

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第8期

Vol.33 No.8

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

南海北部大气气相多溴联苯醚的含量及来源	李琦路, 李军, 刘向, 徐维海, 张干 (2533)
河北张家口市大气污染观测研究	邵平, 王莉莉, 安俊琳, 周彦丽, 王跃思 (2538)
大气中丙烷光氧化臭氧生成活性的烟雾箱模拟	黄丽华, 莫创荣, 徐永福, 贾龙 (2551)
膜生物反应器处理甲苯性能及机制	叶杞宏, 魏在山, 肖盼, 李华琴, 张再利, 樊青娟 (2558)
厨余垃圾堆肥过程中恶臭物质分析	张红玉, 邹克华, 杨金兵, 李国学, 杨青原, 张锋 (2563)
北京城市生态系统地表水硝酸盐污染空间变化及其来源研究	徐志伟, 张心昱, 任玉芬, 孙晓敏, 王效科, 王升忠 (2569)
枯、平、丰水期长江3条支流表层水中多氯联苯的分布特征及风险评价	李昆, 赵高峰, 周怀东, 曾敏, 廖柏寒, 吴正勇, 张盼伟, 柳敏 (2574)
三峡库区丰水期表层水中酚类的分布特征及潜在风险	吴正勇, 赵高峰, 周怀东, 李科林, 李昆, 张盼伟 (2580)
东湖表层水体中全氟辛酸和全氟辛磺酸空间分布特征	陈静, 王琳玲, 朱湖地, 王贝贝, 刘黄诚, 曹梦华, 苗竹, 胡丽, 陆晓华, 刘光虹 (2586)
三峡库区大宁河与磨刀溪重金属污染特征	安立会, 张艳强, 郑丙辉, 刘玥, 宋双双, 李子成, 陈浩, 赵兴茹, 林进 (2592)
长江水系表层沉积物重金属污染特征及生态风险性评价	王岚, 王亚平, 许春雪, 安子怡 (2599)
江苏如东滩涂贝类养殖区表层沉积物中重金属来源分析及其潜在生物毒性	李磊, 王云龙, 蒋玫, 袁璐, 沈新强 (2607)
扰动强度对太湖沉积物中磷释放及其形态转化的影响	李大鹏, 黄勇 (2614)
干流倒灌异重流对香溪河库湾营养盐的补给作用	张宇, 刘德富, 纪道斌, 杨正健, 陈媛媛 (2621)
常年淹水和干旱对三峡库区消落带菖蒲生长恢复的影响	李强, 高祥, 丁武泉, 朱启红, 欧媛, 刘瑜 (2628)
温州城市降雨径流磷的负荷及其初始冲刷效应	周栋, 陈振楼, 毕春娟 (2634)
沂蒙山区典型小流域降雨径流的磷素输出特征	于兴修, 李振炜, 刘前进, 井光花 (2644)
城郊农业区小流域土地利用结构对氮素输出的影响	杨峰, 王鹏举, 杨珊珊, 吴金水, 胡荣桂 (2652)
基于 AnnAGNPS 模型四岭水库小流域氮磷流失特征的模拟研究	边金云, 王飞儿, 杨佳, 俞洁, 楼莉萍, 俞丹萍 (2659)
基于 GIS 和 L-THIA 模型的深圳市观澜河流域非点源污染负荷变化分析	白凤姣, 李天宏 (2667)
黄土丘陵区坡面水蚀对降雨和下垫面微观格局的响应	卫伟, 贾福岩, 陈利顶, 吴东平, 陈瑾 (2674)
强化混凝对腐殖酸和富里酸去除对比研究	周玲玲, 张永吉, 叶河秀, 张一清 (2680)
九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测	王青, 林惠荣, 张舒婷, 于鑫 (2685)
布吉河丰水期总细菌和氨氧化细菌的定性和定量研究	孙海美, 白姣姣, 孙卫玲, 邵军 (2691)
曝气生物滤池工艺脱氮性能及反硝化细菌群落结构特征研究	彭晓兰, 刘聪, 陈吕军 (2701)
城市污水处理厂氧化沟工艺微生物种群分析	郭云, 杨殿海, 卢文健 (2709)
IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析	朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 阮文权 (2715)
原子力显微镜液池成像技术应用于微絮凝过滤工艺过程中的实验条件优化	郑蓓, 葛小鹏, 于志勇, 原盛广, 张文婧, 孙景芳 (2723)
UV/H ₂ O ₂ 法对印染废水生化出水中不同种类有机物的去除效果	李新, 刘勇弟, 孙贤波, 徐宏勇, 钱飞跃, 李欣珏, 李暮 (2728)
蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 的异养培养条件优化及污水养殖	王秀锦, 李兆胜, 邢冠岚, 李卓凝, 袁红莉, 杨金水 (2735)
“Fe ⁰ /优势脱氯菌”体系降解 2,4,6-TCP 特性及机制研究	戴友芝, 郭丽丽, 史雷, 刘智勇, 高宝钗 (2741)
树脂 D201 上粗漆酶的固定化及对孔雀石绿的脱色	戚绪亮, 刘翔, 刘波, 王林, 王小春, 方超 (2747)
TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ 光催化剂的低温制备及其光催化和磁回收性能	王雪姣, 任学昌, 念娟妮, 肖举强, 王刚, 常青 (2752)
微波加热下苯的催化氧化性能研究	张钰彩, 卜龙利, 王晓晖, 刘海楠, 张浩 (2759)
纳米磁粉协同解偶联剂作用下活性污泥性能的研究	高丽英, 汤兵, 梁玲燕, 黄绍松, 付丰连, 罗建中 (2766)
好氧颗粒污泥沉降选择实验研究与定量描述	苏德足, 邓绣坤, 郑丽, 王畅, 金旺江, 沈俊 (2773)
超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中水解酶活性变化研究	叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝建, 许燕滨, 占星星, 刘敬勇 (2780)
微生物营养剂浓度对生物沥浸法促进城市污泥脱水性能的影响	宋永伟, 刘奋武, 周立祥 (2786)
实验室条件下蓝藻结皮对低温光照胁迫的响应与微结构变化	饶本强, 李华, 熊瑛, 兰书斌, 李敦海, 刘永定 (2793)
西南地区紫色水稻土活性碳库的季节动态	吴艳, 江长胜, 郝庆菊 (2804)
典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究	尹春艳, 骆永明, 滕应, 章海波, 陈永山, 赵永刚 (2810)
土壤铜硒复合污染中金属形态转化及其对生物有效性的影响	胡斌, 梁东丽, 赵文龙, 缪树寅 (2817)
土壤微生物群落对多环芳烃污染土壤生物修复过程的响应	张晶, 林先贵, 刘魏魏, 尹睿 (2825)
可可毛色二孢菌对焦化厂土壤多环芳烃污染修复	张志远, 王翠苹, 刘海滨, 孙红文 (2832)
广西茶山梯矿尾砂中微量元素的淋滤实验研究	蔡永兵, 李玲, 魏晓飞, 张国平, 李海霞, 付志平 (2840)
北京市近郊区土壤砷累积特征	戚洁, 王美娥, 汪自强, 欧阳志云 (2849)
抗氧化酶基因作为多环麝香污染分子标志物研究	陈春, 周启星, 刘潇威 (2855)
臭气污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响	寇太记, 于伟伟, 朱建国, 朱新开 (2862)
尿素分解共沉淀法中反应时间对 ZnAl 类水滑石结构和磷吸附性能的影响	陆英, 程翔, 邢波, 孙中恩, 孙德智 (2868)
铅和铜离子在纳米羟基磷灰石上的竞争吸附动力学研究	胡田田, 仓龙, 王玉军, 司友斌, 周东美 (2875)
pH 和 Ni ²⁺ 对人工纳米氧化硅吸附菲的影响	罗沛, 孙红文, 张鹏 (2882)
铈在凹凸棒石上的吸附特性与机制研究	刘娟, 陈迪云, 张静, 宋刚, 罗定贵 (2889)
环丙沙星在潮土中的吸附特性	崔皓, 王淑平 (2895)
中高温区水合肼 SNCR 脱硝反应机制和特性研究	洪彦, 陈德珍, 王渡, 黄慷 (2901)
H ₂ S 选择性催化氧化工艺及催化剂研究现状	郝郑平, 冀广玉, 张鑫, 曲思秋 (2909)
《环境科学》征稿简则 (2550) 《环境科学》征订启事 (2568) 信息 (2684, 2714, 2848, 2916)	

