

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第10期

Vol.36 No.10

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

基于细颗粒物来源追踪技术的2013年12月上海市严重污染过程中PM_{2.5}的源贡献分析..... 李莉, 安静宇, 严茹莎 (3543)

华北地区乡村站点(曲周)夏季PM_{2.5}中二次无机组分的生成机制与来源解析 陈仕意, 曾立民, 董华斌, 朱彤 (3554)

成都市大气PM_{2.5}中有机磷阻燃剂的污染水平及来源 印红玲, 李世平, 叶芝祥, 杨迎春, 梁金凤, 游俊杰 (3566)

不同生物质燃烧排放多环芳烃及糖醇类化合物的模拟研究 黄帅, 黄欣怡, 吴水平, 胡清华, 陈晓秋 (3573)

北京地区大气消光特征及参数化研究 陈一娜, 赵普生, 何迪, 董璠, 赵秀娟, 张小玲 (3582)

光助芬顿反应催化降解气体中甲苯 郑思灿, 陈天虎, 刘海波, 邹雪华, 朱承驻, 陈冬 (3590)

遗体火化二噁英类排放水平及影响因素 尹文华, 于晓巍, 韩静磊, 冯桂贤, 付建平, 杨艳艳, 鞠勇明, 张素坤 (3596)

我国餐厨废物生化处理设施恶臭排放特征分析 张妍, 王元刚, 卢志强, 韩萌, 商细彬, 曹阳, 张君 (3603)

太湖湖表反照率时空特征及影响因子 曹畅, 李旭辉, 张弥, 刘寿东, 肖薇, 肖启涛, 徐家平 (3611)

基于GOCI影像的太湖水体漫衰减系数遥感反演 王珊珊, 李云梅, 王桥, 吕恒 (3620)

河口盐度梯度下短叶茳苳沼泽湿地土壤孔隙水溶解性甲烷时空特征 杨平, 张子川, 杜威宁, 黄佳芳, 全川 (3633)

石家庄市区土壤水分运移的稳定同位素特征分析 陈同同, 陈辉, 韩璐, 邢星, 付阳阳 (3641)

长寿湖水库垂直剖面不同形态汞的季节变化特征及其影响因素 白薇扬, 张成, 唐振亚, 赵铮, 王定勇 (3649)

三峡库区消落带4种典型植物根际土壤养分与氮素赋存形态 王晓峰, 袁兴中, 刘红, 张磊, 尉建军, 岳俊生 (3662)

湖泊水-沉积物界面DIC和DOC交换通量及耦合关系 王伟颖, 吕昌伟, 何江, 左乐, 颜道浩 (3674)

水体扰动条件下物质在沉积介质中的迁移 李邵龙, 陈道毅 (3683)

城市道路径流的排污特征 武俊良, 任玉芬, 王雪梅, 王效科, 陈利顶, 刘刚才 (3691)

杭州市余杭区典型农村暴雨径流污染特征 段圣辉, 赵钰, 单保庆, 唐文忠, 张文强, 张淑珍, 郎超 (3697)

海水淡化超滤-反渗透工艺沿程溴代消毒副产物变化规律 杨哲, 孙迎雪, 石娜, 胡洪管 (3706)

天然有机物和电解质对水中C₆₀凝聚行为的影响 方华, 荆洁, 于江华, 王钰葶 (3715)

钆改性高岭土原位改良技术控制重污染河道底泥磷释放效果 王虹, 林建伟, 詹艳慧, 章喆, 王笛入 (3720)

污水管网中无机氮类营养盐迁变规律 金鹏康, 焦丁, 任武昂 (3730)

微好氧水解酸化在石化废水预处理中的应用研究 朱晨, 吴昌永, 周岳溪, 伏小勇, 陈学民, 邱延波, 吴晓峰 (3738)

倒置A²/O-MBR组合工艺处理生活污水效能及膜污染特性 王旭东, 马亚斌, 王磊, 杨怡婷, 黄丹曦, 夏四清 (3743)

高氨氮对具有回流的PN-ANAMMOX串联工艺的脱氮影响 李祥, 崔剑虹, 袁砚, 黄勇, 袁怡, 刘忻 (3749)

苯甲酸盐厌氧驯化体系中三氯乙烯的还原脱氯特性 李姜维, 杨晓永, 胡安谊, 于昌平 (3756)

驯化污泥厌氧还原脱氯促进2,4,6-三氯酚矿化及胞外呼吸脱氯途径 宋佳秀, 李玲, 盛凡凡, 郭翠香, 张永明, 李祖元, 王天丽 (3764)

苯酚对厌氧氨氧化污泥脱氮效能长短期影响 杨朋兵, 李祥, 黄勇, 朱亮, 崔剑虹, 徐彬彬 (3771)

连续流好氧颗粒污泥系统处理低COD/N实际生活污水的工艺优化 鲁磊, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建, 武勇 (3778)

FNA对好氧吸磷的长期抑制及污泥吸磷方式转化 马娟, 李璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟, 陈永志 (3786)

污水处理厂不同工艺的污泥脱水效能分析及其影响因素研究 刘吉宝, 李亚明, 吕镗, 魏源送, 杨敏, 郁达伟 (3794)

残留过氧化氢对微波-过氧化氢-碱预处理后污泥水解酸化的影响 贾瑞来, 刘吉宝, 魏源送, 才兴 (3801)

大围山典型森林土壤有机氮垂直分布特征 丁咸庆, 马慧静, 朱晓龙, 陈珊, 侯红波, 彭佩钦 (3809)

缙云山不同土地利用方式对土壤活性有机碳、氮组分的影响 祁心, 江长胜, 郝庆菊, 李鉴霖 (3816)

三峡库区典型退耕还林模式土壤养分流失控制 吴东, 黄志霖, 肖文发, 曾立雄 (3825)

坡位与土层对喀斯特原生林土壤微生物生物量与丰度的影响 冯书珍, 苏以荣, 张伟, 陈香碧, 何寻阳 (3832)

不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 葛体达, 王久荣, 陈明利, 吴晓英, 吴金水 (3839)

有色冶金区土壤-玉米系统汞累积及健康风险 纪小凤, 郑娜, 王洋, 刘强, 张静静 (3845)

改良剂对4种木本植物的铅锌耐性、亚细胞分布和化学形态的影响 陈永华, 张富运, 吴晓英, 梁希, 袁斯文 (3852)

菹草乙酸酯组分抑藻活性物质的分离纯化和鉴定 孙颖颖, 苏振霞, 浦寅芳, 肖辉, 王长海 (3860)

血吸虫病疫区水生生物体内氯苯化合物的污染特征与潜在风险 李昆, 赵高峰, 周怀东, 赵健, 张盼伟, 刘巧娜, 王兴勋, 刘晓茹 (3866)

生物传感细胞ADP1_pWHlux在水环境急性毒性检测中的应用 唐慧, 宋一之, 姜博, 陈光玉, 贾建丽, 张旭, 李广贺 (3872)

虹鳟鱼鳃及肝脏多种CYP1基因表达模式作为生物标志物监测海河水污染状况 高锴, 闫佩, 檀翠玲, 罗彦鹤, 孙静, Maria E. Jönsson, Ingvar Brandt, 唐运平 (3878)

纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应 刘林, 赵群芬, 金凯星, 朱帅旗, 王小飞, 吕佳昀 (3884)

黄连根茎浸提物对隆线蚤的急性毒性作用 陈亚楠, 袁玲 (3892)

发酵稻壳对亚铁离子和硫离子的吸附-解吸附特性 谢晓梅, 廖敏, 华嘉媛, 陈娜, 张楠, 徐培智, 解开治, 徐昌旭, 刘光荣 (3896)

