

藻类水体 Cd^{2+} 毒性快速监测新方法研究

段静波,刘文清,张玉钧*,赵南京,殷高方,肖雪,余晓娅,方丽

(中国科学院安徽光学精密机械研究所环境光学与技术重点实验室,合肥 230031)

摘要: 采用藻类生长抑制试验和光合活性抑制试验两种方法对蛋白核小球藻受不同浓度 Cd^{2+} 胁迫作用下叶绿素浓度及藻活性荧光参数进行测量,依据 Sigmoidal 曲线拟合及单因素方差分析(one-way ANOVA)的方法对 Cd^{2+} 不同胁迫时间下藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率的相关性进行研究. 结果表明,48、53、72、77 和 96 h 的藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率间具有较好的 S 函数关系($R^2 > 0.95$),因此可采用藻活性抑制率 48 h- EC_{10} 和 53 h- EC_{10} 来代替 96 h 的藻类半数比生长率抑制率 EC_{50} 进行 Cd^{2+} 藻类毒性实验评价. 进一步分析了蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 48 h 和 53 h 藻活性抑制率和 Cd^{2+} 毒性当量的剂量-效应关系. 该方法为实验室内单一 Cd^{2+} 毒性的监测提供了一种快速有效的新方法,为水环境综合毒性预警提供了一种切实可行的方法依据.

关键词: 蛋白核小球藻; 藻类生长抑制试验; 光合活性抑制试验; 叶绿素荧光技术; Cd^{2+} 毒性监测

中图分类号: X830.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)04-1555-06 DOI: 10.13227/j.hjxx.2014.04.051

Study on a New Method of Fast Monitoring Toxicity of Cd^{2+} by Algal in Water

DUAN Jing-bo, LIU Wen-qing, ZHANG Yu-jun, ZHAO Nan-jing, YIN Gao-fang, XIAO Xue, YU Xiao-ya, FANG Li

(Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China)

Abstract: Chlorophyll concentration and photosynthesis activity fluorescence parameters of *Chlorella pyrenoidosa* stressed by different concentrations of Cd^{2+} were measured based on algal growth inhibition tests and photosynthetic activity inhibition tests. The relationship between the algal photosynthetic activity inhibition rate and 96 h inhibition rate of specific growth rate at different Cd^{2+} stress times was studied by sigmoidal curve fitting and one-way ANOVA analysis. The result shows that S function relevance exists between the algal photosynthetic activity inhibition rates for 48 h, 53 h, 72 h, 77 h and 96 h respectively and 96 h inhibition rate of specific growth rate ($R^2 > 0.95$). Consequently, EC_{10} (10% effective concentration) after 48 h and 53 h inhibition in photosynthetic activity inhibition tests could be used to represent EC_{50} (50% effective concentration) in 96 h algal growth inhibition tests for evaluating the Cd^{2+} toxicity. Dose-response relationships between the algal photosynthetic activity inhibition rates after 48 h and 53 h inhibition and Cd^{2+} toxic equivalency quantity were further analyzed. The method provided a rapid and viable new thought to monitoring single Cd^{2+} toxicity in lab and early warn integrated toxicity of pollution in water.

Key words: *Chlorella pyrenoidosa*; algal growth inhibition test; photosynthetic activity inhibition test; chlorophyll fluorescence measurements; Cd^{2+} toxicity monitoring

藻类在水生生态系统中具有重要地位,相比于浮游动物、鱼类以及发光细菌等生物而言较为低等^[1-5],对有毒物质的胁迫反应更为直接,反应机制较为简单,且自身具有易培养、繁殖快、对环境毒物敏感并可直接观察细胞水平上的中毒症状等优点,被多个国家和国际组织作为检测重金属等环境污染毒性的必需指标生物^[6],利用藻类进行有毒污染物监测克服了传统理化分析方法耗时长、无法在线原位测量、不具有环境友好性等缺点,被认为是一种切实可行的水体污染物监测方法^[7-9]. 将藻类生物毒性分析方法与传统的理化分析方法相结合,形成水体环境立体监测网络,对保障我国水环境安全具有重要意义. 1981年,国际经合组织制定了藻类生长抑制试验的国际标准方法^[10]. 我国也于