抗氧化酶基因作为多环麝香污染分子标志物研究

陈春^{1,2}, 周启星^{1*}, 刘潇威²

(1. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室/天津市城市生态环境修复与污染防治重点实验室, 天津 300071; 2. 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 为研究土壤中低剂量合成麝香暴露的分子毒理效应, 以蚯蚓超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)基因为供试基因, 建立 mRNA 表达水平的 Sybr Green I 荧光定量 PCR 检测方法; 并且采用自然土壤染毒实验, 检测了吐纳麝香(AHTN)或佳乐麝香(HHCB)胁迫诱导 SOD、CAT mRNA 的表达水平变化。序列同源性比较与熔解曲线分析表明设计的引物适合供试基因 mRNA 的检测。SOD 与 CAT 基因构建的荧光定量标准曲线的线性关系分别为 0.997 和 0.994, 且 PCR 扩增效率均接近于 100%, 故可实现两基因 mRNA 表达的相对定量分析。土壤染毒暴露 28 d 后, 丙二醛(MDA)含量水平显著升高, 表明自由基诱导的细胞氧化损伤是 AHTN 或 HHCB 毒性效应的主要途径方式。SOD、CAT mRNA 总体表现为上调表达趋势, 且表达量与 MDA 含量呈显著正相关, 表明抗氧化酶基因的诱导表达与氧化应激水平有关联。而且, SOD、CAT mRNA 表达水平与 AHTN 或 HHCB 浓度存在正相关剂量-效应关系。综上表明, SOD 与 CAT 基因可成为潜在的分子生物标志物, 用于表征合成麝香污染暴露水平及其毒理效应。

关键词: 抗氧化酶; 吐纳麝香; 佳乐麝香; 赤子爱胜蚓; 荧光定量 PCR; 分子生物标志物

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)08-2855-07

Antioxidant Enzyme Gene Expression as Molecular Biomarkers of Exposure to Polycyclic Musks

CHEN Chun^{1,2}, ZHOU Qi-xing¹, LIU Xiao-wei²

(1. Key Laboratory of Environmental Pollution Process and Criteria (Ministry of Education)/Tianjin Key Laboratory of Environmental Remediation and Pollution Control, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Institute of Agro-Environmental Protection, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the molecular toxicological effects of low level synthetic musks exposure on the earthworm *Eisenia fetida*. The method of Sybr Green I real time quantitative PCR (RT-qPCR) for detecting gene expression level was established. SOD (superoxide dismutase) and CAT (catalase) mRNA expression levels were measured after 28 days of AHTN and HHCB exposure. The analysis results of both sequence alignment and melting curve demonstrated that the selected primers were suitable for mRNA quantification. The liner correlation coefficients of SOD and CAT standard curves were 0.997 and 0.994, respectively, and the PCR amplification efficiencies were both close to 100%. Therefore, relative quantification method could be applied to analyze the gene expression levels. The significant elevation of malondialdehyde (MDA) levels indicated that the reactive oxygen species-induced cellular oxidative injury might be one of the main toxic effects of AHTN and HHCB. Besides, a significant positive correlation was observed between the up-regulation of SOD, CAT mRNA and the MDA levels, suggesting that possible changes in the transcript expression of antioxidant enzyme genes were associated with the oxidative stress. Furthermore, the dose-response correlation between SOD, CAT mRNA levels and the exposure concentrations was also found. The overall results indicated that SOD and CAT genes might be potential molecular biomarkers for the evaluation of the pollution stress and toxicological effects of synthetic musks in the environment.

Key words: antioxidant enzyme; AHTN; HHCB; *Eisenia fetida*; quantitative real-time PCR; molecular biomarker

合成麝香作为天然麝香的廉价替代品, 被广泛应用于各种化妆品和洗涤用品等日常生活护理用品中^[1]。由于其生物毒性以及环境普遍存在性, 它已经成为一种备受关注的新型污染物, 对生态系统和人体健康构成了潜在危害^[2]。其中, 佳乐麝香(HHCB)与吐纳麝香(AHTN)这2种最具代表性的多环麝香, 其物化性质与多环芳烃、多氯联苯等化学物质相似, 是低水溶性、半挥发的脂溶性持久化合物。

当生物体受有毒物质污染胁迫时, 代谢毒物过程中会产生有毒中间产物或活性氧分子等自由基, 进而引起机体内的氧化应激。而超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶体系, 它

收稿日期: 2011-10-17; 修订日期: 2011-12-27

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(21037002); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项

作者简介: 陈春(1980~), 男, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为生态毒理学与环境化学, E-mail: chenncun@yahoo.com

* 通讯联系人, E-mail: zhouqx@nankai.edu.cn

们在参与活性氧自由基的清除以及应激防御反应中发挥着重要作用^[3]. 目前, 抗氧化酶系已成为表征生物防御与清除氧化损伤能力的重要生物标志物, 广泛应用于蚯蚓毒理学研究领域^[4].