搅拌棒吸附萃取-气相色谱-质谱联用测定海水中邻苯二甲酸酯 高晨晨, 李锋民, 卢伦, 孙玥 (3906)

COD组分分析的实验条件及结果可靠性分析 李志华, 张银, 韩杏, 余科, 李汝佳 (3913)

养猪废水和污泥中11种兽用抗生素的同时分析技术及其在生物降解过程的应用 丁佳丽, 刘锐, 郑炜, 余卫娟, 叶朝霞, 陈吕军, 张永明 (3918)

土壤微生物产电技术及其潜在应用研究进展 邓欢, 薛洪婧, 姜允斌, 钟文辉 (3926)

《环境科学》征订启事 (3553) 《环境科学》征稿简则 (3589) 信息 (3705, 3755, 3763, 3800)

纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应

刘林, 赵群芬*, 金凯星, 朱帅旗, 王小飞, 吕佳昀

(宁波大学海洋学院, 宁波 315211)

摘要: 采用半静态急性实验方法, 研究斑马鱼在浓度为 0、0.05、0.1、5、10、25、50 mg·L⁻¹ 的纳米氧化锌 (nano-ZnO) 中暴露 4、24、96 h 后, nano-ZnO 对肝中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、过氧化氢酶 (CAT) 的影响, 肝脏中 Bcl-2、Bax、p53 和 MDM2 的 mRNA 表达量的变化以及暴露 7、15、30 d 时肝组织解剖结构变化情况。结果表明, 与对照组相比, 实验组表现为: ① 肝组织出现组织水肿, 部分细胞质空泡化、细胞核固缩; ② 肝巨噬细胞增多, 窦间隙增大; ③ 肝中 SOD 活性升高、MDA 含量增加、CAT 活性降低; ④ 肝脏中 Bax/Bcl-2 和 p53 的 mRNA 的表达量均升高; ⑤ MDM2 mRNA 的表达量表现为在低浓度组中降低, 高浓度组中则升高。实验结果表明, nano-ZnO 能引起斑马鱼肝脏发生氧化应激作用, 使肝中抗氧化酶活性发生变化, 并诱导肝脏中细胞凋亡相关基因的表达, 使细胞发生凋亡且造成肝组织结构发生变化。

关键词: 纳米氧化锌; 斑马鱼; 肝脏; 氧化应激; 毒性效应

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)10-3884-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.2015.10.044

Toxic Effect of Nano-ZnO in Liver of Zebrafish

LIU Lin, ZHAO Qun-fen*, JIN Kai-xing, ZHU Shuai-qi, WANG Xiao-fei, LÜ Jia-yun

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: For acute toxicity test, zebrafish were respectively exposed to the different concentrations of nano-ZnO (0, 0.05, 0.1, 5, 10, 25, 50 mg·L⁻¹) for 4, 24 and 96 h. The superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and catalase (CAT) in the liver of zebrafish were studied, and the relative expression of Bcl-2, Bax, p53 and MDM2 in liver were also determined. Anatomical structure of the zebrafish liver was determined after exposure to nano-ZnO for 7, 15 and 30 d. Compared with the control group, the liver of the experimental groups showed obvious difference in following aspects: ① oedema, cytoplasmic vacuolation, and pyknotic nucleus were observed; ② the number of hepatic macrophages deposited and the sinus clearance were increased; ③ the MDA contents and the activity of SOD were increased; ④ however, the activity of CAT was decreased; ⑤ the mRNA expression level of genes Bax/Bcl-2 ratio and p53 of stressed groups were up-regulated; the mRNA expression level of gene MDM2 down-regulation can be observed in the low concentration groups while the mRNA expression level of gene MDM2 was up-regulated in the high concentration groups. The results suggested that, the oxidative damage of nano-ZnO to the zebrafish liver was caused by the increase of oxidative stress, which made the change of antioxidant enzyme activity, induced the expression of cell apoptosis genetic and cell apoptosis, and caused the change of organizational structure of liver.

Key words: zinc dioxide nanoparticles; zebrafish; liver; oxidative stress; toxicity effect

纳米科技是 20 世纪 80 年代末诞生, 并正在飞速崛起的高科技, 预计到 2015 年, 与纳米技术相关的产品价值将达 2.5 亿美元^[1]。纳米材料因其表面效应、小尺寸效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应等特殊的理化性质而被广泛应用。然而, 纳米材料在生产和使用过程中将不可避免地通过直接或间接的途径进入环境, 对人类健康和生态环境带来潜在的危害^[2]。水体是人工纳米颗粒的主要最终归宿, 其在水体中行为和生物安全引起人们的极大讨论和关注^[3]。纳米氧化锌 (nano-ZnO) 是一类重要的纳米材料, 因具有独特的荧光性、抗菌性及吸收紫外线的的能力, 在气敏传感器、药物缓释剂、微电子、航空等领域有着广阔的应用前景和发展潜力^[4~6]。根据来源不同, 每年全球产生的 nano-ZnO 产量能达 550 ~ 33 400 t^[7,8]。随着 nano-ZnO 的广泛应用, 对

生物的毒性作用和对环境带来的安全隐患也受到越来越多学者的关注^[9]。

研究者们采用不同的实验对象评估 nano-ZnO 的毒性, 发现 nano-ZnO 可引起啮齿类动物肺部上皮细胞的炎症、呼吸毒性、氧化损伤及生物体的氧化应激等反应^[10,11]。在研究 nano-ZnO 对人类 Caco-2 细胞的毒性中发现, 细胞中的 SOD 水平和 ROS 水平明显升高, 并且这种细胞毒性与暴露浓度存在一定的剂量关系^[12]。Hao 等^[13]报道了 nano-ZnO 能在鲫鱼的不同组织中积累, 体内脂质过氧化物含量均

收稿日期: 2015-04-04; 修订日期: 2015-05-29

基金项目: 水产学浙江省重中之重(一级)学科开放基金项目 (xkzsc1415)

作者简介: 刘林(1987~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为纳米材料毒理学, E-mail: liuxiaolin6@126.com

* 通讯联系人, E-mail: zhaoqunfen@nbu.edu.cn

会提高,鳃、肝、脑组织对 nano-ZnO 的毒害反应最为敏感. 细胞中的 ROS 受到组织中抗氧化酶系统的影响, nano-ZnO 能增加细胞内的 ROS, 从而诱导细胞的凋亡^[14]. 此外, 有研究报道 nano-ZnO 在胞内和胞外均会造成毒性, 产生氧化应激和 ROS^[15], 进而引起机体损伤.

鱼体内的抗氧化酶防御体系对环境污染物的敏感, 因此鱼类组织中的抗氧化酶能作为环境污染物的生物标记物^[16~18]. 斑马鱼 (*Danio rerio*) 是国际标准化组织 (ISO) 推荐使用的鱼类毒性试验动物^[19]. 因此被广泛应用于毒理学^[20]、环境保护^[21]、发育生物学^[22] 等研究, 已成为一种重要的生物模型.

nano-ZnO 对斑马鱼胚胎的发育毒性研究较多, 然而 nano-ZnO 对生物毒性机制还不甚明确. 由于生物在不同的生长阶段对 nano-ZnO 敏感性不同. 因此, 研究 nano-ZnO 对成年斑马鱼的毒害更能反映 nano-ZnO 对水体中多数生物的影响. 本研究以模式生物斑马鱼为对象, 通过 nano-ZnO 诱发斑马鱼肝组织损伤, 肝脏中抗氧化酶活性的变化及肝脏中凋亡基因的影响, 探讨 nano-ZnO 暴露下对斑马鱼的毒害, 以期对 nano-ZnO 对水生生物的影响和组织毒害提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

斑马鱼购于宁波市天胜花鸟市场, 鱼龄 120 d 左右, 平均体长为 (3.00 ± 0.6) cm, 平均体重为 (0.36 ± 0.1) g, 驯养 7 d 后用于急性毒理试验, 驯养用水为自来水曝气 12 h, 水温 (26 ± 0.5) °C, 光照/黑暗周期为 14 h:10 h, 早晚投食各 1 次.

nano-ZnO ($25 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$): 购于杭州大洋纳米新材料有限公司, RNAiso Plus 试剂盒、SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒购于 TaKaRa, 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒购于南京建成生物研究所, 其他试剂均为分析纯.