2008年发布了《化学品-藻类生长抑制试验》标准方法(GB-T 21805-2008)以确立藻类生物毒性检测方法在水体污染物检测中的重要地位^[11]. 这一试验方法是以 24、48、72、96 h 有毒物质对藻类生长的半数抑制率(EC_{50})为毒性测试指标,以 96 h- EC_{50} 为毒性评价依据来表征有毒物质的急性毒性作用程度. 该方法简单,得到的结果准确可靠,但试验周期较

收稿日期: 2013-08-28; 修订日期: 2013-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(61378041); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2009AA063005, 2013AA065502); 安徽省杰出青年科学基金项目(1108085J19); 安徽光学精密机械研究所所长基金项目(Y03AG31144); 中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目(yg2012071)

作者简介: 段静波(1986~),女,博士研究生,主要研究方向为生态毒理学, E-mail: jbduan@aiofm.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: yjzhang@aiofm.ac.cn

长,需要重复验证,操作繁琐^[12~14],无法满足水质安全预警和污染物应急监测的需求.为了快速监测环境中各污染物对水生生态系统的胁迫和危害,有学者尝试利用叶绿素荧光技术对环境污染进行检测^[13~15].藻类光合活性抑制试验是以叶绿素荧光技术理论为基础,利用体内叶绿素作为天然探针,研究和探测各种外界因子对其光合活性状况抑制效应的新型毒物测定方法^[16].藻类在受到环境毒物胁迫时,其光合作用电子传递过程被阻断,光化学反应等光合作用的原初反应过程受抑制,光合活性明显下降,导致藻荧光产量增加,光合作用活性的下降与环境毒物的毒性直接相关,可用于环境毒物毒性的检验与评价^[17].该方法具有快速、灵敏的优点,已被广泛应用于植物光合生理研究中,但该方法受环境因子影响明显^[18,19],目前,各国尚未发布叶绿素荧光方法的相关标准,无法规范试验程序、统一环境条件、保证实验质量.采用国标规定的藻类生长抑制试验方法对光合活性抑制试验结果进行标定,是保障叶绿素荧光方法用于水体污染物毒性检测所得结果准确可靠的前提,选取快速有效的藻类光合活性抑制时间代替 96 h 藻类生长抑制时间,是实现对环境进行安全预警和应急监测的基础.

本实验选取近年来水体中污染事件频发的重金属 Cd^{2+} 为监测对象,以蛋白核小球藻为受试生物,采用藻类生长抑制试验和光合活性抑制试验两种方法,对受 Cd^{2+} 胁迫不同时间的藻类生物量和光合荧光参数进行测定,研究 96 h 藻类生长抑制试验结果与不同毒物胁迫时间下的光合荧光参数的相关性,提高藻类生长抑制试验对毒物检测的时效性,以期在水体毒物毒性监测提供快速可靠的新方法.

1 材料与方法

1.1 材料

实验选取蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*, FACHB-1222) 为受试生物,购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库.选取 $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 为检测对象,购自阿拉丁试剂.

1.2 藻种培养方法及参数测定

在 1 000 mL 的锥形瓶中进行预培养,采用 BG-11 培养基,培养温度: $(20 \pm 2) ^\circ C$,连续光照,光照度: $100 \mu mol \cdot (m^2 \cdot s)^{-1}$,光暗比: 14 h/10 h, pH: 7, 并进行预试验,以确定合适的重金属浓度范围.

实验在 250 mL 的锥形瓶中进行,根据预试验的

结果,将 $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 质量浓度梯度设定为 1、2、4、8、16 $mg \cdot L^{-1}$.将以上各浓度重金属溶液以体积比 1:1 分别加入处于对数生长期的蛋白核小球藻中(与藻液混合后 $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 质量浓度为 0.5、1、2、4、8 $mg \cdot L^{-1}$),使藻细胞浓度约为 1×10^5 个 $\cdot mL^{-1}$.每天摇动锥形瓶一次,通过改变培养瓶在光照培养箱中的位置,尽量保持光强一致.以不加重金属的空白组为对照,为每种重金属和对照设定 3 个平行样.

本实验以藻类叶绿素含量代替藻类生物量.采用浮游植物荧光测量仪 (FluoroProbe, 德国 BBE 公司) 和调制式荧光仪 Water-PAM (德国 WALZ 公司) 于不同时间对受不同浓度 Cd^{2+} 胁迫蛋白核小球藻的叶绿素含量及 PS II 系统各荧光参数进行测定.测定时间分别为藻类受 Cd^{2+} 胁迫 2、4、6、8、10、24、29、48、53、72、77、96 h.测定的光合荧光参数有:本底荧光 F_0 、最大荧光值 F_m 、潜在最大量子效率 F_v/F_m 、实际量子效率 Yield.

