Jackson U T. Influence of access to air and of salinity on gas bladder inflation in striped bass [J]. The Progressive Fish-Culturist, 1988, **50**(1): 23-27.
- [25] Chatain B, Ounais-Guschemann N. Improved rate of initial swim bladder inflation in intensively reared *Sparus auratus* [J]. Aquaculture, 1990, **84**(3-4): 345-353.
- [26] Cornacchia J W. Studies on the development and inflation of the swimbladder in two physoclistous fish, *Morone saxatilis* and *Sarotherodon mossambica* [D]. Davis; University of California, 1981.
- [27] Bailey H C, Doroshev S I. The duration of the interval associated with successful inflation of the swimbladder in larval striped bass (*Morone saxatilis*) [J]. Aquaculture, 1995, **131**(1-2): 135-143.
- [28] Incardona J P, Collier T K, Scholz N L. Defects in cardiac function precede morphological abnormalities in fish embryos exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2004, **196**(2): 191-205.
- [29] Wright P A, Wood C M. A new paradigm for ammonia excretion in aquatic animals: role of Rhesus (Rh) glycoproteins [J]. The Journal of Experimental Biology, 2009, **212**(15): 2303-2312.
- [30] Frick N T, Wright P A. Nitrogen metabolism and excretion in the mangrove killifish *Rivulus marmoratus* II. Significant ammonia volatilization in a teleost during air-exposure [J]. The Journal of Experimental Biology, 2002, **205**(1): 91-100.
- [31] Litwiller S L, O'Donnell M J, Wright P A. Rapid increase in the partial pressure of NH₃ on the cutaneous surface of air-exposed mangrove killifish, *Rivulus marmoratus* [J]. The Journal of Experimental Biology, 2006, **209**(9): 1737-1745.

CONTENTS

Quantitative Estimation Source of Urban Atmospheric CO ₂ by Carbon Isotope Composition	LIU Wei, WEI Nan-nan, WANG Guang-hua, <i>et al.</i> (1041)
Moisture Sources of Guangzhou During the Freezing Disaster Period in 2008 Indicated by the Stable Isotopes of Precipitation	LIAO Cong-yun, ZHONG Wei, MA Qiao-hong, <i>et al.</i> (1050)
Optical Properties of Aerosol During Haze-Fog Episodes in Beijing	YU Xing-na, LI Xin-mei, DENG Zen-grandeng, <i>et al.</i> (1057)
Secondary Organic Tracers in Summer PM _{2.5} Aerosols from Baima Spring Scenic Area, Yaan, Sichuan Province	DAI Dong-jue, LI Li, LIU Zi-fang, <i>et al.</i> (1063)
Source Profile and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Vehicle Exhaust	QIAO Yue-zhen, WANG Hong-li, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (1071)
<i>Platanus orientalis</i> Foliar N% and δ ¹⁵ N Responses to Nitrogen of Atmospheric Wet Deposition in Urban Area	WANG Yan-li, XIAO Hua-yun, XIAO Hong-wei (1080)
Distribution and Controlling Factors of Nitric Oxide Concentrations in Surface Seawater of Jiaozhou Bay and Adjacent Waters	XUE Chao, LIU Chun-ying, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (1086)
Uncertainty Characterization Approaches for Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Taihu Lake	GUO Guang-hui, WU Feng-chang, HE Hong-ping, <i>et al.</i> (1091)
Preliminary Analysis of Spatiotemporal Variation of Water Quality and Its Influencing Factors in the Jiulong River Watershed	HUANG Jin-liang, HUANG Ya-ling, LI Qing-sheng, <i>et al.</i> (1098)
Ecological Stoichiometric Relationships of Periphyton Community Elemental Composition and Variations of Water Quality in the Chaobai River CUI Jing-guo, SHAN Bao-qing, WANG Shuai (1108)
Diurnal Variation and Evaluation of Water Quality of Panxi River in Spring	ZHANG Qian-qian, WANG Xiao-ke, HAO Li-ling, <i>et al.</i> (1114)
Weathering Seasonal Variations in Karst Valley in Southwest China	XIAO Qiong, SHEN Li-cheng, YANG Lei, <i>et al.</i> (1122)