污染物与生物体之间的相互作用始于分子水平, 然后逐步在细胞、器官、个体、种群、群落, 以致整个生态系统各水平上反映出来. 与其他毒理学终点相比较, 分子水平响应可准确灵敏地表征或监测污染物早期低水平暴露的毒性效应. 鉴于污染物暴露胁迫对生物体的效应最初体现于毒性相关基因的特异性表达或抑制, 随后才表现出一系列的毒性症状^[5]. 于是, 开展某些特异性基因表达水平的早期检测, 能够为筛选灵敏的分子生物标志物和揭示污染物毒性作用机理提供必要的信息.

蚯蚓是陆生生态食物链底层中的一种重要土壤动物, 作为土壤动物与土壤介质之间信息传递的桥梁, 它具有直接与土壤中化学污染物暴露相接触的优越性^[6]. 因此, 蚯蚓作为陆生生态毒理学领域中的优先模式指示物种之一, 通常用来指示土壤中有毒有害化学物质的污染状况^[7]. 由于目前环境中合成麝香的生态毒性研究主要侧重于水生毒理学, 但是陆生生态系统方面相关报道较少, 尤其分子水平上毒性效应的研究则更为匮乏. 因此, 本研究采用 Sybr Green I 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术,

建立蚯蚓抗氧化酶 (SOD、CAT) mRNA 表达水平的定量检测方法, 并且分析 AHTN 或 HHCB 土壤染毒胁迫下抗氧化酶基因表达变化规律, 以期筛选出敏感的分子生物标志物, 应用于合成麝香土壤污染的早期分子诊断和生态风险评价.

1 材料与方法

1.1 供试污染物和供试动物

吐纳麝香 (7-乙酰基-1,1,3,4,4,6-六甲基-1,2,3,4-四氢萘, AHTN) 购自上海力智生化科技有限公司, 纯度 99%; 佳乐麝香 (1,3,4,6,7,8-六氢-4,6,6,7,8,8-六甲基环五-γ-2-苯并吡喃, HHCB) 购自天津中科健化工有限公司, 纯度 99%.

实验受体动物为赤子爱胜蚓 (*Eisenia fetida*), 是国际标准毒理实验模式生物之一, 购自南开大学教研基地天津芦台贾立明蚯蚓养殖场.

1.2 方法

1.2.1 蚯蚓 SOD、CAT mRNA 的 RT-qPCR 检测

Trizol 法提取蚯蚓总 RNA^[8]. 总 RNA 经无 RNA 酶活的 DNase (Promega, 美国) 纯化后, 取 1 μg 总 RNA, 采用逆转录酶 ReverTra Ace-a- (Toyobo, 日本) 合成 cDNA. 根据 GenBank 已发表的蚯蚓 SOD、CAT 基因 cDNA 序列信息^[9], 采用 Primer Express 3.0 设计 RT-qPCR 扩增引物 (表 1), 引物由上海生工合成.

表 1 供试基因 PCR 引物序列及目的序列片段大小

Table 1 Primers sequences and lengths of the amplified fragments

基因	登录号	上游引物	下游引物	PCR 产物大小/bp
β-actin	GU177854	TCCATCGTCCACAGAAAG	AAATGTCCTCCGCAAGCT	149
SOD	GU177856	TGCTCACTTCAACCCATTT	TTGGCAACACCACTTTCA	105
CAT	GU177857	CATTGCGGATGGAAACTA	TTCGGATTACGATTGAGA	165

PCR 扩增反应体系: 取 cDNA 2 μL, 上下游引物各 1.5 μL, 10 mmol·L⁻¹ dNTPs 1 μL, 25 mmol·L⁻¹ MgSO₄ 3 μL, KOD-plus-1 μL, 10 × PCR Buffer 5 μL, ddH₂O 35 μL, 反应总体积 50 μL. 94℃ 预变性 2 min; 35 个扩增循环 (98℃ 变性 15 s, 55℃ 退火 20 s, 72℃ 延伸 30 s), 循环结束后 72℃ 延伸 10 min. PCR 产物采用凝胶回收试剂盒 (Takara, 日本) 纯化后, 连接至平末端载体 pEASY-Blunt (全式金, 北京), 再转化至 Trans1-T1 感受态细胞 (全式金, 北京). 成功筛选出各基因重组质粒经 10 倍系列稀释后, 作为 RT-qPCR 反应模板, 构建标准曲线. 同时任选 3 个重组质粒测序 (北京华大基因公司完成). 采用 NCBI 数据库中 Blast X 程序同源性比较.

RT-qPCR 扩增: 反应体系为 20 μL, 其中 SYBR Green I Mix (Bio-rad, 美国) 10 μL, ddH₂O 6.4 μL,

上下游引物 (10 μmmol·L⁻¹) 各 0.8 μL, cDNA 2.0 μL. 反应条件为 95℃ 预变性 2 min, 45 个循环 (95℃ 变性 15 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸采集荧光信号 30 s. PCR 反应结束后熔解曲线分析: 95℃ 1 min; 60℃ 1 min, 60℃ 30 s 后, 温度 0.5℃·s⁻¹ 递升至 95℃ 结束.

1.2.2 AHTN 或 HHCB 暴露诱导蚯蚓抗氧化酶 mRNA 表达

供试自然土壤取自天津塘沽森林公园洁净表层土壤 (0 ~ 20 cm), 经自然风干后过 2 mm 筛待用, 其理化性质及污染物土壤背景值见表 2. AHTN 或 HHCB 染毒浓度分别设置 5 个水平, 即 3、10、30、50 和 100 μg·g⁻¹, 同时设置助溶试剂丙酮为对照组. 染毒暴露 28 d 后于每个处理组中任意各选取 4 个蚯蚓样品, 用于 mRNA 表达的定量检测.

表 2 供试土壤的理化性状与 AHTN、HHCB 背景浓度

Table 2 Physicochemical properties and background concentrations of AHTN and HHCB in the tested soil							
土壤 pH	有机质含量/%	阳离子交换量 /cmol·kg ⁻¹	土壤机械组成/%			AHTN /μg·g ⁻¹	HHCB /μg·g ⁻¹
			黏粒	粉粒	砂粒		
7.2	4.2	20.4	47.4	38.0	14.6	<0.001	<0.001

1.2.3 蚯蚓丙二醛(MDA)含量的测定

MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法^[10]. 反应体系主要由 8.1% SDS、20% 醋酸钠-醋酸缓冲液、1% TBA 溶液和蚯蚓组织匀浆液组成. 95℃ 水浴加热 30 min, 反应结束经冷却后 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min. 取上清液于 532 nm 处测定吸光度, 并除去其在 600 nm 处的吸光度以消除干扰. MDA 含量水平均以相对于对照组的倍数表示.