1.3 藻类比生长率和基于比生长率的抑制率的计算

藻类比生长率和基于比生长率的抑制率的计算参见文献 [11].

(1) 比生长率,试验期间,不同时间生物量的增长见公式 (1):

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} \quad (1)$$

式中 μ_{i-j} 为从 i 时间到 j 时间的比生长率; X_i 为 i 时间的生物量; X_j 为 j 时间的生物量.

(2) 以比生长率为基础的抑制率,见式 (2):

$$I_r = \frac{\mu_c - \mu_T}{\mu_c} \times 100\% \quad (2)$$

式中 I_r 为以比生长率为基础的抑制率; μ_c 为对照组各平行比生长率的平均值; μ_T 为处理中各平行的比生长率.

1.4 藻活性及藻活性抑制率的计算

(1) 藻活性 Genty 的计算^[20]:

$$Genty = \frac{F_m - F_0}{F_m} \times 100\%$$

式中, Genty: 以百分数的形式表示藻活性,其数值取决于藻的种类和生理状态,最高可达到 75%,至少应高于 60%; F_0 : 没有背景光时荧光反应; F_m : 有强背景光时荧光反应.

(2) 藻活性抑制率 I_g 的计算^[20]:

$$I_g = \left[1 - \frac{Genty(\text{sample})}{Genty(\text{reference})} \right] \times 100\%$$

式中 I_g : 藻活性抑制率; $[Genty(\text{sample})]$: 藻液样品活性值; $[Genty(\text{reference})]$: 空白参比活性值。

1.5 数据处理

用 Origin 7.5 软件对实验结果进行作图及统计分析, 用 Sigmoidal 函数对藻活性抑制率和比生长抑制率间的关系进行拟合, 并用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行方差分析。实验中用于结果分析的数据均为平行样的平均值。

2 结果与讨论

2.1 蛋白核小球藻不同浓度 Cd²⁺ 胁迫作用下叶绿素浓度及藻活性随时间的变化关系

图 1、图 2 为蛋白核小球藻受不同浓度 Cd²⁺ 胁迫作用下叶绿素浓度及藻活性荧光值随时间的变化关系。从中可以看出, 在 Cd²⁺ 质量浓度为 2、4、8 mg·L⁻¹ 的胁迫作用下, 二者随 Cd²⁺ 浓度的增加及胁迫时间的延长而降低, 表明该浓度的 Cd²⁺ 已破坏藻类的光合作用的原初反应, 阻碍光合电子传递, 对藻类的生长产生抑制作用; 在 Cd²⁺ 质量浓度为 1、2 mg·L⁻¹ 时, 蛋白核小球藻的叶绿素浓度随时间的延长而增加, 荧光活性也保持在较高的水平, 77 h 时藻类 Cd²⁺ 处理组的光合活性仍大于对照组, 使得 96 h 叶绿素浓度高于对照组。藻活性可优先于叶绿素浓度的增长来表现藻类生物量的变化趋势。这与吴振斌等^[21] 研究得到的低浓度 Cd²⁺ 可促进藻类生长的结论相一致。通过分析可知, 在不同浓度 Cd²⁺ 胁迫作用下随胁迫时间的延长, 叶绿素浓度和藻活性表现出较为一致的变化规律, 两参数之间具有一定的相关性。这是因为, 活体状态下叶绿素荧光几乎全部来源于 PSII 反应中心的叶绿素 a, 叶绿素荧光反映了光合系统 PSII 反应中心的能量转换效率, 即藻类光合活性^[22], 所以藻类荧光活性与叶绿素浓度之间存在必然的相关关系。下面将进一步对二者的相关关系进行研究。

2.2 Cd²⁺ 不同胁迫时间下藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率的相关性分析

《化学品 藻类生长抑制试验》(GB 21805-2008) 中说明已经证明一些简单的数学函数可以在藻类生长抑制试验中成功地描述浓度与响应值之间的关系, 所有的方程曲线均为渐进的 S 形曲线^[11]; 吴丰昌等^[23] 对于 Cd 敏感度分布法进行数据拟合的几种模型进行比较时发现: 用 Sigmoidal 模型拟合物种的毒性数据的决定系数最大, 认为可将这种方法作为基准推导的标准参考方法。因此, 选用

