

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 31 卷 第 13 期 Vol.31 No.13 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 13 期

2011 年 7 月 (半月刊)

目 次

我国东部北亚热带植物群落季相的时空变化	陈效速, 亓孝然, 阿 杉, 等 (3559)
华北低丘山地人工林蒸散的季节变化及环境影响要素	黄 辉, 孟 平, 张劲松, 等 (3569)
东北东部 14 个温带树种树干呼吸的种内种间变异	许 飞, 王传宽, 王兴昌 (3581)
RS 和 GIS 支持的洪河地区湿地生态健康评价	王一涵, 周德民, 孙永华 (3590)
应用光合色素研究广西钦州湾丰水期浮游植物群落结构	蓝文陆, 王晓辉, 黎明民 (3601)
基于不可替代性的青海省三江源地区保护区功能区划研究	曲 艺, 王秀磊, 栾晓峰, 等 (3609)
融雪时间对大卫马先蒿生长和繁殖特性的影响	陈文年, 吴 彦, 吴 宁, 等 (3621)
巴郎山刺叶高山栎叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 对海拔高度的响应	冯秋红, 程瑞梅, 史作民, 等 (3629)
宁南半干旱与半干旱偏旱区苜蓿草地土壤水分与养分特征	任晶晶, 李 军, 王学春, 等 (3638)
南岭小坑藜蒴栲栎群落地上部分生物量分配规律	李 根, 周光益, 王 旭, 等 (3650)
放牧对五台山高山、亚高山草甸牧草品质的影响	章异平, 江 源, 刘全儒, 等 (3659)
短期增温对贡嘎山峨眉冷杉幼苗生长及其 CNP 化学计量学特征的影响	羊留冬, 杨 燕, 王根绪, 等 (3668)
锰胁迫对垂序商陆叶片形态结构及叶绿体超微结构的影响	梁文斌, 薛生国, 沈吉红, 等 (3677)
土荆芥挥发油对蚕豆根尖细胞的化感潜力	胡琬君, 马丹炜, 王亚男, 等 (3684)
喀斯特城市杨树人工林微量元素的生物循环	王新凯, 田大伦, 闫文德, 等 (3691)
大兴安岭林区多孔菌的区系组成与种群结构	崔宝凯, 余长军 (3700)
铜绿微囊藻和斜生栅藻非稳态营养盐限制条件下的生长竞争特性	赵晓东, 潘 江, 李金页, 等 (3710)
陆地棉萌发至三叶期不同生育阶段耐盐特性	王俊娟, 王德龙, 樊伟莉, 等 (3720)
基于模式生物秀丽隐杆线虫的三丁基锡生态毒性评价	王 云, 杨亚楠, 简风雷, 等 (3728)
大庆油田石油开采对土壤线虫群落的影响	肖能文, 谢德燕, 王学霞, 等 (3736)
若尔盖高寒草甸退化对中小型土壤动物群落的影响	吴鹏飞, 杨大星 (3745)
洞庭湖湿地土壤环境及其对退田还湖方式的响应	刘 娜, 王克林, 谢永宏, 等 (3758)
渭北旱塬苹果园地产量和深层土壤水分效应模拟	张社红, 李 军, 王学春, 等 (3767)
黄土丘陵区不同土地利用下土壤释放 N_2O 潜力的影响因素	祁金花, 黄懿梅, 张 宏, 等 (3778)
东北中部地区水稻不同生育时期低温处理下生理变化及耐冷性比较	宋广树, 孙忠富, 孙 蕾, 等 (3788)
硫对成熟期烤烟叶绿素荧光参数的影响	朱英华, 屠乃美, 肖汉乾, 等 (3796)
高温强光对温州蜜柑叶绿素荧光、D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶的影响及 SA 效应	邱翠花, 计玮玮, 郭延平 (3802)
覆膜对土壤-莴苣体系氮素分布和植物吸收的影响	李丽丽, 李非里, 刘秋亚, 等 (3811)
基于空间分带的崇明东滩水鸟适宜生境的时空动态分析	范学忠, 张利权, 袁 琳, 等 (3820)
驯鹿对苔藓植物的选择食用及其生境的物种多样性	冯 超, 白学良 (3830)
北京城市绿地调蓄雨水径流功能及其价值评估	张 彪, 谢高地, 薛 康, 等 (3839)
专论与综述	
冻土甲烷循环微生物群落及其对全球变化的响应	倪永清, 史学伟, 郑晓吉, 等 (3846)
哺乳动物毛被传热性能及其影响因素	郑 雷, 张 伟, 华 彦 (3856)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 304 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-07



封面图说: 滇金丝猴是我国特有的世界珍稀动物之一, 属国家一级重点保护物种。仅生活在滇藏交界处的高寒云冷杉林中, 是我国川、滇、黔三种金丝猴中唯一具有和人类一样美丽红唇的金丝猴。手中的松萝是它最喜爱的食物之一。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

王云, 杨亚楠, 简风雷, 吴杰宇, 沈洁, 王顺昌. 基于模式生物秀丽隐杆线虫的三丁基锡生态毒性评价. 生态学报, 2011, 31(13): 3728-3735.
Wang Y, Yang Y N, Jian F L, Wu J Y, Shen J, Wang S C. Assessment of tributyltin ecotoxicity using a model animal nematode *Caenorhabditis elegans*. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(13): 3728-3735.

基于模式生物秀丽隐杆线虫的三丁基锡生态毒性评价

王 云*, 杨亚楠, 简风雷, 吴杰宇, 沈 洁, 王顺昌

(淮南师范学院, 淮南 232001)

摘要: 利用秀丽隐杆线虫半致死浓度分析和致死曲线分析来筛选对三丁基锡(Tributyltin, TBT)敏感的线虫品系, 并讨论与 TBT 毒理学过程可能相关的基因。通过对秀丽隐杆线虫体长、每窝子代数数和怀卵量的测定来探讨 TBT 的生态毒性效应, 以期为 TBT 对秀丽隐杆线虫和人类的生态毒性评价和致毒机理研究提供科学依据。结果表明: TBT 对各品系线虫 48 h LC_{50} 从小到大依次为 $egl-1(n487) < ced-4(n1162) < cep-1(gk138) = cep-1(lg12501) < ced-9(n1950) < clk-2(mn159) < ced-3(n717) < N2 < opIs34(hus-1::GFP) < opIs56(egl-1::GFP) < daf-16(mn86) < hus-1(op241) < daf-2(e1370)$ 。筛选出对 TBT 最敏感的线虫品系为 $egl-1(n487)$, 而对 TBT 耐受力最强的是 $daf-2(e1370)$ 。TBT 对秀丽隐杆线虫体长、每窝子代数数和怀卵量均呈现浓度依赖型的抑制作用。