1.2 方法

选择健康活泼的斑马鱼, 每容器 30 尾, nano-ZnO 浓度设为 0.05、0.1、5、10、25、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 另设对照组, 每组 3 个平行, 暴露实验参照 GB/T 13276-1991, 约 1 L 的水中暴露 1 g 斑马鱼, 暴露 4、24、96 h 后解剖取肝组织, 部分肝组织用于 RNA 提取. 其余肝组织加入预冷的匀浆介质 (0.01

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl、 $0.001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-2Na、 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, pH 7.4) 研磨, $2000 \sim 4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 上清用于生理指标测定. 另取 7、15、30 d 斑马鱼的肝组织, 固定于 10% 甲醛溶液中, 用于石蜡切片的制作.

1.2.1 斑马鱼肝组织形态学观察

取固定 24 h 后的肝组织, 酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片, H-E 染色, 中性树胶封片, Olympus BX-51 显微镜下观察并拍照 (图 1).

1.2.2 斑马鱼肝脏中生理指标的测定

取匀浆的肝组织上清液, 样品总蛋白质含量和氧化应激指标 (MDA、SOD、CAT) 测定均按照试剂盒的说明书 (南京建成生物工程研究所) 操作.

MDA 以每 mg 组织蛋白中 MDA 的 nmol 数表示; SOD 以每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位 (U); CAT 活力定义为每 mg 组织蛋白每秒钟分解 $1 \mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 的量为一个活力单位.

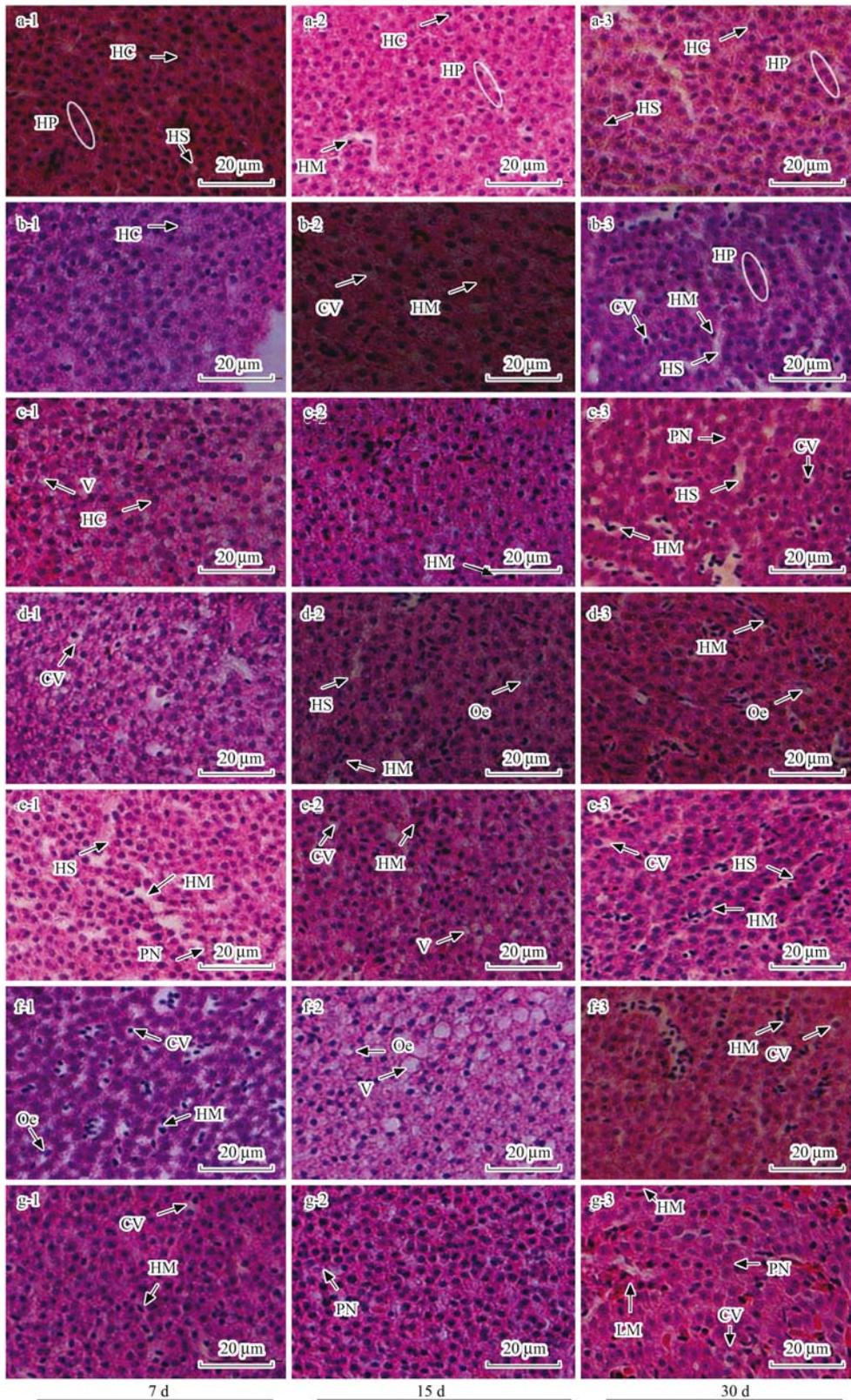
1.2.3 斑马鱼肝脏中 Bcl-2、MDM2、p53、Bax mRNA 分析

根据 GenBank 中斑马鱼 Bcl-2 基因序列、MDM2 基因序列、p53 基因序列和 Bax 基因序列, 以斑马鱼管家基因 β -actin 为内参, 设计 Bcl-2、MDM2、p53、Bax 和 β -actin 基因引物 (如表 1). 引物由上海生工有限公司合成, 取处理 4、24、96 h 实验组和对照组斑马鱼的肝组织, 参考 RNAiso Plus (TakaRa) 试剂提取总 RNA, D_{260}/D_{280} 为 1.90 左右. 根据 Prime Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (TakaRa) 试剂盒将各样品 RNA 进行反转录.

荧光定量 RT-PCR 反应体系 ($20 \mu\text{L}$): SYBR Premix Ex Taq™ II ($2 \times$) $10 \mu\text{L}$ 、正向及反向引物各 $0.8 \mu\text{L}$ 、cDNA 模板 $2 \mu\text{L}$ 、补无菌水至总体积. 扩增条件为: 预变性 95°C 5 min, 40 个循环 (95°C 20 s, 57°C 25 s, 72°C 25 s), 反应结束后制备溶解曲线. 每个反应设 3 个复孔, 所有检测样品均包含 1 个无模板的阴性对照以排除假阳性结果. 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析荧光定量结果^[23], 并用统计学软件进行单因素方差分析.