1.2.4 数据处理与分析

以 β-actin 作为持家基因, mRNA 表达定量分析参照基因表达值法 (gene expression ratio)^[11]:

$$R = \frac{(E_{tar})C_{tar}}{(E_{ref})C_{ref}}$$

式中, C_i 值为荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数; E_{ref} 、 E_{tar} 分别为持家基因与目的基因的 PCR 扩增效率. 标准曲线方程为 $y = kx + b$ (k 代表斜率, b 代表截距), 扩增效率 $E = 10^{(-1/k)} - 1$; R 为处理组中目的基因经校正后的表达比值 (expression ratio), 即基因表达水平的相对定量结果. 将暴露 0 h 丙酮对照组各目的基因的表达水平设为 1.0, 处理组中基因 mRNA 表达量均以相对于对照组的倍数表示.

实验数据以平均值 ± 标准偏差的方式表示. 数理统计均采用 SPSS 13.0 软件包分析. 不同处理组之间的比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 多重比较采用 Duncan 法, 显著性差异水平为 $P < 0.05$.

2 结果与分析

2.1 蚯蚓总 RNA 的纯度与完整度

电泳结果显示蚯蚓总 RNA 的 28 S 和 18 S 条带清晰 (图 1), 且 RNA 的 A_{260}/A_{280} 比值均在 1.8 ~ 2.0

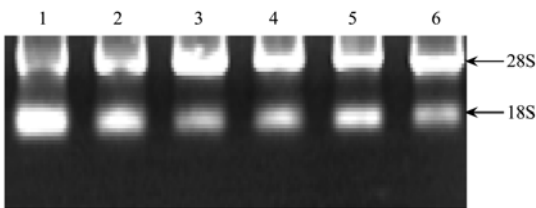


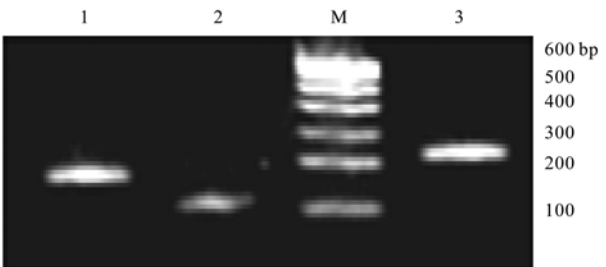
图 1 蚓总 RNA 电泳图谱

Fig. 1 Electrophoresis image of total RNA extracted from earthworms

之间, 表明抽提的总 RNA 纯度与完整度较高, 可满足 cDNA 合成和 RT-qPCR 反应需求.

2.2 RT-qPCR 引物设计及 cDNA 序列鉴定

蚯蚓总 RNA 为模板, 采用设计引物进行供试基因 RT-qPCR 扩增, 电泳检测表明两基因片段分别处于 100 ~ 200 bp 之间 (图 2). 测序结果与 GenBank 已收录 SOD、CAT 基因序列信息高度相似, 其中与蚯蚓 (*Eisenia fetida*) 的 SOD (DQ286712)、CAT (DQ286713) 基因序列相似度最高分别为 100%、99% (表 3). 结果表明, 引物的设计可满足目的基因片段扩增要求. 各熔解曲线皆为特异的单个峰 (图 3), 没有出现引物二聚体及非特异性扩增, 进一步说明引物的选择以及建立的 RT-qPCR 反应体系条件适用于 SOD、CAT 基因特异性检测.



M:600 bp marker; 1: CAT; 2: SOD; 3: β-actin

图 2 管家基因 β-actin 与目的基因 SOD、CAT 的 RT-qPCR 扩增产物电泳图

Fig. 2 Electrophoresis image of the RT-qPCR products of selected genes (β-actin, SOD, CAT)

2.3 RT-qPCR 标准曲线的建立

供试基因 SOD、CAT 的 RT-qPCR 扩增动力学曲线如图 4. 根据模板浓度与对应 C_i 值的线性关系构建标准曲线 (图 4). SOD 与 CAT mRNA 表达量线性检测范围分别达到 7、6 个数量级, 最低检测限均为 1×10^3 拷贝数·μL⁻¹, 其标准曲线回归方程分别为 $y = -3.332x + 38.429$ ($R^2 = 0.997$), $y = -3.340x + 38.330$ ($R^2 = 0.994$). 且 SOD、CAT 基因的扩增效率分别高达 100%、99.3%, 表明此检测方法可满足供试基因 mRNA 表达水平准确定量检测的目的. 此外, 管家基因 β-actin 的标准曲线方程为 $y = -3.337x + 37.667$ ($R^2 = 0.999$), 扩增效率为 99.4%.

表 3 供试基因与 NCBI 已发表的蚯蚓以及其他物种基因的同源性比较

Table 3 Homology search results by BlastX algorithm of NCBI for cDNA fragments obtained by RT-qPCR with gene-specific primers				
供试基因	物种	参比序列	一致性/%	相似性/%
SOD (GU177856)	蚯蚓 <i>Eisenia fetida</i>	SOD (DQ286712)	98	100
	蚯蚓 <i>Lumbricus terrestris</i>	SOD (EU407497)	95	98
	蚯蚓 <i>Lumbricus terrestris</i>	SOD (EU407495)	98	98
	桑粉介壳虫 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	SOD (EF070566)	92	92
	蜱 <i>Argas monolakensis</i>	SOD (DQ886903)	83	92
CAT (GU177857)	蚯蚓 <i>Eisenia fetida</i>	CAT (DQ286713)	99	99
	蚯蚓 <i>Lumbricus terrestris</i>	CAT (EU407496)	91	93
	蚯蚓 <i>Lumbricus terrestris</i>	CAT (EU407494)	88	91
	羽苔虫 <i>Plumatella repens</i>	CAT (EU074276)	84	93
	三角帆蚌 <i>Hyriopsis cumingii</i>	CAT (HMI88565)	80	91

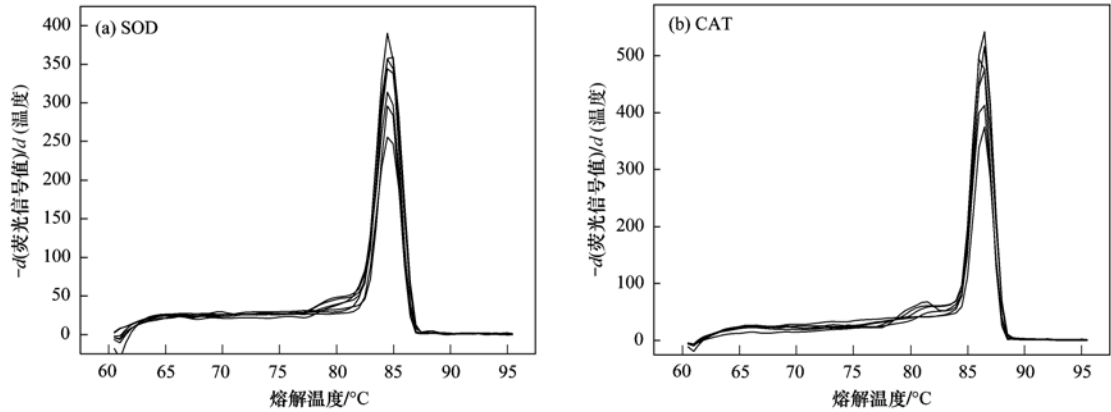


图 3 目的基因 SOD、CAT RT-qPCR 的熔解曲线分析

Fig. 3 Melting curve analysis of the RT-qPCR products of the target genes SOD and CAT