Algal Community Structure and Water Quality Assessment on Drawdown Area of Kaixian Waters in Three Gorges Reservoir During Winter Storage Period GUO Jing-song, XIE Dan, LI Zhe, <i>et al.</i> (1129)
Characteristics of Phytoplankton Community Changes in Dianshan Lake During Peak Period of Algal Blooms	XU Chun-yan, YANG Jie, MA Ming-rui, <i>et al.</i> (1136)
Nitrogen and Phosphorus Release from Herbaceous Vegetation Under Simulated Inundation Experiment of Water-Level Fluctuation Zone in the Three Gorges Reservoir Area WANG Jian-chao, ZHU Bo, WANG Tao, <i>et al.</i> (1144)
Output Characteristics of Non-point Phosphorus from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area Under the Special Rainfall	LI Zhen-wei, YU Xing-xiu, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (1152)
Distribution and Bioavailability of Nitrogen and Phosphorus Species in the Urban Dusts from Hefei City	LI Ru-zhong, ZHOU Ai-jia, TONG Fang, <i>et al.</i> (1159)
Distribution and Pollution Characteristics of Nutrients and Heavy Metals in Sediments of Hedi Reservoir	ZHANG Hua-jun, CHEN Xiu-kang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (1167)
Heavy Metals Distribution and Risk Assessment of Sediments in the Riverine Wetland of Sanmenxia Reservoir	AO Liang, SHAN Bao-qing, ZHANG Hong, <i>et al.</i> (1176)
Regional Distribution and Ecological Risk Evaluation of Heavy Metals in Surface Sediments from Coastal Wetlands of the Yellow River Delta LIU Zhi-jie, LI Pei-ying, ZHANG Xiao-long, <i>et al.</i> (1182)
Calculation of Environmental Dredging Depth of Heavy Metal Polluted Sediments in Zhushan Bay of Taihu Lake	JIANG Xia, WANG Wen-wen, WANG Shu-hang, <i>et al.</i> (1189)
Characteristics of PAHs Pollution in Sediments from Leizhou Coastal Marine Area, Liusha Bay and Shenzhen Bay	ZHAO Li-rong, SUN Sheng-li, KE Sheng (1198)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Black Carbon in Road Dusts from Typical Cities of China and India	PAN Su-hong, ZHANG Gan, SUN Ya-li, <i>et al.</i> (1204)
Waterborne Iron Migration by Groundwater Irrigation Pumping in a Typical Irrigation District of Sanjiang Plain	ZOU Yuan-chun, YU Xiao-fei, HUO Li-li, <i>et al.</i> (1209)
Research on Controlling Iron Release of Desalted Water Transmitted in Existing Water Distribution System	TIAN Yi-mei, LIU Yang, ZHAO Peng, <i>et al.</i> (1216)
Exploration of Newly-Formed Ferric as the Coagulant	YANG Xue, ZHANG Jing-cheng, GUAN Xiao-hong (1221)
Degradation of Medroxyprogesterone in Drinking Water by Ozone Oxidation	YUE Chan-yuan, MIAO Heng-feng, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (1227)
Synthesis of Core/Shell Structured Magnetic Carbon Nanoparticles and Its Adsorption Ability to Chlortetracycline in Aquatic Environment WANG Yi-xuan, ZHANG Di, NIU Hong-yun, <i>et al.</i> (1234)
Removal of Nickel from Aqueous Solutions Using Complexation-Ultrafiltration Process	QIN Shu, SHAO Jia-hui, HE Yi-liang, <i>et al.</i> (1241)
Degradation of Organic Pollutants by Photo-Fenton-Like System with Hematite	ZHANG Yu, GU Yan, YANG Hui, <i>et al.</i> (1247)
Study on the Degradation of Atrazine in Photo-Fenton-Like System Under Visible Light Irradiation Promoted by N-doped Ta ₂ O ₅	ZHAO Lu, DENG Yi-rong, DU Ying-xun, <i>et al.</i> (1252)
Degradation of Prometon by O ₃ /H ₂ O ₂	LI Shao-feng, SUN Chu (1260)
Photoelectrocatalytic Degradation Kinetics of Malachite Green by Pr-N Co-doped TiO ₂ Photocatalyst	SHA Shuang, ZHOU Shao-qi, ZHANG Xiao-na, <i>et al.</i> (1267)
Experimental Study on Acid Mine Drainage Treatment Using Mine Tailings of Xiangsi Valley, Tongling, China	ZHANG Nan, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (1272)