1.3 实验数据的处理

用 SPSS 19.0 统计分析软件, 方差分析采用 One Way ANOVA, 并以 Tukey's test 多重比较; $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著差异.



a: 对照组, b: $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, c: $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, d: $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, e: $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, f: $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, g: $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; HC: 肝细胞, HS: 肝血窦, HP: 肝板, HM: 肝巨噬细胞, PN: 核固缩, CV: 细胞质空泡化, Oe: 组织水肿, V: 空泡化, LM: 淋巴细胞与巨噬细胞浸润

图1 nano-ZnO 胁迫对斑马鱼肝组织结构的影响(H-E, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of nano-ZnO on structural change in liver of zebrafish (H&E stain, $\times 400$)

表 1 目的基因及内参基因的引物

Table 1 Primers of target and internal control genes

基因	基因编号	正向引物 5'-3' 反向引物 5'-3'	退火温度/°C
β -actin	NM_131031.1	ACCACCACAGCCGAAAGAG(F) GGCAACGGAAACGCTCA(R)	56
Bcl-2	NM_001030253.2	ATGTGCGTGAAAAGCGTCAAC(F) GAAGGCATCCCAACCTCCATT(R)	56
p53	NM_001271820.1	GGGCAGGGAGCGTTATGA(F) AGAGTCGCTTCTTCTTCGTC(R)	56
MDM2	AF010255.1	CCGACGCCTCCACTTCTC(F) ATAAGGTGCCAGTCCTTCC(R)	56
Bax	AF231015.1	CGATACGGGCAGTGGCA(R) TCGGCTGAAGATTAGAGTTGTTT(F)	56

2 结果与分析

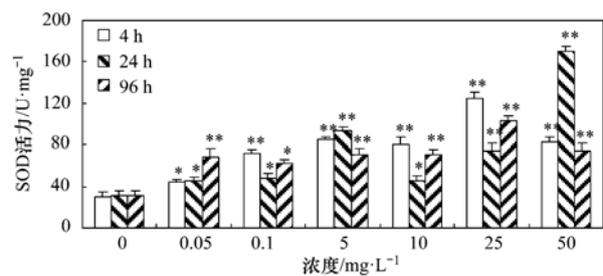
2.1 nano-ZnO 对斑马鱼肝组织解剖结构的影响

nano-ZnO 暴露对斑马鱼肝组织结构的影响如图 1 所示,对照组(a-1、a-2、a-3)中肝细胞分布均匀,细胞核位于细胞中央,呈圆形或椭圆形,胞质均匀,肝细胞单层排列形成肝索(肝板),有肝血窦(肝索间的空隙)汇入,窦间隙较小,且有少量的肝巨噬细胞存在(a-2)。与之相比,处理 7 d 后实验组中,10 mg·L⁻¹和 25 mg·L⁻¹组肝组织中肝细胞窦间隙增大(e-1、f-1),5 mg·L⁻¹和 50 mg·L⁻¹组出现细胞膜受损,剩下裸露的细胞核(胞质空泡化)现象(d-1、g-1),高浓度(10、25、50 mg·L⁻¹)组肝组织中巨噬细胞明显增多(e-1~g-1),0.1 mg·L⁻¹组肝细胞膜受损,细胞核消失,肝细胞呈空泡化现象明显(c-1),10 mg·L⁻¹组并伴有肝细胞核固缩现象(e-1)。当处理 15 d 时,5 mg·L⁻¹、25 mg·L⁻¹组出现肝组织水肿(d-2、f-2),5 mg·L⁻¹组肝细胞窦间隙增大(d-2),0.05 mg·L⁻¹组肝细胞胞质空泡化(b-2),除高浓度(25 mg·L⁻¹、50 mg·L⁻¹)组外其他实验组出现巨噬细胞增多现象(b-2~e-2),中浓度(10 mg·L⁻¹、25 mg·L⁻¹)组肝细胞空泡化(e-2、f-2),50 mg·L⁻¹组中部分肝细胞发生核固缩现象(g-2)。当暴露 30 d 后,各处理组肝脏中巨噬细胞明显增多,在实验组(除 5 mg·L⁻¹组外)均出现肝细胞细胞膜受损,只剩下裸露的细胞核(胞质空泡化)现象(b-3、c-3 及 e-3~g-3),0.1、10 及 25 mg·L⁻¹组中肝细胞窦间隙增大(c-3、e-3、f-3),在 5 mg·L⁻¹组肝组织间隙有大量体液滞留,造成肝组织水肿(d-3),而 50 mg·L⁻¹组有部分肝细胞核固缩变小、淋巴细胞和巨噬细胞增多的现象(g-3)。

2.2 nano-ZnO 对斑马鱼肝组织生理指标的影响

2.2.1 nano-ZnO 对斑马鱼肝中 SOD 活性的影响

如图 2 所示,实验组斑马鱼肝脏中 SOD 活性均高于对照组。胁迫 4 h、96 h 后,浓度为 25 mg·L⁻¹组与对照组的差异极显著($P < 0.01$),分别为对照组的 4.15 倍、3.6 倍;处理 24 h,浓度为 50 mg·L⁻¹组 SOD 活性达到最大,是对照组的 5.5 倍。



*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,下同

图 2 斑马鱼肝中 SOD 活性的变化

Fig. 2 Changes of SOD activity in zebrafish liver

2.2.2 nano-ZnO 对斑马鱼肝中 MDA 含量的变化

由图 3 可见,实验组斑马鱼肝脏中 MDA 含量均高于对照组,且在高浓度(50 mg·L⁻¹)组中肝中 MDA 含量最大。在低浓度(0.05 mg·L⁻¹、0.1 mg·L⁻¹)组肝组织中 MDA 含量略有上升,当浓度为 10 mg·L⁻¹、50 mg·L⁻¹时随着处理时间的延长 MDA

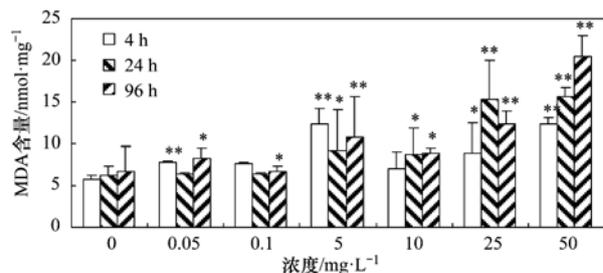


图 3 斑马鱼肝中 MDA 含量的变化

Fig. 3 Changes of MDA contents in zebrafish liver

含量呈现上升趋势;处理 96 h 时,高浓度 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 组肝脏中 MDA 含量达到最大,是对照组的 3 倍。

2.2.3 nano-ZnO 对斑马鱼肝中 CAT 活性的影响

从图 4 中看出,实验组斑马鱼肝中 CAT 活性低于对照组,处理 4 h,在浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时肝组织中 CAT 活性最低(是对照组的 67%);暴露 24 h 时,肝中 CAT 活性略有下降,差异不显著 ($P > 0.05$);96 h 时在 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组肝中 CAT 活性最低(是对照组的 69%)。

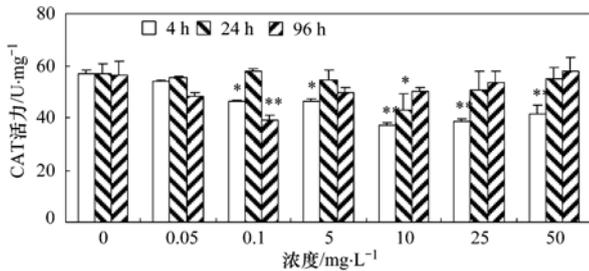


图 4 斑马鱼肝中 CAT 活性的变化

Fig. 4 Changes of CAT activity in zebrafish liver

2.3 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中凋亡基因的影响

2.3.1 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中 Bcl-2 基因的影响

图 5 所示为 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中 Bcl-2 mRNA 表达量的影响,与对照组相比,浓度为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组中 Bcl-2 mRNA 表达量极显著下降 ($P < 0.01$),其余各组中的 Bcl-2 mRNA 的表达量呈上升趋势,处理 24 h,浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组中 Bcl-2 mRNA 的表达量极显著升高 ($P < 0.01$),是对照组的 20 倍。