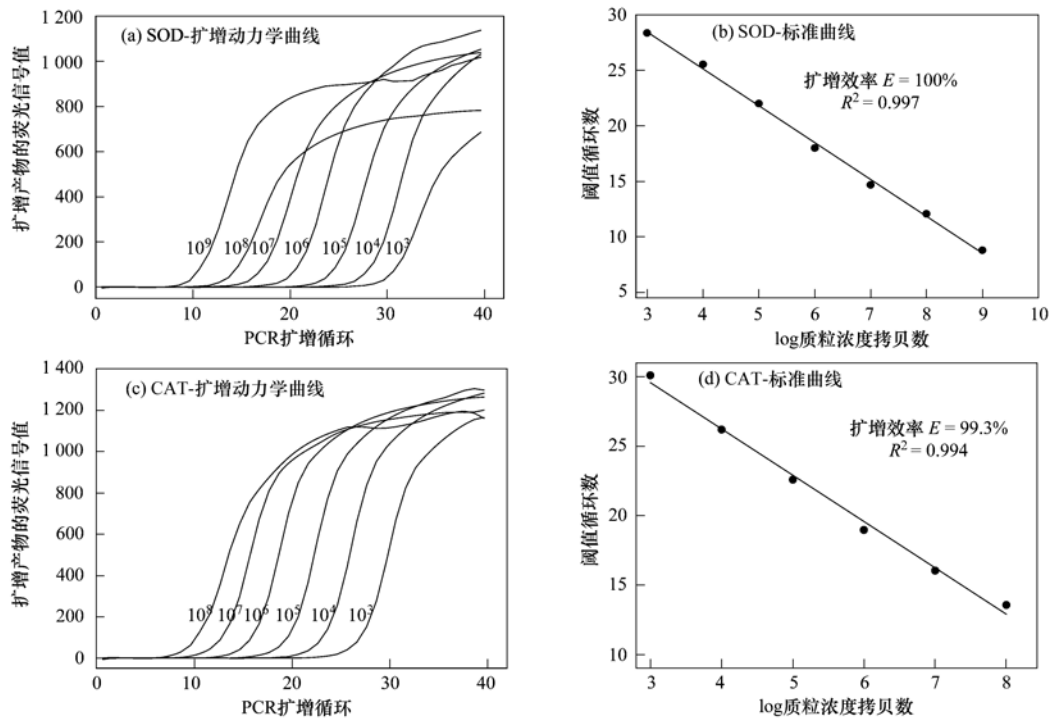


图 4 目的基因 SOD、CAT RT-PCR 扩增动力学曲线与标准曲线

Fig. 4 Kinetic curve and standard curve of the RT-PCR amplification of SOD and CAT genes

2.4 氧化应激水平与抗氧化酶基因 mRNA 表达的响应变化

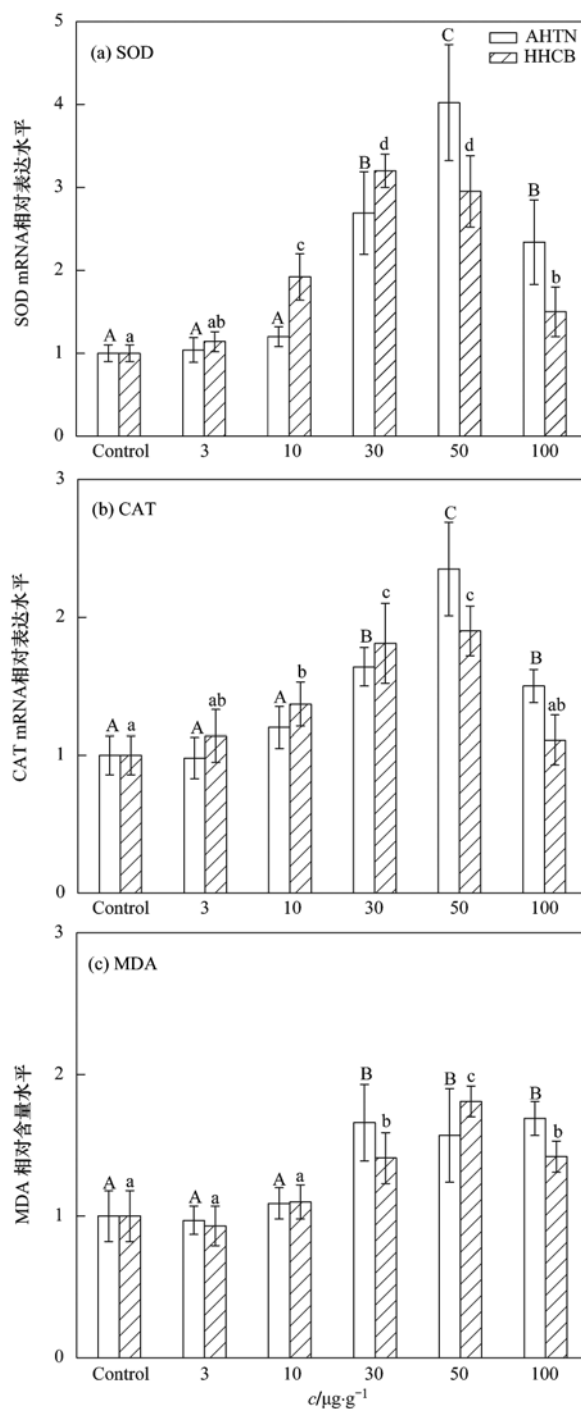
土壤染毒 28 d 后, AHTN 或 HHCB 污染诱导抗氧化酶基因表达水平的变化趋势如图 5(a)、5(b)。其中, 30、50 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ AHTN 处理组蚯蚓 SOD mRNA 显著 ($P < 0.05$) 上调表达, 分别为对照组表达水平的 2.7、4.0 和 2.3 倍; 10、30、50 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ HHCB 处理组 SOD mRNA 表达水平也显著上调 ($P < 0.05$), 分别为对照组的 1.9、3.2、3.0 和 1.5 倍。与 SOD 基因表达响应趋势相似, 30、50 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ AHTN 处理组中 CAT mRNA 表达水平均显著 ($P < 0.05$) 上调, 分别为对照组表达水平的 1.6、2.4 和 1.5 倍; 30 和 50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ HHCB 处理组中 CAT 基因上调表达水平分别为对照组的 1.8 和 1.9 倍。