关键词: 秀丽隐杆线虫; 三丁基锡; 生态毒性评价

Assessment of tributyltin ecotoxicity using a model animal nematode *Caenorhabditis elegans*

WANG Yun*, YANG Yanan, JIAN Fenglei, WU Jieyu, SHEN Jie, WANG Shunchang

Huainan Normal University, Huainan 232001, China

Abstract: Tributyltin(TBT) has been widely used as antifouling paint for vessels and, as a result, has been released into aquatic environment since the 1960s. Although the use of TBT paints has been banned recently, significant quantities of TBT and its metabolites are still detectable in many regions. They can exist for long periods in aquatic organisms and sediments. It is widely acknowledged that triorganotin, especially TBT compounds, are among the most toxic substances ever introduced deliberately into the marine environment. The toxic effects of TBT have been documented in several experimental systems, however, due to its adverse impacts on the ecosystems, the development of sensitive bioassay systems with multi-endpoints are essential for risk assessment and mechanism study.

Toxicity bioassay techniques, as a powerful approach for environmental assessment and toxicity testing, has become a fundamental tool to evaluate the early warnings of potential environmental pollutants that are hazardous to the health of humans and wild animals. However, the organism should meet several criteria before it is selected as a bioindicator. It should have endpoints sensitive to the tested pollutants, can operate rapidly and easily, can allow the testing of a large number of samples in a small volume, and is inexpensive. The free living nematode *Caenorhabditis elegans* has been proved to be a good model for the evaluation of toxicological effects of environmental chemicals or toxins, the results are comparable to that of mammals. In the present study, the nematode *C. elegans* was employed to investigate the toxicity of TBT. To determine the acute toxic effects of TBT to *C. elegans*, a range of worm strains were exposed to graded doses of TBT for 48 h. The median lethal concentrations(LC_{50}) were estimated in these strains with different genes knocked out. To screen the

基金项目: 国家自然科学基金项目(20907016)

收稿日期: 2010-12-11; 修订日期: 2011-04-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangyunxm@yahoo.com.cn

sensitive sublethal endpoints for the risk assessment of TBT to the environment, the body size, fecundity and brood size were assayed in the wild type N2. The results presented here implicated that the nematode *C. elegans* could be used as substitutive model in evaluation the toxic effects of TBT in the environment.

The 48 h LC_{50} observed on the wild type and mutant strains for TBT were in the order of $egl-1(n487) < ced-4(n1162) < cep-1(gk138) = cep-1(lg12501) < ced-9(n1950) < clk-2(mn159) < ced-3(n717) < N2 < opIs34(hus-1::GFP) < opIs56(egl-1::GFP) < daf-16(mn86) < hus-1(op241) < daf-2(e1370)$. The results of LC_{50} suggested that the strains carrying the mutant genes *daf-2*, *hus-1* and *daf-16* are less sensitive than that of N2, respectively. Conversely, *egl-1*, *ced-4*, *cep-1*, *ced-9* and *clk-2* loss-of-function strains exhibited more sensitive to TBT exposure than that of N2, implying that these genes may contribute to the protection effects from TBT toxicity in *C. elegans*. Therefore, *egl-1(n487)* is one of the most sensitive strains to TBT stress, while long-lived *daf-2(e1370)* is one of the most tolerant strains to TBT stress. In our study, the body length of *C. elegans* was inhibited as low as 10 nmol/L TBT. The fecundity decreased significantly at the dose exceeding 50 nmol/L, similar effects were observed for brood size. Our present results indicated that LC_{50} of the mutated strain *egl-1(n487)*, the body length, brood size and fecundity of *C. elegans* are the sensitive endpoints to indicate TBT contamination in aquatic environments.

Key Words: *Caenorhabditis elegans*; tributyltin (TBT); ecotoxicity assessment

三丁基锡 (Tributyltin, TBT) 是一类典型的有机锡化合物,被广泛用作船舶防污剂、农药和木材防腐剂等。因为 TBT 的污染已对很多海洋生物表现出明显的生殖毒性,大多数国家已经颁布法规禁止或限制 TBT 的使用^[1]。尽管如此,在许多地区还是能够检测到大量 TBT 及其降解产物^[2-3]。特别是许多亚洲国家还没有完全控制 TBT 的使用,这将导致 TBT 的污染长期存在^[4-5]。TBT 不仅可以引起雌性软体动物的雄性化畸变^[6-7],还可以引起褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 和斑马鱼 (*Danio rerio*) 等脊椎动物的雄性化^[8-9]。TBT 可以通过食物链进入人体。在人体血液中检测到的丁基锡 (包括 TBT) 浓度范围在 50 至 400 nmol/L 之间^[10],因此 TBT 对人类的潜在毒性研究引起了极大关注。已有研究表明丁基锡具有肝脏毒性、神经毒性和免疫毒性^[11-12],然而,造成 TBT 多重毒性效应的特异机制尚未阐明。

秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 生活史短,结构简单,易于饲养,遗传发育背景清楚。线虫毒理学实验具有廉价、快速和简便的优点,加之突变品系丰富且易于获得,已经成为环境毒理学研究领域极具吸引力的模式生物。对于环境化学物诱导的分子响应的生态毒理学关联研究,线虫也是理想的动物模型^[13-16]。秀丽隐杆线虫对各种环境应激比较敏感,从卵发育到早期成虫只需 60 h 左右,可以在短时间内筛选出对环境污染敏感品系,并方便地观察到运动行为、体长、生殖能力变化等亚致死效应指标。

本文引入模式生物秀丽隐杆线虫,利用 DNA 损伤效应 (DNA damage response, DDR) 途径和胰岛素样生长因子受体 (Insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R) 途径基因敲除品系开展急性毒性实验,经半致死浓度 (LC_{50}) 测试和致死曲线分析,筛选出对 TBT 敏感和具有抗性的线虫品系。利用体长、怀卵量和每窝子代数等亚致死指标分析 TBT 对线虫的毒理作用,为 TBT 风险评价及其致毒机理研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 线虫品系与试剂