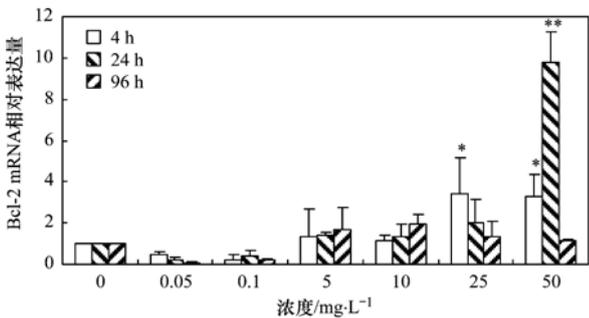


图 5 nano-ZnO 胁迫对斑马鱼肝脏中 Bcl-2 影响

Fig. 5 Effects of the nano-ZnO of Bcl-2 in zebrafish liver

2.3.2 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中 Bax 基因的影响

斑马鱼肝脏中 Bax mRNA 表达量的变化(如图 6),与对照组相比,除低浓度 ($0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 组肝脏中 Bax mRNA 表达量极显著降低 ($P < 0.01$) 外,其余各组中 Bax mRNA 表达量均高于对

照组. 其中,浓度为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组中 Bax mRNA 表达量随处理时间的延长而增加;在 4 h、24 h 时,浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时肝中 Bax mRNA 表达量均极显著高于对照组 ($P < 0.01$),且浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 Bax mRNA 的表达量达最大,分别为对照组的 28 倍、23 倍。

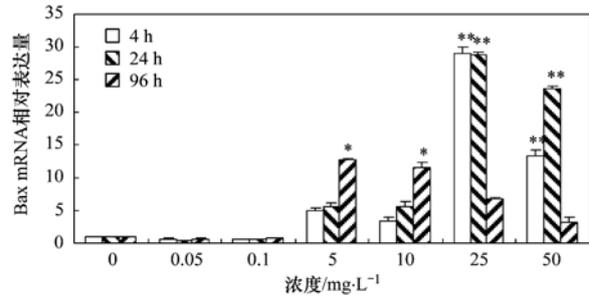


图 6 nano-ZnO 胁迫对斑马鱼肝脏中 Bax 的影响

Fig. 6 Effects of the nano-ZnO of Bax in zebrafish liver

2.3.3 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中 p53 基因的变化

图 7 为肝脏中 p53 mRNA 的表达量变化,实验组肝脏中的 p53 mRNA 的表达量呈上升趋势,在 4 h、96 h 时,肝脏中 p53 mRNA 表达量先升高后下降,暴露 4 h,浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时肝脏中 p53 mRNA 表达量达到最大,是对照组的 14.9 倍;处理 24 h 时,随着 nano-ZnO 浓度的增加肝脏中 p53 的表达量增加,呈现一定的剂量关系,在 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,斑马鱼肝脏中的 p53 mRNA 的表达量极显著上升(是对照组的 13.8 倍, $P < 0.01$)。

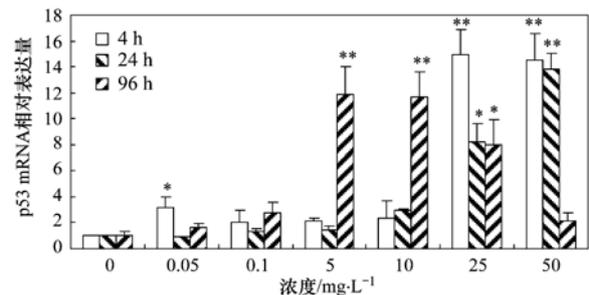


图 7 nano-ZnO 胁迫对斑马鱼肝脏中 p53 的影响

Fig. 7 Effects of the nano-ZnO of p53 in zebrafish liver

2.3.4 nano-ZnO 对斑马鱼肝脏中 MDM2 基因的影响

图 8 为斑马鱼肝脏中 MDM2 mRNA 表达量的变化,低浓度 (0.05 、 0.1 、 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 组肝脏中 MDM2 mRNA 的表达量下降;浓度为 10 、 25 、 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组中 MDM2 mRNA 的表达量高于对照组,暴露 4 h,浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 MDM2 mRNA 表达量极显著增加 ($P < 0.01$),是对照组的 10 倍、18 倍;处理 24 h 时,浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组

MDM2 表达量极显著增加 ($P < 0.01$), 是对照组的 6.44 倍; 而处理 96 h 时, 10、25、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组 MDM2 mRNA 表达量略高于对照组, 差异不显著 ($P > 0.05$).

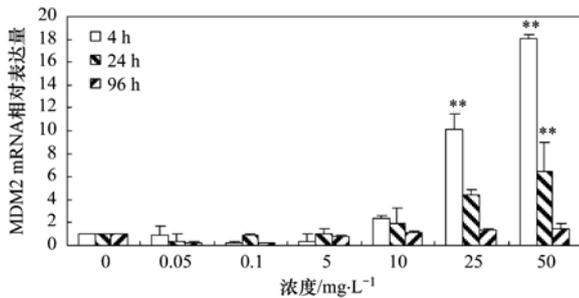


图 8 nano-ZnO 胁迫对斑马鱼肝脏中 MDM2 影响

Fig. 8 Effects of the nano-ZnO of MDM2 in zebrafish liver

3 讨论

nano-ZnO 能通过皮肤、鳃等组织进入到鱼体内, 从而引起一系列生理生化反应. 鱼类肝脏是新陈代谢和清除有毒物质的重要器官, 特别在清除环境污染物中起重要作用, 它能将有毒物质代谢分解为无毒或低毒物质, 排出体外. 但当有毒物质过高时就会对肝脏造成损伤, 表现为肝细胞结构异常和组织病变, 生理代谢活动受到影响, 同时还会引起基因表达产物的变化. 因此, 根据鱼类肝组织细胞的结构变化及生理指标变化可以作为环境中有毒污染物的生物指标^[24].

有研究报道, 当鱼类生活在有污染物的环境中, 环境污染物会诱导肝组织产生过多的氧自由基攻击细胞膜, 使细胞膜受损, 细胞核裸露, 从而导致细胞质空泡化, 同时污染物也能诱导肝巨噬细胞增多, 使其吞噬环境异物以减少污染物对机体造成的损伤. 也有研究报道在污染物质的胁迫下肝组织会通过增大肝窦间隙, 增加肝组织进行物质交换能力, 从而减轻有毒物对机体损伤, 但由于窦间隙的增大肝细胞与血液间物质交换发生变化, 造成大量液体滞留而导致肝组织发生水肿^[25-28]. 本研究中肝组织解剖结构在 nano-ZnO 的作用下也呈现类似的结果, 另外还观察到肝细胞有核固缩现象, 推测 DNA 停止转录, 这是细胞凋亡的典型形态特征之一^[29], 说明 nano-ZnO 不仅使斑马鱼的肝组织结构发生变化, 还会导致肝细胞凋亡.