MDA 是脂质过氧化产物之一, 其含量水平间接反映了细胞受自由基攻击的脂质过氧化程度, 是毒理学研究公认的细胞氧化应激水平重要指示剂^[12]。与对照组比较, 染毒 28 d 后 AHTN 或 HHCB 低浓度组 (3、10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 中 MDA 含量水平无明显变化; 但随着暴露剂量的增加, 中高浓度组 (30、50 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 的 MDA 含量水平显著 ($P < 0.05$) 升高[图 5(c)]。

3 讨论

鉴于早期环境污染物暴露水平较低, 传统毒理学测试难以在较短时间准确检测其毒性水平。而分子水平上的生物标志物能够直接以生物体内靶细胞或靶分子为反应终点, 可作为污染物暴露和毒性效应的早期预警指标, 目前正逐渐成为生态毒理学研究关注热点^[13]。

污染物暴露胁迫下蚯蚓特异性基因在转录水平上的响应变化, 往往对评价污染物的毒性效应具有早期预警和指示作用。本研究采用 Sybr Green I 荧光染料 RT-qPCR 检测技术, 构建了其反应体系和反应条件, 为定量检测蚯蚓 SOD、CAT mRNA 表达水平提供了必要的技术手段。然而, 与 Taqman 探针技术相比较, Sybr Green I 对所有双链 DNA 的结合是非特异性的, PCR 反应中非特异性扩增产物或引物二聚体也可与 Sybr Green I 结合产生荧光信号并干扰对目的基因的定量, 因此必须保证 RT-qPCR 检测的特异性^[14]。本研究通过消除基因 DNA 污染、选择合适的引物及适当浓度、优化 PCR 反应体系等措施提高检测的特异性。而且 PCR 扩增产物电泳检



不同大写字母表示 AHTN 浓度处理组间存在显著差异 ($P < 0.05$);

不同小写字母表示 HHCB 浓度处理组间显著差异 ($P < 0.05$)

图 5 AHTN 或 HHCB 土壤染毒暴露 28 d 对 SOD 与 CAT mRNA 表达以及 MDA 含量的影响

Fig. 5 Gene expression levels of SOD, CAT and MDA in the control and AHTN or HHCB exposed (3, 10, 30, 50 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) worms after 28-day exposure

测未发现非特异性条带, 溶解曲线分析也证实扩增产物的特异性。因此, Sybr Green I 荧光染料法可满足供试基因 RT-qPCR 特异性检测的需求。另外, 由

于持家基因 β -actin 与目的基因 SOD、CAT 等扩增效率均接近 100%,且效率间差异不超过 5%,故可采用相对定量方法以 β -actin 为对照基因校正目的基因 mRNA 表达水平。

正常生理情况下,生物体内活性氧自由基的产生和清除处于一种动态平衡状态,细胞内氧化还原也相对稳定以维持生物机体的正常生理功能;若活性氧自由基产生与清除的动态平衡一旦被破坏,则会引起氧化胁迫(应激)效应,从而对细胞或组织器官造成损伤^[15]。MDA 具备与自由基水平之间良好相关性的特点,故通常作为细胞氧化应激水平的标志物^[16]。蚯蚓 MDA 含量的显著增加表明 AHTN 或 HHCB 污染暴露可诱导蚯蚓氧化应激,产生了大量的自由基,由于无法及时将过多的自由基清除,致使自由基不断累积而发生氧化应激,导致机体脂质过氧化水平升高,从而对蚯蚓造成一定的氧化损伤。过量自由基引发的氧化应激往往与自由基防御体系抗氧化酶基因的表达有着内在联系,生物体内自由基含量水平的增加通常伴随着 SOD、CAT 等基因表达水平的上调^[17,18]。AHTN 或 HHCB 污染胁迫下 SOD、CAT mRNA 表达水平分别与 MDA 含量呈显著的正相关(AHTN: $r_{\text{SOD-MDA}}=0.817$, $r_{\text{CAT}}=0.773$; HHCB: $r_{\text{SOD}}=0.953$, $r_{\text{CAT}}=0.798$, $P<0.05$),表明 SOD、CAT 基因的诱导表达与氧化应激水平有密切联系,抗氧化酶基因上调表达可能是为了防御蚯蚓抵御氧化应激损伤以及自由基诱导引起的细胞毒性^[19]。此外,当 AHTN 或 HHCB 暴露浓度较低时($0\sim 50\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),SOD、CAT mRNA 表达水平分别与染毒浓度存在正相关剂量-效应关系(SOD: $r_{\text{AHTN}}=0.876$, $r_{\text{HHCB}}=0.907$; CAT: $r_{\text{AHTN}}=0.874$, $r_{\text{HHCB}}=0.881$, $P<0.05$)。且诱导抗氧化酶基因表达的 AHTN 或 HHCB 最低可观察浓度分别为 10 、 $30\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。但是,当暴露浓度为 $100\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时,SOD、CAT mRNA 表达水平虽然较对照组显著上调表达;然而与 $50\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 浓度处理组相比较,其表达水平略有下降趋势。其原因可能是:高浓度暴露组中蚯蚓体内 MDA 含量水平持续升高,氧化应激水平的不断加剧产生了大量自由基,而当过量自由基超出抗氧化酶的清除负荷时,累积多余的自由基在一定程度上将抑制抗氧化酶基因的表达^[20]。综上所述,蚯蚓 SOD、CAT 基因可作为潜在分子生物标志物,应用于土壤 AHTN 或 HHCB 低剂量暴露水平及毒理效应的早期监控和及时预警。

今后,有待于开展蚯蚓抗氧化酶基因 cDNA 全

序列及其编码蛋白质结构分析,为丰富蚯蚓基因序列数据库和构建蚯蚓基因芯片检测平台奠定基础,从而更有利于拓展多环麝香污染胁迫下高通量基因表达谱的研究。

4 结论

(1) Sybr Green I 荧光染料 RT-PCR 方法适用蚯蚓抗氧化酶基因 SOD、CAT mRNA 表达水平的定量检测。

(2) 合成麝香 AHTN 或 HHCB 土壤污染暴露胁迫下,蚯蚓体内 MDA 含量水平显著升高;SOD 与 CAT mRNA 表达水平均显著上调,但高浓度 AHTN 或 HHCB 暴露时其上调表达水平受抑制。

(3) SOD、CAT mRNA 的响应表达可有效监测和表征土壤早期 AHTN 或 HHCB 低剂量暴露水平及生态毒理效应。

参考文献:

- [1] 周启星,王美娥,范飞,等. 人工合成麝香的环境污染、生态行为与毒理效应研究进展[J]. 环境科学学报, 2008, **28**(1): 1-11.
- [2] 陈苏,孙丽娜,孙铁珩,等. 人工合成麝香对小麦种子发芽的生态毒性[J]. 环境科学, 2011, **32**(5): 1477-1481.
- [3] Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, **13**(2): 57-149.
- [4] Xue Y G, Gu X Y, Wang X R, et al. The hydroxyl radical generation and oxidative stress for the earthworm *Eisenia fetida* exposed to tetrabromobisphenol A [J]. Ecotoxicology, 2009, **18**(6): 693-699.
- [5] Nakamori T, Fujimori A, Kinoshita K, et al. mRNA expression of a cadmium-responsive gene is a sensitive biomarker of cadmium exposure in the soil collembolan *Folsomia candida* [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(5): 1689-1695.
- [6] 宋玉芳,周启星,许华夏,等. 菲、苝、1, 2, 4-三氯苯对蚯蚓的急性毒性效应[J]. 农村生态环境, 2003, **19**(1): 36-39.
- [7] 周启星,王美娥. 土壤生态毒理学研究进展与展望[J]. 生态毒理学报, 2006, **1**(1): 1-11.
- [8] 陈春,周启星. 蚯蚓金属硫蛋白定量 PCR 检测方法及其分子诊断[J]. 中国环境科学, 2011, **31**(8): 1377-1382.
- [9] Brulle F, Mitta G, Cocquerelle C, et al. Cloning and real-time PCR testing of 14 potential biomarkers in *Eisenia fetida* following cadmium exposure [J]. Environmental Science & Technology, 2006, **40**(8): 2844-2850.
- [10] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction [J]. Analytical Biochemistry, 1979, **95**(2): 351-358.
- [11] Quirós L, Piña B, Solé M, et al. Environmental monitoring by

- gene expression biomarkers in *Barbus graellsii*: laboratory and field studies[J]. *Chemosphere*, 2007, **67**(6): 1144-1154.
- [12] Møller P, Loft S. Oxidative damage to DNA and lipids as biomarkers of exposure to air pollution[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2010, **118**(8): 1126-1136.
- [13] 王晓蓉, 罗义, 施华宏, 等. 分子生物标志物在污染环境早期诊断和生态风险评估中的应用[J]. *环境化学*, 2006, **25**(3): 320-325.
- [14] Halford W P, Falco V C, Gebhardt B M, *et al.* The inherent quantitative capacity of the reverse transcription-polymerase chain reaction[J]. *Analytical Biochemistry*, 1999, **266**(2): 181-191.
- [15] Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification[J]. *Toxicologic Pathology*, 2002, **30**(6): 620-650.
- [16] Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, *et al.* Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, **64**(2): 178-189.
- [17] Scandalios J G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses[J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2005, **38**(7): 995-1014.
- [18] Elbaz A, Wei Y Y, Meng Q, *et al.* Mercury-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Ecotoxicology*, 2010, **19**(7): 1285-1293.
- [19] Woo S, Yum S, Kim D W, *et al.* Transcripts level responses in a marine medaka (*Oryzias javanicus*) exposed to organophosphorus pesticide[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, **149**(3): 427-432.
- [20] Jo P G, Choi Y K, Choi C Y. Cloning and mRNA expression of antioxidant enzymes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in response to cadmium exposure [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2008, **147**(4): 460-469.