秀丽隐杆线虫依照标准规程培养在含有大肠杆菌 OP50 的琼脂培养基 (Nematode growth medium, NGM) 上^[17]。除体长测定外,均采用早期成虫 (处于 L4 幼虫后 20 h 发育阶段) 进行毒理学试验。本研究所用的线虫品系有: Bristol N2 (野生型), *hus-1(op241)*, *opIs34*, *clk-2(mn159)*, *ced-3(n717)*, *ced-4(n1162)*, *ced-9(n1950)*, *cep-1(gk138)*, *cep-1(lg12501)*, *daf-2(e1370)*, *daf-16(mn86)*, *egl-1(n487)*, *opIs56*, 所有品系资源均由国际线虫遗传中心 (*Caenorhabditis* Genetics Center, CGC) 提供。

氯化三丁基锡 (TBTCl, 纯度 97%, Sigma-Aldrich 公司产品), 其他化学试剂均为市售分析纯。TBT 用二

甲亚砷(Dimethyl sulfoxide, DMSO)作溶剂,配制成不同浓度的母液。

1.2 致死效应分析

实验表明 0.5% DMSO 对线虫的存活没有显著影响。分别吸取 0.985 mL K-medium(含 53 mmol/L NaCl, 32 mmol/L KCl, 121 °C 高压灭菌)于 Costar 12 孔组织培养板内,加入 0.01 mL 的 OP50 作为饲料,将 5 μ L TBT 溶液以一定的浓度梯度分别加入 K-medium 中,设 DMSO 溶剂对照组,所有处理组和对照组的 DMSO 量均为 0.5%。每孔分别培养 20 条同步化的早期成虫,每组设 3 个平行孔,所有处理温度均为 20 °C。处理后 48 h,在解剖镜下观察,用解剖针轻触虫体,没有任何反应的即视为死亡个体,记录死亡个体数目,实验重复 3 次,计算 LC_{50} ,制作致死曲线。

1.3 体长测定

利用野生型线虫 N2 进行 TBT 暴露下的体长测定。于 Costar 12 孔组织培养板内,加入 0.01 mL 的 OP50 作为饲料,将孵化后 24 h 之内的 L_1 期幼虫暴露于不同浓度的 TBT(终浓度为 0, 10, 50, 200, 1000 nmol/L),处理时间均为 48 h,温度均为 20 °C。然后将线虫转移至 NGM 进行恢复培养,对恢复期为 0, 24 h 和 48 h 的线虫进行体长测定(每组 20 条线虫),先将线虫用水蒸气处死以使其身体伸直^[18],然后用 Olympus IX71 显微镜进行拍照,DP2-BSW(Olympus Corporation)软件对线虫体长进行标定,标定前用 1 mm 的物镜测微尺校准。本实验重复 3 次。

1.4 每窝子代数和怀卵量的测定

利用 N2 研究 TBT 对线虫繁殖力的影响,每窝子代数测定参照 Helmcke 等^[19]的方法并作适当修改。于 Costar 24 孔组织培养板内,加入 0.01 mL 的 OP50 作为饲料,将同步化后的早期成虫用终浓度为 0, 10, 50, 200, 1000 nmol/L 的 TBT 处理,每组 6 个孔,每孔 1 条线虫,每隔 24 h 将线虫转移至一个同一处理条件的新孔,以便对其子代进行计数。本实验重复 4 次,以确定不同浓度的 TBT 对线虫每窝子代数的影响。

线虫怀卵量的测定参照 Miller 等^[20]的方法,于 Costar 12 孔组织培养板内,加入 OP50 作为饲料,将同步化后的 N2 早期成虫用终浓度为 0, 10, 50, 200, 1000 nmol/L 的 TBT 处理,24 h 后将线虫载入含有 45% NaClO 的 M9 缓冲液(含 3 g KH_2PO_4 , 6 g Na_2HPO_4 , 5 g NaCl, 1 mL 1 mol/L $MgSO_4$, 加水至 1 L, 121 °C 高压灭菌)的玻片上进行处理,在体视显微镜下进行子宫中受精卵的计数^[20]。本实验每组 20 条线虫,重复 3 次。

1.5 数据处理

采用 Probits 分析法计算线虫 LC_{50} 。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 检验法分析不同品系之间 LC_{50} 的显著性差异以及 TBT 对野生型线虫 N2 的体长、每窝子代数和怀卵量的影响,所有数据均表示为平均值 $\pm$ 标准误,统计分析均采用 SPSS 13.0 完成,且界定 $P < 0.05$ 为显著水平。

2 结果与分析

2.1 TBT 对秀丽隐杆线虫的致死效应分析

TBT 对线虫的 48 h 致死效应分析采用野生型品系 N2 和 12 个基因敲除品系,这 12 个基因敲除品系分别是:DNA 损伤检查点基因 *hus-1*(*op241*)和 *clk-2*(*mn159*),细胞凋亡调控基因 *egl-1*(*n487*), *ced-3*(*n717*), *ced-4*(*n1162*)和 *ced-9*(*n1950*), *cep-1*(*gk138*)及其等位基因 *cep-1*(*lg12501*),胰岛素样生长因子受体基因 *daf-2*(*e1370*),叉头蛋白(Forkhead box O, FOXO)转录因子基因 *daf-16*(*mn86*)。opIs34(*hus-1::GFP*)和 opIs56(*egl-1::GFP*)是带有绿色荧光标记的基因功能补偿品系。通过 Probits 分析法计算线虫 LC_{50} (表 1),可以看出 *egl-1*(*n487*), *ced-4*(*n1162*), *cep-1*(*gk138*), *cep-1*(*lg12501*), *ced-9*(*n1950*)和 *clk-2*(*mn159*)这些基因敲除品系对 TBT 的敏感性高于 N2($P < 0.05$),其中 *egl-1*(*n487*)的 48 h LC_{50} 值为 $(0.75 \pm 0.11) \mu\text{mol/L}$,仅为 N2 的 11.6%。相反地, *daf-16*(*mn86*), *hus-1*(*op241*)和 *daf-2*(*e1370*)品系对 TBT 表现出较高的抗性,其 48 h LC_{50} 值显著高于 N2($P < 0.05$),分别为 (9.26 ± 0.27) , (10.40 ± 0.99) 和 $(10.74 \pm 0.70) \mu\text{mol/L}$ 。另外, TBT 对 *ced-3*(*n717*)的致死效应与 N2 没有显著差异($P > 0.05$)。

从致死曲线上分析, *hus-1*(*op241*), opIs34, *daf-16*(*mn86*), *daf-2*(*e1370*)和 opIs56 的 TBT 暴露曲线明显较