SOD 是氧化应激的重要指标, 也是检测环境污染物的生物标志物^[30]. SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡起重要作用, 它能清除超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot -}$) 保

护机体免受损伤. 许多研究表明, 当生物受到氧化胁迫时, 其机体内会通过产生大量的 SOD 来清除过多的氧自由基, 保护自己免受损伤^[31]. 本研究中, 与对照组相比, 暴露于 nano-ZnO 的斑马鱼肝组织中抗氧化酶 SOD 的活性是升高的, 说明 nano-ZnO 对斑马鱼的肝可能造成了氧化损伤, 而斑马鱼肝组织为了免受或减少氧化损伤产生了大量的 SOD.

MDA 是反映机体受损程度的重要指标, 是脂质过氧化作用的产物, 是细胞膜系统受损伤的指标之一^[26], 根据 MDA 含量能评估组织的受损情况. 研究者发现当纳米铁颗粒浓度大于 $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 青鳉鱼胚胎内的 MDA 含量增加^[32]; 组织细胞受纳米颗粒的诱导产生过多的自由基而攻击细胞膜脂中的不饱和脂肪酸, 从而破坏细胞膜的完整性, 扰乱细胞功能, 进而产生过多的脂质过氧化产物 MDA, 本研究结果显示, 当斑马鱼暴露于高浓度中的 nano-ZnO 溶液中时, 斑马鱼肝脏中的 MDA 含量较高, 说明 nano-ZnO 破坏了斑马鱼肝脏中的氧化酶和抗氧化酶系统, 从而对肝脏造成氧化损伤.

CAT 是过氧化物酶体的标志酶, 能催化 H_2O_2 的分解, 从而使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害, 是生物防御体系的关键酶之一. 成嘉等^[33] 在研究金属铅对鲫鱼的毒性中发现, 铅对组织中的 CAT 活性有一定的抑制作用; Pandey 等^[34] 也发现污染区域中的鱼体内 CAT 活性降低; 在比较污染区域和清洁区域鲈鱼和鳊鱼体内的 CAT 活性中 Ameur 等^[28] 发现, 污染区域鱼体内 CAT 活性低于清洁区域; 重金属通过置换出金属酶活性中的必要金属或结合到酶蛋白分子中的巯基、羧基等功能基团而导致酶活性降低或失活, 当机体中抗氧化酶活性受到抑制后, 清除自由基能力下降, 引起氧化损伤^[35]. 本研究中 nano-ZnO 也能引起肝组织氧化损伤使组织中 CAT 活性的降低, 进一步证明 nano-ZnO 对斑马鱼肝组织造成了氧化损伤.

p53 最重要的功能在于其能诱导应激信号引起凋亡^[36]. MDM2 对于调节 p53 的水平, 维持生命体的稳定起重要的作用, p53 可以诱导 MDM2 的表达, MDM2 的表达产物对 p53 实施负调控^[37, 38]. 有研究报道, 纳米二氧化硅包被氧化锰能诱导细胞中 p53 基因表达量升高, 能激活凋亡蛋白酶活性从而诱导细胞凋亡产生^[39], 而 nano-ZnO 能激活 BJWT、BJshp53 细胞中 p53 基因表达, 预示 nano-ZnO 引起的细胞凋亡与其产生的 ROS 相关^[40]. 本研究也发现 nano-ZnO 能激活肝脏中 p53 基因表达量升高, 而

肝脏中 MDM2 基因表达量,在低浓度组中受到抑制,而在高浓度组中被激活,一方面可能是肝组织中 p53 基因的表达诱导 MDM2 基因的表达,另一方面可能是 MDM2 基因的表达对 p53 基因表达进行负调控的作用的结果,这与 Christen 等^[41]发现 p53 表达水平的降低可能与 MDM2 调控起作用相关的结论相一致。

Bcl-2 和 Bax 是一对重要的调控凋亡的基因, Bax/Bcl-2 比值决定了细胞对凋亡的敏感性,决定细胞是否发生凋亡. Bcl-2 是细胞存活的促进因子, Bax 可使细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质中,从而引起细胞的凋亡. Bax 能拮抗 Bcl-2 的生物学活性,加速细胞的凋亡. 研究报道,羟基磷灰石纳米粒子使肝肿瘤中 Bax/Bcl-2 的比值升高,并推测 Bax/Bcl-2 比值的升高可导致细胞凋亡^[42]. 也有学者在研究纳米二氧化硅包被氧化锰能诱导 HeLa 细胞和 L929 细胞中 Bax 基因表达量升高, Bcl-2 基因表达量降低. Bax/Bcl-2 的比值增大,能激活凋亡蛋白酶活性从而诱导细胞凋亡产生^[39]. 本研究也发现斑马鱼肝脏中 Bcl-2 和 Bax 基因的 mRNA 表达量,在低浓度时(0.05 mg·L⁻¹、0.1 mg·L⁻¹)受到抑制,其他浓度组表达量均升高,而 Bax/Bcl-2 比值升高,说明 nano-ZnO 能诱导肝组织中细胞的凋亡.

在细胞凋亡过程中, p53 通过调节下游 Bax、MDM2 等基因诱导细胞周期的阻滞、促进细胞凋亡和 DNA 损伤修复,维持基因组稳定,避免受损 DNA 的积累. 本研究发现 nano-ZnO 胁迫下,斑马鱼肝组织细胞结构发生变化,部分细胞发生凋亡,肝脏中抗氧化酶活性发生变化,产生大量活性氧自由基,肝组织中 p53 的表达促进 MDM2 和 Bax 的表达,组织中 Bax/Bcl-2 的比值增大,说明 nano-ZnO 诱发斑马鱼肝组织中细胞的凋亡,并且肝细胞凋亡的产生与组织中活性氧的存在可能存在一定的关系.

4 结论

(1) nano-ZnO 能造成斑马鱼肝组织结构发生变化,肝细胞窦间隙增大,细胞核固缩,细胞空泡化,组织水肿等症状.

(2) nano-ZnO 能使组织中抗氧化酶活性受到影响,引起肝组织中抗氧化酶系统发生紊乱,使肝组织受损,且高剂量组受损程度更严重.

(3) 肝脏中 Bax/Bcl-2 基因表达量的比值升高; p53、MDM2 mRNA 的表达量发生变化,说明 nano-ZnO 可以诱导肝细胞发生凋亡.

参考文献:

- [1] Savolainen K, Pylkkänen L, Norppa H, et al. Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety-A review[J]. Safety Science, 2010, 48(8): 957-963.
- [2] Zhu X S, Tian S Y, Cai Z H. Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46286.
- [3] 李曼璐,姜玥璐. 人工纳米颗粒在水体中的行为及其对浮游植物的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(1): 365-372.
- [4] 覃爱苗,廖雷. 纳米技术及纳米材料在环境治理中的应用[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2004, 43(增刊): 225-228.
- [5] Sakamoto J H, van de Ven A L, Godin B, et al. Enabling individualized therapy through nanotechnology [J]. Pharmacological Research, 2010, 62(2): 57-89.
- [6] 吕丽娜. 纳米 ZnO 对斑马鱼胚胎的发育毒性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [7] Piccinno F, Gottschalk F, Seeger S, et al. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2012, 14: 1109, doi: 10.1007/s11051-012-1109-9.
- [8] Research and Markets. The global market for zinc oxide nanopowders 2012 [EB/OL]. <http://www.researchandmarkets.com/reports/2116313/the-global-market-for-zinc-oxide-nanopowders-2012.pdf>.
- [9] Zhao H Z, Lu G H, Xia J, et al. Toxicity of nanoscale CuO and ZnO to *Daphnia magna* [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2012, 28(2): 209-213.
- [10] Gojova A, Guo B, Kota R S, et al. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: effect of particle composition [J]. Environmental Health Perspectives, 2007, 115(3): 403-409.
- [11] Lin W S, Xu Y, Huang C C, et al. Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2009, 11(1): 25-39.
- [12] Kang T S, Guan R F, Song Y J, et al. Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles and silver nanoparticles in human epithelial colorectal adenocarcinoma cells [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(2 Part 2): 1143-1148.
- [13] Hao L H, Chen L. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 80: 103-110.
- [14] Rahman Q, Lohani M, Dopp E, et al. Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts [J]. Environmental Health Perspectives, 2002, 110(8): 797-800.
- [15] Cui Y, Wei Q Q, Park H, et al. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species [J]. Science, 2001, 293(5533): 1289-1292.
- [16] Ahmad I, Maria V L, Oliveira M, et al. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L.