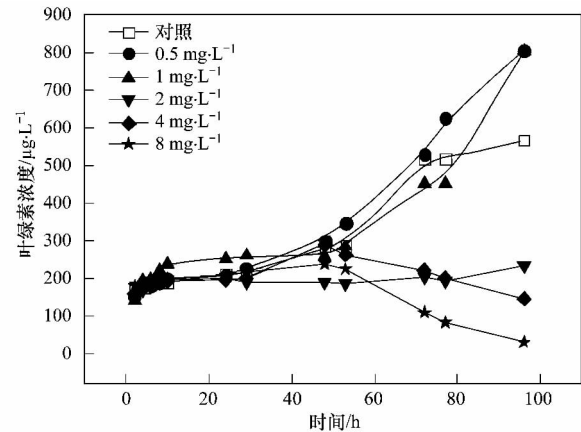


图 1 蛋白核小球藻受不同浓度 Cd²⁺ 胁迫作用下叶绿素浓度随时间变化关系

Fig. 1 Changes in *Chlorella pyrenoidosa* chlorophyll concentration stressed by different concentrations of Cd²⁺ with time

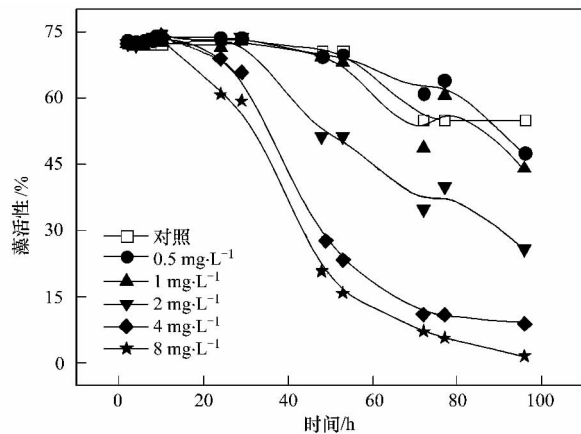


图 2 蛋白核小球藻受不同浓度 Cd²⁺ 胁迫作用下藻活性随时间变化关系图

Fig. 2 Changes in *Chlorella pyrenoidosa* photosynthesis activity fluorescence parameters with time stressed by different concentrations of Cd²⁺

Sigmoidal 函数作为回归分析的手段。通过对 Cd²⁺ 不同胁迫时间下藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率进行 Sigmoidal 拟合及 ANOVA 方差分析, 即以国标规定的 96 h 比生长率抑制率为标准对 Cd²⁺ 胁迫不同时间的藻活性抑制率进行标定, 分析结果如表 1 所示, 两抑制率在 24、48、53、72、77 和 96 h Cd²⁺ 胁迫作用下具有较高的拟合优度系数 ($R^2 > 0.95$), 表现出较好的相关性, 且显著性检验的结果 F 值显示为非显著性不同 (其余胁迫时间因为 $R^2 \ll 0.95$, 说明两变量间不存在明显 S 函数关系, 故不给出拟合关系式), 其中, 以 48 h 和 53 h Cd²⁺ 胁迫作用下的藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率相关性最佳。

表 1 Cd^{2+} 不同胁迫时间下藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率的 S 曲线拟合及 ANOVA 方差分析¹⁾Table 1 Sigmoidal curve fitting and one-way ANOVA for algal photosynthetic activity inhibition rates at different Cd^{2+} stress times and 96 h inhibition rates of specific growth rate

抑制时间 t/h	拟合曲线(Sigmoidal 拟合)	Chi ² /DoF	R ²	F 值	P 值	显著性差异
2	—	0.967	1.105E-4	—	—	—
4	—	1.358	3.33E-16	—	—	—
6	—	2.757	0.015	—	—	—
8	—	6.396	0.694	—	—	—
10	—	3.176	0.097	—	—	—
24	$y = \frac{-16.44}{1 + e^{(x-128.6)/17.86}} + 17.04$	2.530	0.977	3.548	0.089	非
29	—	83.039	1.348E-9	—	—	—
48	$y = \frac{-69.41}{1 + e^{(x-84.43)/16.57}} + 70.46$	1.62	0.9994	2.993	0.114	非
53	$y = \frac{-75.89}{1 + e^{(x-86.51)/16.05}} + 77.41$	4.567	0.9985	2.886	0.120	非
72	$y = \frac{-86.86}{1 + e^{(x-80.49)/14.77}} + 86.88$	125.154	0.9708	2.616	0.137	非
77	$y = \frac{-91.74}{1 + e^{(x-86.29)/13.93}} + 89.68$	177.563	0.9625	2.520	0.144	非
96	$y = \frac{-84.39}{1 + e^{(x-77.32)/18.25}} + 95.27$	121.426	0.9692	2.688	0.143	非