N2 平缓(图 1A、E、F), *clk-2* (*mn159*), *ced-3* (*n717*), *ced-4* (*n1162*), *ced-9* (*n1950*), *cep-1* (*gk138*), *cep-1* (*lg12501*) 和 *egl-1* (*n487*) 的 TBT 暴露致死曲线较 N2 陡峭(图 1B、C、D、F)。

表 1 TBT 对秀丽隐杆线虫 N2 与 12 个突变品系的 48 h 半致死浓度估算
Table 1 Estimation of 48 h LC_{50} in N2 and 12 mutant strains of *C. elegans* exposed to TBT

品系 Strains	半致死浓度 $LC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	置信区间 Interval of confidence (95%)	品系 Strains	半致死浓度 $LC_{50}/(\mu\text{mol/L})$	置信区间 Interval of confidence (95%)
<i>egl-1</i> (<i>n487</i>)	0.75±0.11 ^a	[0.25, 1.24]	<i>ced-4</i> (<i>n1162</i>)	2.29±0.08 ^b	[1.91, 2.67]
<i>cep-1</i> (<i>gk138</i>)	4.50±0.10 ^c	[4.03, 4.97]	<i>cep-1</i> (<i>lg12501</i>)	4.53±0.21 ^c	[3.59, 5.47]
<i>ced-9</i> (<i>n1950</i>)	4.53±0.15 ^c	[3.87, 5.19]	<i>clk-2</i> (<i>mn159</i>)	4.87±0.22 ^c	[3.89, 5.85]
<i>ced-3</i> (<i>n717</i>)	5.45±0.40 ^{cd}	[3.71, 7.19]	Wild type (N2)	6.42±0.10 ^d	[5.98, 6.85]
<i>opIs34</i>	7.99±0.11 ^e	[7.48, 8.50]	<i>opIs56</i>	8.82±0.11 ^{ef}	[8.33, 9.30]
<i>daf-16</i> (<i>mn86</i>)	9.26±0.27 ^f	[8.06, 10.45]	<i>hus-1</i> (<i>op241</i>)	10.40±0.99 ^g	[6.11, 14.69]
<i>daf-2</i> (<i>e1370</i>)	10.74±0.70 ^g	[7.72, 13.76]			

* LC_{50} 数据间不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 TBT 对秀丽隐杆线虫生长速度的影响

将 L_1 期的 N2 幼虫用 TBT 处理 48 h 后, 线虫的生长速度明显受到抑制, 表现出浓度-效应依赖关系(图 2)。200 nmol/L 和 1000 nmol/L TBT 浓度组的线虫体长明显低于对照组 ($P < 0.05$), 分别是对照组的 79.0% 和 71.6%; 恢复 24 h 后, 各浓度组线虫的体长均显著低于对照组 ($P < 0.05$); 有趣的是, 当恢复 48 h 后, 各浓度组线虫的体长均达到了对照组的水平, 甚至 10 nmol/L 和 200 nmol/L TBT 组线虫的体长超过了对照组 ($P < 0.05$), 这表明当 TBT 污染解除以后, 线虫的生长速度是可以得到弥补的。

2.3 TBT 对秀丽隐杆线虫每窝子代数和怀卵量的影响

TBT 对线虫的每窝子代数有显著的抑制效应(图 3), 当 TBT 浓度达到 200 nmol/L 和 1000 nmol/L 时, N2 孵化出的幼虫数量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 仅为对照组的 80.6% 和 65.7%。相似地, TBT 对线虫的怀卵量也有浓度依赖性的抑制作用(图 3), 50 nmol/L 至 1000 nmol/L 的 TBT 处理 24 h 后, 线虫怀卵总数均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 仅为对照组的 85.0% 至 64.3%。

3 讨论

TBT 已被认为是释放到水环境中最危险的人造化学品之一, 可在许多水生生物和高等哺乳动物体内富集, 人体的血液和肝脏中都曾检测到 TBT 的存在^[21]。因此, 对于 TBT 污染的早期诊断, 寻找关键靶标分子以及主要信号转导途径的研究显得十分必要而迫切。由于秀丽隐杆线虫与脊椎动物在胁迫效应基因和主要信号转导途径具有同源性^[22], 利用线虫来探讨 TBT 的生态毒性效应以及相关基因与信号转导途径具有普遍意义。

3.1 TBT 对秀丽隐杆线虫的致死效应与线虫品系的敏感性

在线虫突变体中, 某些基因的缺失会导致线虫对环境因子敏感, 如线虫的丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 信号传导途径的基因突变, 可导致线虫对重金属敏感, 寿命缩短, 对细菌的抵抗力降低^[23], 线虫的 *daf-16* 基因突变导致寿命下降和对重金属敏感性增加^[24-25], 这为利用线虫进行环境评价提供了良好的基础。当机体受到损伤, 如电离辐射时, 会触发机体的 DNA 损伤检查点基因, 如 *hus-1*, *p53* 等的表达, 并启动 DNA 损伤修复机制^[26-27]。线虫的 DNA 损伤修复机制与哺乳动物具有高度同源性, 已知线虫的某些 DNA 损伤检查点基因与环境敏感性有关, 如线虫 *p53* 同源基因 *cep-1* 和 caspase 基因 *ced-3* 的突变, 均导致其对疾病的抵抗力下降^[28-29], 但这些基因在 TBT 暴露中的作用尚未见报道。

本研究显示, TBT 对各品系线虫的 48 h LC_{50} 从小到大依次为 *egl-1* (*n487*) < *ced-4* (*n1162*) < *cep-1* (*gk138*) = *cep-1* (*lg12501*) < *ced-9* (*n1950*) < *clk-2* (*mn159*) < *ced-3* (*n717*) < N2 < *opIs34* (*hus-1::GFP*) < *opIs56* (*egl-1::GFP*) < *daf-16* (*mn86*) < *hus-1* (*op241*) < *daf-2* (*e1370*)。其中, *daf-16* (*mn86*), *hus-1* (*op241*), *daf-2* (*e1370*) 品系的 48 h