- exposed to chromium with or without pre-exposure to β -naphthoflavone[J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2006, **608**(1): 16-28.
- [17] Ahmad I, Pacheco M, Santos M A. *Anguilla anguilla* L. oxidative stress biomarkers: an in situ study of freshwater wetland ecosystem (Pateira de Fermentelos, Portugal) [J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(6): 952-962.
- [18] Oliveira M, Pacheco M, Santos M A. Organ specific antioxidant responses in golden grey mullet (*Liza aurata*) following a short-term exposure to phenanthrene [J]. *Science of the Total Environment*, 2008, **396**(1): 70-78.
- [19] Ensenbach U, Nagel R. Toxicity of binary chemical mixtures: effects on reproduction of zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, **32**(2): 204-210.
- [20] Ma H B, Williams P L, Diamond S A. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles-a review [J]. *Environmental Pollution*, 2013, **172**: 76-85.
- [21] 阎雷生. 国家环境保护局化学品测试准则-1990[M]. 北京: 化学工业出版社, 1990.
- [22] 宋志慧, 王庆伟. Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Cr^{6+} 对斑马鱼联合毒性作用和生物预警的研究[J]. *生态毒理学报*, 2011, **6**(4): 361-366.
- [23] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [24] Menard A, Drobne D, Jemec A. Ecotoxicity of nanosized TiO_2 review of in vivo data[J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(3): 677-684.
- [25] Devi G P, Ahmed K B A, Varsha M K N S, et al. Sulfidation of silver nanoparticle reduces its toxicity in zebrafish[J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, **158**: 149-156.
- [26] Al-Bairuty G A, Shaw B J, Handy R D, et al. Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, **126**: 104-115.
- [27] Ahmed M K, Habibullah-Al-Mamun M, Parvin E, et al. Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2013, **65**(6): 903-909.
- [28] Ameer W B, de Lapuente J, Megdiche Y E, et al. Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, **64**(2): 241-251.
- [29] 张名均. 纳米细菌致胎盘钙化机理的初步探讨[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- [30] Cerqueira C C C, Fernandes M N. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2002, **52**(2): 83-91.
- [31] Kelly K A, Havrilla C M, Brady T C, et al. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1998, **106**(7): 375-384.
- [32] Li H C, Zhou Q F, Wu Y, et al. Effects of waterborne nano-iron on medaka (*Oryzias latipes*): antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, **72**(3): 684-692.
- [33] 成嘉, 符贵红, 刘芳, 等. 重金属铅对鲫鱼乳酸脱氢酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. *生命科学研究*, 2006, **10**(4): 372-376.
- [34] Pandey S, Parvez S, Sayeed I, et al. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.) [J]. *Science of the Total Environment*, 2003, **309**(1-3): 105-115.
- [35] 王焕校. 污染生态学[M]. (第二版). 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [36] Okal A, Mossalam M, Matissek K J, et al. A chimeric p53 evades mutant p53 transdominant inhibition in cancer cells [J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2013, **10**(10): 3922-3933.
- [37] Hu W W, Feng Z H, Levine A J. The regulation of multiple p53 stress responses is mediated through MDM2 [J]. *Genes & Cancer*, 2012, **3**(3-4): 199-208.
- [38] Rew Y, Sun D Q. Discovery of a small molecule MDM2 inhibitor (AMG 232) for treating cancer [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, **57**(15): 6332-6341.
- [39] Yu C, Zhou Z G, Wang J, et al. In depth analysis of apoptosis induced by silica coated manganese oxide nanoparticles in vitro [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, **283**: 519-528.
- [40] Setyawati M I, Tay C Y, Leong D T. Effect of zinc oxide nanomaterials-induced oxidative stress on the p53 pathway [J]. *Biomaterials*, 2013, **34**(38): 10133-10142.
- [41] Christen V, Camenzind M, Fent K. Silica nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response, oxidative stress and activate the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway [J]. *Toxicology Reports*, 2014, **1**: 1143-1151.
- [42] 胡军, 刘志芬, 唐胜利, 等. 羟基磷灰石纳米粒子肝动脉灌注对兔 VX2 肝种植瘤生长和 bax/bcl-2 蛋白表达的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2007, **24**(4): 438-440.