1) 藻类比生长率抑制率为 x , 藻活性抑制率为 y ; Chi²/DoF 为平均剩余残差平方和 R^2 为拟合优度系数, F 值为单因子方差分析统计指标, P 值为置信度

图 3 是 Cd^{2+} 胁迫 24、48、53、72 和 96 h 藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率间的关系, 从中可知: 96 h 比生长率抑制率与 Cd^{2+} 胁迫 48、53、72 和 96 h 藻活性抑制率间具有较为一致 S 函数变化趋势, 同 Cd^{2+} 胁迫 24 h 藻活性抑制率的变化趋势不同, 可能是因为 24 h 时 Cd^{2+} 对藻的毒害作用尚不明显. 因此, 可考虑采用 48、53、72、77 和 96 h 的藻活性抑制率来代替 96 h 比生长率抑制率来进行藻类毒性实验评价. 通过拟合的 S 函数曲线可以计算得到与 96 h 藻类比生长率抑制率为 50% 时相对应的 48、53、72、77 和 96 h 的藻活性抑制率, 以此作为评价标准对受试毒物的毒性进行评价(藻类生长抑制毒性分级标准是依据 96 h- EC_{50} 对毒物毒性进行评价的)^[24]. 即求出横坐标 I_r 为 50% (96 h- EC_{50}) 时所对应 Cd^{2+} 胁迫 48、53、72 和 96 h 藻活性抑制率曲线的纵坐标值. 经过内插值计算可知: 96 h 比生长率抑制率为 50% 所对应的 48、53、72 和 96 h 藻活性抑制率分别为: 9%、9%、10%、27%. 综合实验时间和曲线拟合误差考虑, 以 48 h 和 53 h 藻活性抑制率为 10% (即 48 h- EC_{10} 和 53 h- EC_{10}) 所对应的毒物浓度为分析参考依据, 对水体毒物毒性进行评价所得结果应与藻类生长抑制 96 h- EC_{50} 的评价结果具有较好的一致性. 以藻类光合活性荧光值为测试指标对受试毒物的毒性进行评价可以优化测试

时间和测试方法, 为利用该方法对水环境生物毒性进行快速安全预警和应急监测提供依据.

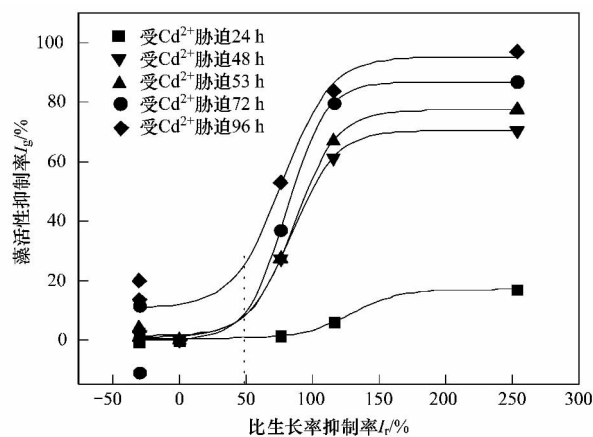


图 3 蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 24、48、53、72、96 h 藻活性抑制率和 96 h 比生长率抑制率关系

Fig. 3 Relationships between algal photosynthetic activity inhibition rates stressed by Cd^{2+} for 24 h, 48 h, 53 h, 72 h and 96 h respectively and 96 h inhibition rate of specific growth rate

2.3 藻活性抑制率和毒物毒性当量的剂量-效应曲线分析

图 4 为蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 48 h 和 53 h 藻活性抑制率和毒物毒性当量的剂量-效应关系 [1 TU 等于 Cd^{2+} 胁迫蛋白核小球藻 96 h 的平均半数效应浓度 (96 h- EC_{50})] 随着 Cd^{2+} 浓度增加, 藻活性