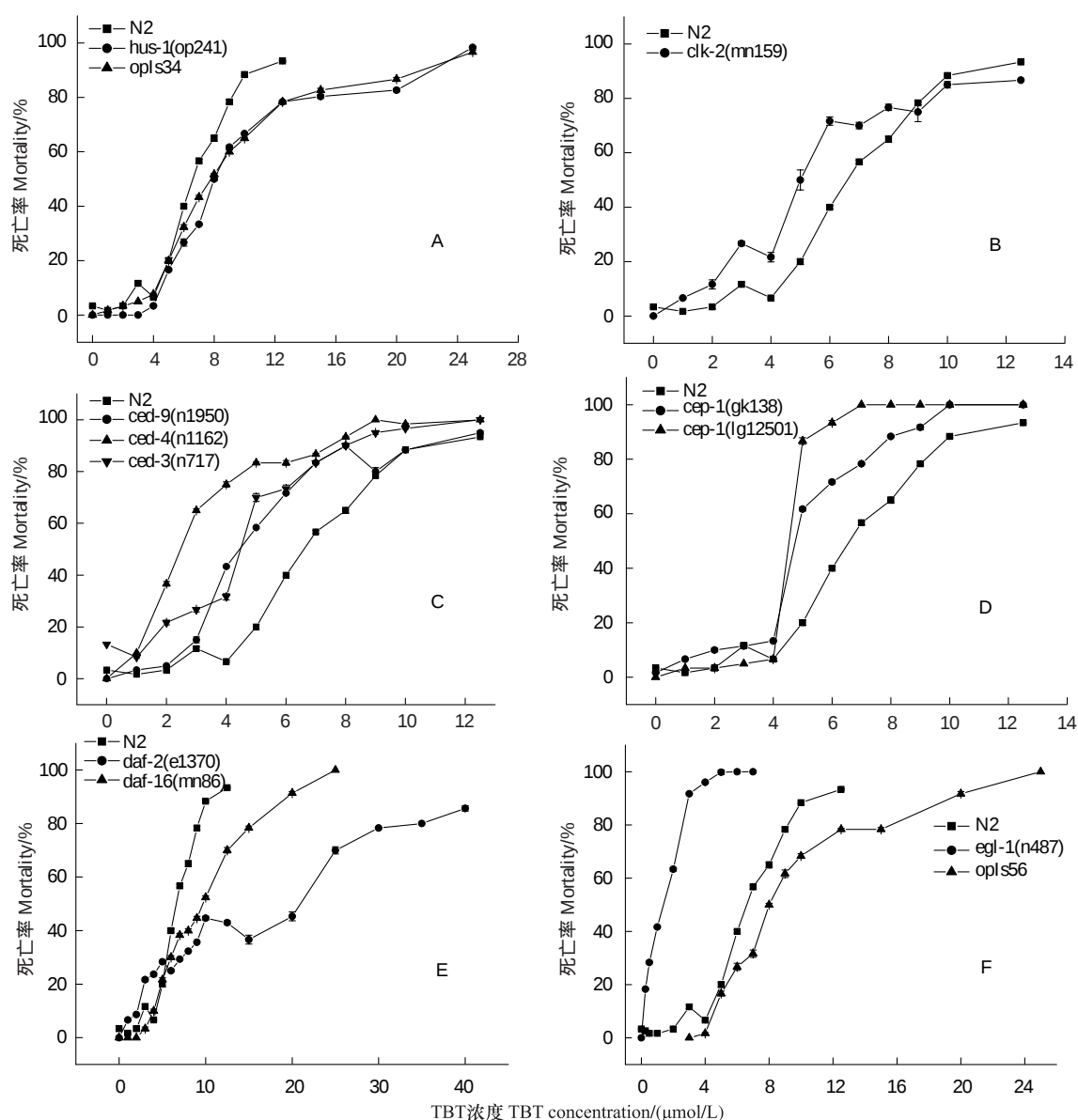


图1 TBT对秀丽隐杆线虫N2与12个突变品系的致死曲线分析

Fig. 1 Mortality assays post 48 h exposure to TBT in the N2 wild type and 12 mutant strains of *C. elegans*

LC_{50} 显著高于N2 ($P < 0.05$), 这些线虫品系相应基因功能的丧失导致其对TBT的耐受力较野生型增强, 这些基因可能是TBT致毒过程的相关基因^[30]。*daf-2*基因编码线虫胰岛素样生长因子受体, *daf-2*基因敲除导致对氧化胁迫和病原菌的抗性增强^[31], 结果显示, *daf-2*(e1370)对TBT最不敏感, 其48h LC_{50} 显著高于N2 ($P < 0.05$)。*hus-1*(op241)也表现出对TBT不敏感, 致死曲线较平缓, 具有较高的 LC_{50} (图1A)。*daf-16*编码叉头蛋白转录因子, 对于细胞的发育、增殖、分化与寿命起到重要的调控作用。线虫的*daf-16*基因突变导致对重金属敏感性增加^[24-25], 但是, 对TBT的敏感性反而减弱。

基因突变线虫品系对某种环境胁迫的敏感性增加, 表明突变的基因可能起到保护机体免受这一环境胁迫的作用^[30]。在本研究中, *egl-1*, *ced-4*, *cep-1*, *ced-9*, *clk-2*和*ced-3*基因敲除后, 线虫对TBT的48h LC_{50} 显著低于N2 ($P < 0.05$), 即这些相应基因可能起到保护机体免受TBT损伤的作用。*clk-2*是DNA损伤检查点基因, 可以影响线虫的正常生物学节律性和寿命^[32]。线虫*egl-1*基因激活细胞凋亡, 正向调控细胞凋亡基因*ced-9*, 进而激活下游的基因*ced-4*与*ced-3*^[33]。其中, *egl-1*(n487), *ced-4*(n1162)品系表现出较高的TBT暴露敏感

性,48 h LC_{50} 分别为 $(0.75 \pm 0.11) \mu\text{mol/L}$ 和 $(2.29 \pm 0.08) \mu\text{mol/L}$, 显著低于 N2 ($P < 0.05$), 其致死曲线也最为陡峭 (图 1C、F), 说明 *egl-1* 和 *ced-4* 基因对抵御 TBT 的损伤可能起到关键作用。

线虫的 *cep-1* 基因与哺乳动物 p53 基因同源, 其中 *cep-1(gk138)* 和 *cep-1(lg12501)* 都是 *cep-1* 基因敲除品系。在对线虫 *cep-1* 基因的功能研究中发现线虫 *cep-1(gk138)* 对氧化胁迫和紫外线敏感^[34]。在本实验中, *cep-1(gk138)* 和 *cep-1(lg12501)* 品系同时表现出较高的 TBT 暴露敏感性, 也说明了 *cep-1* 基因在 TBT 暴露中的作用。