Effect of Polymeric Aluminum-iron on EPS and Bio-flocculation in A ² /O System	WEN Qin-xue, LIU Ai-cui, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1278)
Effect of Temperature on Pollutant Removal and Nitrous Oxide Emission of Wastewater Nitrogen Removal System	ZHANG Ting-ting, ZHANG Jian, YANG Fang, <i>et al.</i> (1283)
Effect of Temperature on Stability of Nitrogen Removal in the ANAMMOX Reactor	LI Xiang, HUANG Yong, ZHENG Yu-hui, <i>et al.</i> (1288)
Phosphorus Removal Characteristics by Aerobic Granules in Normal Molasses Wastewater After Anaerobic Treatment	WANG Shuo, YU Shui-li, SHI Wen-xin, <i>et al.</i> (1293)
Physicochemical Characteristics of Granules with Different Size in a Granular Sludge System for Phosphorus Removal	LI Zhi-hua, ZHANG Yu-rong, YANG Fan, <i>et al.</i> (1299)
Denitrifying Bacteria of Constructed Wetland System Based on Nitrous Oxide Reductase Gene (<i>nosZ</i>)	WANG Xiao-jun, CHEN Shao-hua, ZHANG Zhao-ji, <i>et al.</i> (1306)
Improving Degradation Ability of an Aerobic Denitrifier by Ultraviolet Mutagenesis	YU Jia-jia, CHEN Jun, YANG Xuan, <i>et al.</i> (1313)
Characteristics of the Extracellular Polymeric Substances of a Heterotrophic Nitrifying Bacterium Strain	CHEN Zhe, ZHANG Bin, SEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1318)
Study on Toxic Effects of Ammonia on Embryonic and Yolk-sac Stage Larvae of Rare minnow WANG Zhi-jian, LU Zeng-hui, SHI Ping (1323)
Effects of Continuous Cropping of Vegetables on Ammonia Oxidizers Community Structure	MENG De-long, YANG Yang, WU Yan-zheng, <i>et al.</i> (1331)
Impact of Biochar Amendment on the Sorption and Dissipation of Chlorantraniliprole in Soils	WANG Ting-ting, YU Xiang-yang, SHEN Yan, <i>et al.</i> (1339)
Quantifying Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Photo-assimilated Carbon Input into Soil Organic Carbon Pools Following Continuous ¹⁴ C Labeling	NIE San-an, ZHOU Ping, GE Ti-da, <i>et al.</i> (1346)
Compositions and Diagnostic Ratios of Heavily Degraded Crude Oil Residues in Contaminated Soil in Oilfields	WANG Jian, ZHANG Xu, LI Guang-he (1352)
Study on Equilibrium Adsorption of Volatile Chlorinated Hydrocarbons on Humid Soils	MENG Fan-yong, LIU Rui, Kobayashi Takeshi, <i>et al.</i> (1361)
Toxicity and Accumulation of Copper and Nickel in Wheat Plants Cropped on Alkaline and Acidic Field Soils	HUANG Jin-sun, WEI Dong-pu, GUO Xue-yan, <i>et al.</i> (1369)
Change Traits of Phosphorous Consumption Structure in China and Their Effects on Environmental Phosphorous Loads	MA Dun-chao, HU Shan-ying, CHEN Ding-jiang, <i>et al.</i> (1376)
Research Based on 3MRA Model About the Risk Assessment Methods and Applications of the Landfill Waste	YUAN Ying, XI Bei-dou, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (1383)
Impacts of Initial Moisture Content of MSW Waste on Leachate Generation and Modified Formula for Predicting Leachate Generation	LAN Ji-wu, ZHAN Liang-tong, LI Yu-chao, <i>et al.</i> (1389)
Transformation of Dibutyl Phthalate in Bioreactor Landfill	FANG Cheng-ran, LONG Yu-yang, SHEN Dong-sheng (1397)
Kriging Analysis of Vegetation Index Depression in Peak Cluster Karst Area	YANG Qi-yong, JIANG Zhong-cheng, MA Zu-lu, <i>et al.</i> (1404)

《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4月15日 33卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 4 Apr. 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@cees.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@cees.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

国内外公开发行人