CONTENTS

Levels and Sources of Gaseous Polybrominated Diphenyl Ethers in Air over the Northern South China Sea	LI Qi-lu, LI Jun, LIU Xiang, <i>et al.</i> (2533)
Observation and Analysis of Air Pollution in Zhangjiakou, Hebei	SHAO Ping, WANG Li-li, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (2538)
Smog Chamber Simulation of Ozone Formation from Atmospheric Photooxidation of Propane	HUANG Li-hua, MO Chuang-rong, XU Yong-fu, <i>et al.</i> (2551)
Mechanism and Performance of a Membrane Bioreactor for Treatment of Toluene Vapors	YE Qi-hong, WEI Zai-shan, XIAO Pan, <i>et al.</i> (2558)
Analysis of Odor Pollutants in Kitchen Waste Composting	ZHANG Hong-yu, ZOU Ke-hua, YANG Jin-bing, <i>et al.</i> (2563)
Spatial Changes and Sources of Nitrate in Beijing Urban Ecosystem Surface Water	XU Zhi-wei, ZHANG Xin-yu, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (2569)
Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from Three Tributaries of Yangtze River in Different Periods	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2574)
Distribution Characteristics and Potential Risks of Phenols in the Rainy Season Surface Water from Three Gorges Reservoir	WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2580)
Spatial Distribution of Perfluorooctanoic Acids and Perfluorinate Sulphonates in Surface Water of East Lake	CHEN Jing, WANG Lin-ling, ZHU Hu-di, <i>et al.</i> (2586)
Characteristics of Heavy Metal Pollution in Daninghe River and Modaoxi River of Three Gorges Reservoir Areas	AN Li-hui, ZHANG Yan-qiang, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2592)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of the Yangtze River	WANG Lan, WANG Ya-ping, XU Chun-xue, <i>et al.</i> (2599)
Analysis of the Source, Potential Biological Toxicity of Heavy Metals in the Surface Sediments from Shellfish Culture Mudflats of Rudong Country, Jiangsu Province	LI Lei, WANG Yun-long, JIANG Mei, <i>et al.</i> (2607)
Effect of Disturbance Intensity on Phosphorus Release and Its Transformation in the Sediment from Taihu Lake	LI Da-peng, HUANG Yong (2614)
Effects of Intrusions from Three Gorges Reservoir on Nutrient Supply to Xiangxi Bay	ZHANG Yu, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2621)
Influence of Perennial Flooding and Drought on Growth Restoration of <i>Acorus calamus</i> in Water-level-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir	LI Qiang, GAO Xiang, DING Wu-quan, <i>et al.</i> (2628)
Pollution Load and the First Flush Effect of Phosphorus in Urban Runoff of Wenzhou City	ZHOU Dong, CHEN Zhen-lou, BI Chun-juan (2634)
Output Characteristics of Rainfall Runoff Phosphorus Pollution from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area	YU Xing-xiu, LI Zhen-wei, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (2644)
Influence of Land Use Structure on Nitrogen Output in the Watershed of Suburban Agriculture Regions	YANG Feng, WANG Peng-ju, YANG Shan-shan, <i>et al.</i> (2652)
Simulation of Nitrogen and Phosphorus Loss in Siling Reservoir Watershed with AnnAGNPS	BIAN Jin-yun, WANG Fei-er, YANG Jia, <i>et al.</i> (2659)
GIS and L-THIA Based Analysis on Variations of Non-point Pollution in the Guanlan River Watershed, Shenzhen	BAI Feng-jiao, LI Tian-hong (2667)
Response of Sloping Water Erosion to Rainfall and Micro-earth Pattern in the Loess Hilly Area	WEI Wei, JIA Fu-yan, CHEN Li-ding, <i>et al.</i> (2674)
Comparison Study of Enhanced Coagulation on Humic Acid and Fulvic Acid Removal	ZHOU Ling-ling, ZHANG Yong-ji, YE He-xiu, <i>et al.</i> (2680)
Real-time PCR Detection and Quantification of Emerging Waterborne Pathogens (EWPs) and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in the Downstream Area of Jiulong River	WANG Qing, LIN Hui-rong, ZHANG Shu-ting, <i>et al.</i> (2685)
Quantitative and Qualitative Analysis of Total Bacteria and Ammonia-oxidizing Bacteria in Buji River in Wet Season	SUN Hai-mei, BAI Jiao-jiao, SUN Wei-ling, <i>et al.</i> (2691)
Study on the Nitrogen Removal Performance and the Characteristics of Denitrification Bacterial Community Structure of Biological Aerated Filter	PENG Xiao-lan, LIU Cong, CHEN Li-jun (2701)
Analysis of Microbial Community Structure at Full-scale Wastewater Treatment Plants by Oxidation Ditch	GUO Yun, YANG Dian-hai, LU Wen-jian (2709)
Performance and Microbial Community Dynamic Characteristics of an Internal Circulation Reactor Treating Brewery Wastewater	ZHU Wen-xiu, HUANG Zhen-xing, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (2715)
Coupling AFM Fluid Imaging with Micro-Flocculation Filtration Process for the Technological Optimization	ZHENG Bei, GE Xiao-peng, YU Zhi-yong, <i>et al.</i> (2723)
Study on Removal Effect of Different Organic Fractions from Bio-treated Effluent of Dye Wastewater by UV/H ₂ O ₂ Process	LI Xin, LIU Yong-di, SUN Xian-bo, <i>et al.</i> (2728)
Optimization of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 Photoheterotrophic Culture and Its Use in Wastewater Treatment	WANG Xiu-jin, LI Zhao-sheng, XING Guan-lan, <i>et al.</i> (2735)
Characteristics and Mechanism of 2,4,6-TCP Degradation by the "Fe ⁰ /Enriched-Bacteria" System	DAI You-zhi, GUO Li-li, SHI Lei, <i>et al.</i> (2741)
Immobilization of Crude Laccase onto Anion Exchange Resin and Its Application in Decoloration of Malachite Green	QI Xu-liang, LIU Xiang, LIU Bo, <i>et al.</i> (2747)
Low-Temperature Preparation of TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ and Its Photocatalytic Activity and Magnetic Recovery	WANG Xue-jiao, REN Xue-chang, NIAN Juan-ni, <i>et al.</i> (2752)
Study on Catalytic Oxidation of Benzene by Microwave Heating	ZHANG Yu-cai, BO Long-li, WANG Xiao-hui, <i>et al.</i> (2759)
Synergistic Effects of Nano-sized Magnetic Particles and Uncoupler to the Characteristics of Activated Sludge	GAO Li-ying, TANG Bing, LIANG Ling-yan, <i>et al.</i> (2766)
Experimental and Modeling Research on the Settlement of Aerobic Granular Sludge	SU Kui-zu, DENG Xiu-kun, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2773)
Analysis of Hydrolytic Enzyme Activities on Sludge Aerobic/Anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment	YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2780)
Effect of Microbial Nutrient Concentration on Improvement of Municipal Sewage Sludge Dewaterability Through Bioleaching	SONG Yong-wei, LIU Fen-wu, ZHOU Li-xiang (2786)
Response of the Artificial Cyanobacterial Crusts to Low Temperature and Light Stress and the Micro-structure Changes Under Laboratory Conditions	RAO Ben-qiang, LI Hua, XIONG Ying, <i>et al.</i> (2793)
Seasonal Dynamics of Soil Active Carbon Pool in a Purple Paddy Soil in Southwest China	WU Yan, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2804)
Pollution Characteristics and Accumulation of Antibiotics in Typical Protected Vegetable Soils	YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, <i>et al.</i> (2810)
Transformation and Influences of Copper and Selenium Fractions on Heavy Metals Bioavailability in Co-contaminated Soil	HU Bin, LIANG Dong-li, ZHAO Wen-long, <i>et al.</i> (2817)
Response of Soil Microbial Community to the Bioremediation of Soil Contaminated with PAHs	ZHANG, Jing, LIN Xian-gui, LIU Wei-wei, <i>et al.</i> (2825)
Bioremediation of PAHs Contaminated Soil from Beijing Coking Plant by <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	ZHANG Zhi-yuan, WANG Cui-ping, LIU Hai-bin, <i>et al.</i> (2832)
Leaching Experiments on the Release of Trace Elements from Tailings of Chashan Antimony Mine, Guangxi, China	CAI Yong-bing, LI Ling, WEI Xiao-fei, <i>et al.</i> (2840)
Accumulation Characteristics of Arsenic in Suburban Soils of Beijing	QI Jie, WANG Mei-e, WANG Zi-qiang, <i>et al.</i> (2849)
Antioxidant Enzyme Gene Expression as Molecular Biomarkers of Exposure to Polycyclic Musks	CHEN Chun, ZHOU Qi-xing, LIU Xiao-wei (2855)
Effects of Ozone Pollution on the Accumulation and Distribution of Dry Matter and Biomass Carbon of Different Varieties of Wheat	KOU Tai-ji, YU Wei-wei, ZHU Jian-guo, <i>et al.</i> (2862)
Influence of Reaction Time of Urea Hydrolysis-Based Co-precipitation on the Structure of ZnAl Layered Double Hydroxides and the Phosphate Adsorption	LU Ying, CHENG Xiang, XING Bo, <i>et al.</i> (2868)
Competitive Adsorption Kinetics of Aqueous Pb ²⁺ and Cu ²⁺ on Nano-HAP Surfaces	HU Tian-tian, CANG Long, WANG Yu-jun, <i>et al.</i> (2875)
Effects of pH and Ni ²⁺ on Sorption Behavior of Phenanthrene on Engineered Nano-Silica	LUO Pei, SUN Hong-wen, ZHANG Peng (2882)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Uranium on Attapulgite	LIU Juan, CHEN Di-yun, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2889)
Adsorption Characteristics of Ciprofloxacin in Ustic Cambosols	CUI Hao, WANG Shu-ping (2895)
Kinetic Mechanism and Characteristics Researches for Hydrazine-based NO _x Removal at Moderate to High Temperatures	HONG Liu, CHEN De-zhen, WANG Du, <i>et al.</i> (2901)
Current Research Situation of H ₂ S Selective Catalytic Oxidation Technologies and Catalysts	HAO Zheng-ping, DOU Guang-yu, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (2909)

《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8月15日 33卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 8 Aug. 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