线虫携带 *ced-3* 编码 caspase 蛋白, 为细胞凋亡所必需, 并调控线虫先天免疫作用, *ced-3* 基因突变易被条件致病菌杀死。 *ced-3(n717)* 的 LC_{50} 较 N2 有所下降, 但不具统计学意义。然而其致死曲线上较 N2 陡峭 (图 1C)。由于 *opIs34* 和 *opIs56* 品系是在 *hus-1(op241)* 和 *egl-1(n487)* 的基础上, 转入 *hus-1::GFP* 和 *(p)egl-1::2xNLS::GFP* 质粒, 转入后的线虫得以恢复辐射诱导的细胞周期停滞和细胞凋亡, 补偿了基因缺失品系的相应功能, 本研究从个体水平上验证了这一点, *opIs34* 和 *opIs56* 品系对 TBT 的敏感性接近于 N2。综上所述, 对 TBT 最敏感的线虫品系为 *egl-1(n487)*, 而对 TBT 耐受力最强的是 *daf-2(e1370)*。

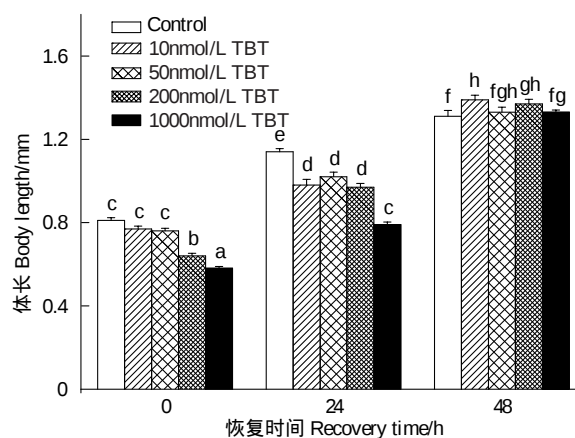


图 2 TBT 处理秀丽隐杆线虫 N2 48 h 后并恢复 0, 24, 48 h 时体长的比较

Fig. 2 Body lengths of N2 wild type of recovery time (0, 24, 48 h) post exposure for 48 h to 0, 10, 50, 200, 1000 nmol/L TBT
数值为平均值±标准误; 不同字母代表不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$)

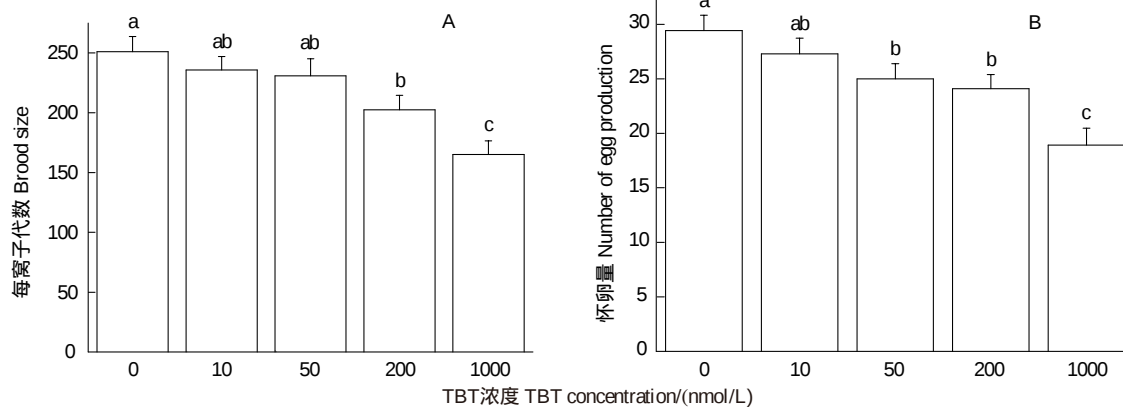


图 3 TBT 对秀丽隐杆线虫 N2 每窝子代数和怀卵量的影响

Fig. 3 Brood sizes post exposure to TBT for whole life and the number of egg in uterus post exposure to TBT for 24 h of N2 wild type with concentrations of 0, 10, 50, 200, 1000 nmol/L

数值为平均值±标准误; 不同字母代表不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$)

3.2 TBT 对秀丽隐杆线虫生长速度的影响

已有研究表明 TBT 对动物生长的损伤效应要比致死效应敏感的多, 如对沙蚕 (*Armandia brevis*) 生长影响的最低可检测浓度是 191 ng/g TBT (底泥干重), 生长半效应浓度 (half maximal effective concentration, EC_{50}) 为 LC_{50} 的 $1/4$ ^[35]。本研究发现 10 nmol/L 的 TBT 已对线虫的生长起到抑制作用, 随着 TBT 浓度的增加, 抑制作用愈加明显 (图 2)。基于对人体血液中 TBT 污染的研究^[10], 可利用线虫的体长指标作为生物学终点进行监测快捷而且廉价。TBT 污染解除后, 在正常的培养条件下, 线虫的生长速度可以得到弥补。

3.3 TBT 对秀丽隐杆线虫生殖的影响

TBT 不仅可以诱导软体动物和鱼类的雄性化,还可以抑制雄性哺乳动物的性发育。Omura 等^[36]报导了日摄入 10 mg/kg 的 TBT 可以明显影响大鼠的睾丸组织学特征和精子数量。Chen 等^[37]证实了低剂量的 TBT ($< 50 \mu\text{g/kg}$ TBT)对小鼠的精子发生有负面效应。本研究表明 TBT 也对线虫的生殖功能有抑制作用,50, 200, 1000 nmol/L TBT 处理 24 h 可以显著抑制线虫的怀卵量($P<0.05$),同样 200, 1000 nmol/L TBT 也显著降低了线虫的每窝子代数($P<0.05$)(图 3),但线虫怀卵量受抑制是否与每窝子代数的降低有直接关系尚需进一步研究。

4 结论

egl-1, *ced-4*, *cep-1*, *ced-9*, *clk-2* 和 *ced-3* 基因可能起到保护线虫免受 TBT 损伤的作用, *daf-16*, *hus-1* 和 *daf-2* 基因可能与 TBT 的致毒过程相关。秀丽隐杆线虫突变品系 *egl-1* (*n487*)的 LC_{50} , 线虫的体长、每窝子代数和怀卵量可作为监测环境中 TBT 污染的敏感生物学终点。