CONTENTS

Source Contribution Analysis of the Fine Particles in Shanghai During a Heavy Haze Episode in December, 2013 Based on the Particulate Matter Source Apportionment Technology	LI Li, AN Jing-yu, YAN Ru-sha (3543)
Transformation Mechanism and Sources of Secondary Inorganic Components in PM _{2.5} at an Agriculture Site (Quzhou) in the North China Plain in Summer	CHEN Shi-yi, ZENG Li-min, DONG Hua-bin, <i>et al.</i> (3554)
Pollution Level and Sources of Organic Phosphorus Esters in Airborne PM _{2.5} in Chengdu City	YIN Hong-ling, LI Shi-ping, YE Zhi-xiang, <i>et al.</i> (3566)
Simulation Study of the Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Sugar Alcohols from Biomass Burning	HUANG Shuai, HUANG Xin-yi, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (3573)
Characteristics and Parameterization for Atmospheric Extinction Coefficient in Beijing	CHEN Yi-na, ZHAO Pu-sheng, HE Di, <i>et al.</i> (3582)
Photocatalytic Degradation of Gaseous Toluene by a Photo-Fenton Reaction	ZHENG Si-can, CHEN Tian-hu, LIU Hai-bo, <i>et al.</i> (3590)
Emission of PCDD/Fs from Crematories and Its Influencing Factors	YIN Wen-hua, YU Xiao-wei, HAN Jing-lei, <i>et al.</i> (3596)
Odor Emission Characteristics from Biochemical Treatment Facilities of Kitchen Waste in China	ZHANG Yan, WANG Yuan-gang, LU Zhi-qiang, <i>et al.</i> (3603)
Temporal and Spatial Characteristics of Lake Taihu Surface Albedo and Its Impact Factors	CAO Chang, LI Xu-hui, ZHANG Mi, <i>et al.</i> (3611)
Remote Sensing Inversion of Diffuse Attenuation Coefficient in Lake Taihu Based on the GOCI Images	WANG Shan-shan, LI Yun-mei, WANG Qiao, <i>et al.</i> (3620)
Porewater Dissolved Methane in <i>Cyperus malaccensis</i> Marshes Along Salinity Gradient in the Minjiang River Estuary	YANG Ping, ZHANG Zi-chuan, DU Wei-ning, <i>et al.</i> (3633)
Stable Isotopes Characters of Soil Water Movement in Shijiazhuang City	CHEN Tong-tong, CHEN Hui, HAN Lu, <i>et al.</i> (3641)
Seasonal Variations in Vertical Profile of Hg Species and the Influential Factors in Changshou Reservoir	BAI Wei-yang, ZHANG Cheng, TANG Zhen-ya, <i>et al.</i> (3649)
Nutrient Characteristics and Nitrogen Forms of Rhizosphere Soils Under Four Typical Plants in the Littoral Zone of TGR	WANG Xiao-feng, YUAN Xing-zhong, LIU Hong, <i>et al.</i> (3662)
Exchange Fluxes and Coupling Relationship of Dissolved Inorganic Carbon and Dissolved Organic Carbon Across the Water-Sediment Interface in Lakes	WANG Wei-ying, LÜ Chang-wei, HE Jiang, <i>et al.</i> (3674)
Mass Transport in Porous Sediments During a Turbulent Disturbance	LI Shao-long, CHEN Dao-yi (3683)
Characterization of Pollutant Wash-off in the Urban Stormwater	WU Jun-liang, REN Yu-fen, WANG Xue-mei, <i>et al.</i> (3691)
Research of the Stormwater Runoff and Pollution Characteristics in Rural Area of Yuhang District, Hangzhou	DUAN Sheng-hui, ZHAO Yu, SHAN Bao-qing, <i>et al.</i> (3697)
Formation and Variation of Brominated Disinfection By-products in A Combined Ultrafiltration and Reverse Osmosis Process for Seawater Desalination	YANG Zhe, SUN Ying-xue, SHI Na, <i>et al.</i> (3706)
Effect of Natural Organic Matter and Electrolytes on the Aggregation of C ₆₀ Nanoparticles in Aquatic Systems	FANG Hua, JING Jie, YU Jiang-hua, <i>et al.</i> (3715)
Efficiency of Sediment Amendment with Zirconium-Modified Kaolin Clay to Control Phosphorus Release from Sediments in Heavily Polluted Rivers	WANG Hong, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (3720)
Transformation of Nitrogen Nutrients in the Urban Sewage Pipe Network	JIN Peng-kang, JIAO Ding, REN Wu-ang (3730)
Application of Micro-aerobic Hydrolysis Acidification in the Pretreatment of Petrochemical Wastewater	ZHU Chen, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (3738)
Efficacy of A ² /O- <i>MBR</i> Combined Process in Wastewater Treatment and the Characteristics of Membrane Fouling	WANG Xu-dong, MA Ya-bin, WANG Lei, <i>et al.</i> (3743)
Effect of High Ammonium on Nitrogen Removal in an Partial Nitrification-ANAMMOX Process with Reflux System	LI Xiang, CUI Jian-hong, YUAN Yan, <i>et al.</i> (3749)
Reductive Dechlorination of Trichloroethylene by Benzoate-Enriched Anaerobic Cultures	LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, HU An-yi, <i>et al.</i> (3756)
2,4,6-Trichlorophenol Mineralization Promoted by Anaerobic Reductive Dechlorination of Acclimated Sludge and Extracellular Respiration Dechlorination Pathway	SONG Jia-xiu, LI Ling, SHENG Fan-fan, <i>et al.</i> (3764)
Short or Long Term Influence of Phenol on Nitrogen Removal Efficiency of ANAMMOX Sludge	YANG Peng-bing, LI Xiang, HUANG Yong, <i>et al.</i> (3771)
Process Optimization of Aerobic Granular Sludge Continuous-Flow System for the Treatment of Low COD/N Ratio Sewage	LU Lei, XIN Xin, LU Hang, <i>et al.</i> (3778)
Long-Term Inhibition of FNA on Aerobic Phosphate Uptake and Variation of Phosphorus Uptake Properties of the Sludge	MA Juan, LI Lu, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (3786)
Performance and Factors Analysis of Sludge Dewatering in Different Wastewater Treatment Processes	LIU Ji-bao, LI Ya-ming, LÜ Jian, <i>et al.</i> (3794)
Effect of Residual Hydrogen Peroxide on Hydrolysis Acidification of Sludge Pretreated by Microwave -H ₂ O ₂ -Alkaline Process	JIA Rui-lai, LIU Ji-bao, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (3801)
Vertical Distribution Characteristics of Typical Forest Soil Organic Nitrogen in Dawei Mountain	DING Xian-qing, MA Hui-jing, ZHU Xiao-long, <i>et al.</i> (3809)
Effects of Different Land Uses on Soil Active Organic Carbon and Nitrogen Fractions in Jinyun Mountain	QI Xin, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (3816)
Control of Soil Nutrient Loss of Typical Reforestation Patterns Along the Three Gorges Reservoir Area	WU Dong, HUANG Zhi-lin, XIAO Wen-fa, <i>et al.</i> (3825)
Effects of Slope Position and Soil Horizon on Soil Microbial Biomass and Abundance in Karst Primary Forest of Southwest China	FENG Shu-zhen, SU Yi-rong, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (3832)
Effects of Different Plantation Type on the Abundance and Diversity of Soil Microbes in Subtropical Red Soils	SHEN Bing-jie, ZHU Zhen-ke, YUAN Hong-zhao, <i>et al.</i> (3839)
Accumulation of Mercury in Soil-maize System of Non-ferrous Metals Smelting Area and Its Related Risk Assessment	Ji Xiao-feng, ZHENG Na, WANG Yang, <i>et al.</i> (3845)
Effects of Different Modifier Concentrations on Lead-Zinc Tolerance, Subcellular Distribution and Chemical Forms for Four Kinds of Woody Plants	CHEN Yong-hua, ZHANG Fu-yun, WU Xiao-fu, <i>et al.</i> (3852)
Isolation, Purification and Identification of Antialgal Activity Substances of Ethyl Acetate Extracts from the Submerged Macrophytes <i>Potamogeton crispus</i>	SUN Ying-ying, SU Zhen-xia, PU Yin-fang, <i>et al.</i> (3860)
Distribution Characteristics and Potential Risk of CBs in Aquatic Organisms from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (3866)
Application of Whole-cell Biosensor ADP1_pWHlux for Acute Toxicity Detection in Water Environment	TANG Hui, SONG Yi-zhi, JIANG Bo, <i>et al.</i> (3872)
Application of Rainbow Trout CYP1 Gene Expression Patterns in Gill and Liver for Haihe River Bio-monitoring	GAO Kai, YAN Pei, TAN Cui-ling, <i>et al.</i> (3878)
Toxic Effect of Nano-ZnO in Liver of Zebrafish	LIU Lin, ZHAO Qun-fen, JIN Kai-xing, <i>et al.</i> (3884)
Acute Toxicity of <i>Coptis chinensis</i> Rhizome Extracts to <i>Daphnia carinata</i>	CHEN Ya-nan, YUAN Ling (3892)
Adsorption-desorption Characteristics of Fermented Rice Husk for Ferrous and Sulfur Ions	XIE Xiao-mei, LIAO Min, HUA Jia-yuan, <i>et al.</i> (3896)
Application of Stir Bar Sorptive Extraction and Gas Chromatograph Mass Spectrometer to the Phthalic Acid Esters Analysis in Seawater	GAO Chen-chen, LI Feng-min, LU Lun, <i>et al.</i> (3906)
Experimental Conditions and Reliability Analysis of Results of COD Components	LI Zhi-hua, ZHANG Yin, HAN Xing, <i>et al.</i> (3913)
Method for Simultaneous Determination of 11 Veterinary Antibiotics in Piggery Wastewater and Sludge and Its Application in Biological Treatment	DING Jia-li, LIU Rui, ZHENG Wei, <i>et al.</i> (3918)
Research Progress in Technology of Using Soil Micro-organisms to Generate Electricity and Its Potential Applications	DENG Huan, XUE Hong-jing, JIANG Yun-bin, <i>et al.</i> (3926)

《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10月15日 第36卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 10 Oct. 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