致谢:合肥工业大学生物与食品工程学院魏兆军教授和陆剑锋副研究员对写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] van Wezel A P, van Vlaardingen P. Environmental risk limits for antifouling substances. *Aquatic Toxicology*, 2004, 66(4): 427-444.
- [2] Berto D, Giani M, Boscolo R, Covelli S, Giovanardi O, Massironi M, Grassia L. Organotins (TBT and DBT) in water, sediments, and gastropods of the southern Venice lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 55(10/12): 425-435.
- [3] Viglino L, Pelletier E, St-Louis R. Highly persistent butyltins in northern marine sediments: a long-term threat for the Saguenay Fjord (Canada). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23(11): 2673-2681.
- [4] Fu J M, Mai B X, Sheng G Y, Zhang G, Wang X M, Peng P A, Xiao X M, Ran R, Cheng F Z, Peng X Z, Wang Z S, Tang U W. Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview. *Chemosphere*, 2003, 52(9): 1411-1422.
- [5] Midorikawa S, Arai T, Harino H, Ohji M, Cu N D, Miyazaki N. Concentrations of organotin compounds in sediment and clams collected from coastal areas in Vietnam. *Environmental Pollution*, 2004, 131(3): 401-408.
- [6] Blaber S J M. The occurrence of a penis-like outgrowth behind the right tentacle in spent females of *Nucella lapillus* (L.). *Journal of Molluscan Studies*, 1970, 39(2/3): 231-233.
- [7] Gibbs P E, Bryan G W. Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1986, 66(4): 767-777.
- [8] Shimasaki Y, Kitano T, Oshima Y, Inoue S, Imada N, Honjo T. Tributyltin causes masculinization in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22(1): 141-144.
- [9] McAllister B G, Kime D E. Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 2003, 65(3): 309-316.
- [10] Whalen M M, Loganathan B G, Kannan K. Immunotoxicity of environmentally relevant concentrations of butyltins on human natural killer cells *in vitro*. *Environmental Research*, 1999, 81(2): 108-116.
- [11] Hoch M. Organotin compounds in the environment — an overview. *Applied Geochemistry*, 2001, 16(7/8): 719-743.
- [12] Appel K E. Organotin compounds: Toxicokinetic aspects. *Drug Metabolism Reviews*, 2004, 36(3/4): 763-786.
- [13] Menzel R, Stürzenbaum S, Bärenwaldt A, Kulas J, Steinberg C E W. Humic material induces behavioral and global transcriptional responses in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(21): 8324-8332.
- [14] Reichert K, Menzel R. Expression profiling of five different xenobiotics using a *Caenorhabditis elegans* whole genome microarray. *Chemosphere*, 2005, 61(2): 229-237.
- [15] Leung M C K, Williams P L, Benedetto A, Au C, Helmcke K J, Aschner M, Meyer J N. *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicological Science*, 2008, 106(1): 5-28.
- [16] Wang S C, Tang M L, Pei B, Xiao X, Wang J, Hang H Y, Wu L J. Cadmium-induced germline apoptosis in *Caenorhabditis elegans*: the roles of HUS1, p53, and MAPK signaling pathways. *Toxicological Sciences*, 2008, 102(2): 345-351.
- [17] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1974, 77(1): 71-94.
- [18] Hasegawa K, Miwa S, Tsutsumiuchi K, Taniguchi H, Miwa J. Extremely low dose of acrylamide decreases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology Letters*, 2004, 152(2): 183-189.

- [19] Helmcke K J, Syversen T, Miller III D M, Aschner M. Characterization of the effects of methylmercury on *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, 240(2): 265-272.
- [20] Miller D L, Roth M B. *C. elegans* are protected from lethal hypoxia by an embryonic diapause. *Current Biology*, 2009, 19(14): 1233-1237.
- [21] Antizar-Ladislao B. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. *Environment International*, 2008, 34(2): 292-308.
- [22] Baumeister R, Ge L M. The worm in us — *Caenorhabditis elegans* as a model of human disease. *Trends in Biotechnology*, 2002, 20(4): 147-148.
- [23] Mizuno T, Hisamoto N, Terada T, Kondo T, Adachi M, Nishida E, Kim D H, Ausubel F M, Matsumoto K. The *Caenorhabditis elegans* MAPK phosphatase VHP-1 mediates a novel JNK-like signaling pathway in stress response. *The EMBO Journal*, 2004, 23(11): 2226-2234.
- [24] Chu K W, Chan S K W, Chow K L. Improvement of heavy metal stress and toxicity assays by coupling a transgenic reporter in a mutant nematode strain. *Aquatic Toxicology*, 2005, 74(4): 320-332.
- [25] Ogg S, Paradis S, Gottlieb S, Patterson G I, Lee L, Tissenbaum H A, Ruvkun G. The fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in *C. elegans*. *Nature*, 1997, 389(6654): 994-999.
- [26] Lukas J, Lukas C, Bartek J. Mammalian cell cycle checkpoints: signaling pathways and their organization in space and time. *DNA Repair*, 2004, 3(8/9): 997-1007.
- [27] Hirao A, Kong Y Y, Matsuoka S, Wakeman A, Ruland J, Yoshida H, Lui D, Elledge S J, Mak T W. DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase *Chk2*. *Science*, 2000, 287(5459): 1824-1827.
- [28] Derry W B, Putzke A P, Rothman J H. *Caenorhabditis elegans* p53: role in apoptosis, meiosis, and stress resistance. *Science*, 2001, 294(5542): 591-595.
- [29] Aballay A, Ausubel F M. Programmed cell death mediated by *ced-3* and *ced-4* protects *Caenorhabditis elegans* from *Salmonella typhimurium*-mediated killing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(5): 2735-2739.
- [30] Roh J Y, Park Y J, Choi J. A cadmium toxicity assay using stress responsive *Caenorhabditis elegans* mutant strains. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2009, 28(3): 409-413.
- [31] Gami M S, Wolkow C A. Studies of *Caenorhabditis elegans* DAF-2/insulin signaling reveal targets for pharmacological manipulation of lifespan. *Aging Cell*, 5(1): 31-37.
- [32] Bénard C, McCright B, Zhang Y, Felkai S, Lakowski B, Hekimi S. The *C. elegans* maternal-effect gene *clk-2* is essential for embryonic development, encodes a protein homologous to yeast Tel2p and affects telomere length. *Development*, 2001, 128(20): 4045-4055.
- [33] Conradt B, Horvitz H R. The *C. elegans* protein EGL-1 is required for programmed cell death and interacts with the Bcl-2-like protein CED-9. *Cell*, 1998, 93(4): 519-529.
- [34] Arum O, Johnson T E. Reduced expression of the *Caenorhabditis elegans* p53 ortholog *cep-1* results in increased longevity. *Journals of Gerontology Series A: Biological and Medical Sciences*, 200, 62(9): 951-959.
- [35] Meador J P, Rice C A. Impaired growth in the polychaete *Armandia brevis* exposed to tributyltin in sediment. *Marine Environmental Research*, 2001, 51(2): 113-129.
- [36] Omura M, Ogata R, Kubo K, Shimasaki Y, Aou S, Oshima Y, Tanaka A, Hirata M, Makita Y, Inoue N. Two-generation reproductive toxicity study of tributyltin chloride in male rats. *Toxicological Sciences*, 2001, 64(2): 224-232.
- [37] Chen Y F, Zuo Z H, Chen S Z, Yan F H, Chen Y X, Yang Z M, Wang C G. Reduction of spermatogenesis in mice after tributyltin administration. *Toxicology*, 2008, 251(1/3): 21-27.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 13 July, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Spatiotemporal variation of plant community aspections in the north-subtropical zone of eastern China	CHEN Xiaoqiu, QI Xiaoran, A Shan, et al (3559)
Seasonal variations and environmental control impacts of evapotranspiration in a hilly plantation in the mountain areas of North China	HUANG Hui, MENG Ping, ZHANG Jinsong, et al (3569)
Intra- and inter-specific variations in stem respiration for 14 temperate tree species in northeastern China	XU Fei, WANG Chuankuan, WANG Xingchang (3581)
Assessment of the ecological health of wetlands in Honghe supported by RS and GIS techniques	WANG Yihan, ZHOU Demin, SUN Yonghua (3590)
Phytoplankton community structure in Qinzhou Bay during flood season by analysis of HPLC photosynthetic pigment signatures	LAN Wenlu, WANG Xiaohui, LI Mingmin (3601)
Irreplaceability-based function zoning of nature reserves in the Three Rivers Headwater Region of Qinghai Province	QU Yi, WANG Xiulei, LUAN Xiaofeng, et al (3609)
Effects of snowmelt timing on individual growth and reproduction of <i>Pedicularis davidii</i> var. <i>pentodon</i> on the eastern Tibetan Plateau	CHEN Wennian, WU Yan, WU Ning, et al (3621)
Response of foliar $\delta^{13}\text{C}$ of <i>Quercus spinosa</i> to altitudinal gradients	FENG QiuHong, CHENG Ruimei, SHI Zuomin, et al (3629)
Soil water and nutrient characteristics of alfalfa grasslands at semi-arid and semi-arid prone to drought areas in southern Ningxia	REN Jingjing, LI Jun, WANG Xuechun, et al (3638)
Aboveground biomass of natural <i>Castanopsis fissa</i> community at the Xiaokeng of NanLing Mountain, Southern China	LI Gen, ZHOU Guangyi, WANG Xu, et al (3650)
Impacts of grazing on herbage quality of the alpine and subalpine meadows within Wutai Mountain	ZHANG Yiping, JIANG Yuan, LIU Quanru, et al (3659)
Short-term effects of warming on growth and stoichiometrical characteristics of <i>Abies fabii</i> (Mast.) Craib seedling in Gongga mountain	YANG Liudong, YANG Yan, WANG Genxu, et al (3668)
Manganese stress on morphological structures of leaf and ultrastructures of chloroplast of a manganese hyperaccumulator, <i>Phytolacca americana</i>	LIANG Wenbin, XUE Shengguo, SHEN Jihong, et al (3677)
Allelopathic potential of volatile oil from <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. on root tip cells of <i>Vicia faba</i>	HU WanJun, MA Danwei, WANG Yanan, et al (3684)
Contents and cycling of microelements in Karst urban poplar plantations	WANG Xinkai, TIAN Dalun, YAN Wende, et al (3691)
Fungal flora and population structure of polypores in the Great Xingan Mountains	CUI Baokai, YU Changjun (3700)
Growth competition characteristics of <i>Microcystis aeruginosa</i> Kutz and <i>Scenedesmus obliquus</i> (Turp.) Kutz under non-steady-state nutrient limitation	ZHAO Xiaodong, PAN Jiang, LI Jinye, et al (3710)
The characters of salt-tolerance at different growth stages in cotton	WANG Junjuan, WANG Delong, FAN Weili, et al (3720)
Assessment of tributyltin ecotoxicity using a model animal nematode <i>Caenorhabditis elegans</i>	WANG Yun, YANG Yanan, JIAN Fenglei, et al (3728)
Effect of oil exploitation on soil nematode communities in Daqing Oilfield	XIAO Nengwen, XIE Deyan, WANG Xuexia, et al (3736)
Effect of habitat degradation on soil meso- and microfaunal communities in the Zoigê Alpine Meadow, Qinghai-Tibetan Plateau	WU Pengfei, YANG Daxing (3745)
Characteristics of the soil environment of Dongting Lake wetlands and its response to the converting farmland to lake project	LIU Na, WANG Kelin, XIE Yonghong, et al (3758)
Modeling the changes of yield and deep soil water in apple orchards in Weibei rainfed highland	ZHANG Shehong, LI Jun, WANG Xuechun, et al (3767)
Potential soil N_2O emissions and its controlling factors under different land use patterns on hilly-gully loess plateau	QI Jinhua, HUANG Yimei, ZHANG Hong, et al (3778)
Comparison between physiological properties and cold tolerance under low temperature treatment during different growing stages of rice in northeast central region of China	SONG Guangshu, SUN Zhongfu, SUN Lei, et al (3788)
Effect of sulfur on chlorophyll fluorescence of flue-cured tobacco at maturation stage	ZHU Yinghua, TU Naimei, XIAO Hanqian, et al (3796)
Effects of high temperature and strong light on chlorophyll fluorescence, the D1 protein, and Deg1 protease in Satsuma mandarin, and the protective role of salicylic acid	QIU Cuihua, JI Weiwei, GUO Yanping (3802)
Effect of plastic film mulching on the distribution and translocation of nitrogen in soil-lettuce system	LI Lili, LI Feili, LIU Qiuya, et al (3811)
An analysis on spatio-temporal dynamics of suitable habitats for waterbirds based on spatial zonation at Chongming Dongtan, Shanghai	FAN Xuezhong, ZHANG Liquan, YUAN Lin, et al (3820)
The bryophyte consumed by reindeers and species diversity of bryophyte in reindeer habitats	FENG Chao, BAI Xueliang (3830)
Evaluation of rainwater runoff storage by urban green spaces in Beijing	ZHANG Biao, XIE Gaodi, XUE Kang, et al (3839)
Review and Monograph	
Advances in methane-cycling microbial communities of permafrost and their response to global change	NI Yongqing, SHI Xuwei, ZHENG Xiaoji, et al (3846)
Heat transfer property of mammal pelage and its influencing factors	ZHENG Lei, ZHANG Wei, HUA Yan (3856)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 31 卷 第 13 期 (2011 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 31 No. 13 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元