抑制率呈上升趋势,说明随 Cd^{2+} 的增加 PSII 反应中心受到损害加剧,抑制了光合作用的原初反应,阻碍了光合电子传递^[25,26]。可以通过对蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 48 h 和 53 h 的藻光合活性荧光值进行测定,对藻活性抑制率进行计算,再根据剂量-效应曲线,得到毒物所对应的毒性当量。该方法为实验室进行单一 Cd^{2+} 的毒性监测提供了一种新思路,可用于对受试毒物的毒性进行评价,为进一步研究水体的综合毒性以及对水质进行快速安全预警和应急监测提供理论依据。

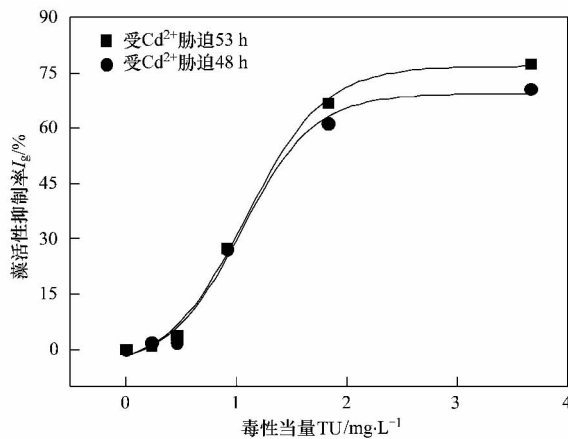


图 4 蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 48 h 和 53 h 藻活性抑制率和毒物毒性当量的剂量-效应关系

Fig. 4 Dose-response relationship between algal photosynthetic activity inhibition rates stressed by Cd^{2+} for 48 h and 53 h and toxicant toxic equivalency quantity

3 结论

(1) 蛋白核小球藻受不同浓度 Cd^{2+} 胁迫作用下,叶绿素浓度及藻活性荧光值随时间具有较为一致的变化规律。

(2) 可采用 48、53、72、77 和 96 h 藻活性抑制率代替 96 h 比生长率抑制率进行藻类毒性实验评价。综合实验时间和曲线拟合误差考虑,以 48 和 53 h 藻活性抑制率为 10% (即 48 h- EC_{10} 和 53 h- EC_{10}) 所对应的毒物浓度为毒性评价依据较为合理。

(3) 通过对蛋白核小球藻受 Cd^{2+} 胁迫 48 h 和 53 h 藻活性抑制率和毒物当量的剂量-效应关系进行研究,得到毒物所对应的毒性当量,该方法为实验室进行单一 Cd^{2+} 的毒性监测提供了一种新思路。

参考文献:

[1] Slabbert J L, Venter E A. Biological assays for aquatic toxicity testing[J]. Water Science and Technology, 1999, 39(10): 367-373.

[2] Murasaki H. Recent organic pollution and its biosensing methods [J]. Analytical Methods, 2010, 2(3): 430-444.

[3] Hill A J, Teraoka H, Heideman W, et al. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity [J]. Toxicological Sciences, 2005, 86(1): 6-19.

[4] Zhou Q F, Zhang J B, Fu J J, et al. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 606(2): 135-150.

[5] Elad T, Almog R, Yagur-Kroll S, et al. Online monitoring of water toxicity by use of bioluminescent reporter bacterial biochips [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(19): 8536-8544.

[6] 高小辉, 杨峰峰, 何圣兵, 等. 水质的生物毒性检测方法 [J]. 净水技术, 2012, 31(4): 49-54.

[7] Chalifour A, Spear P A, Boily M H, et al. Assessment of toxic effects of pesticide extracts on different green algal species by using chlorophyll a fluorescence [J]. Toxicological and Environmental Chemistry, 2009, 91(7): 1315-1329.

[8] Ahmed H, Hader D P. A fast algal bioassay for assessment of copper toxicity in water using Euglena gracilis [J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(6): 785-792.

[9] Ahmad A, Moore E J. Comparison of cell-based biosensors with traditional analytical techniques for cytotoxicity monitoring and screening of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment [J]. Analytical Letters, 2009, 42(1): 1-28.

[10] OECD, 1981. Guideline for the testing of chemicals. No. 201. Algal growth inhibition test [S].

[11] GB/T 21805-2008. 化学品 藻类生长抑制试验 [S].

[12] 谢艳, 李宗芸, 冯琳, 等. 藻类毒物检测方法及其应用研究进展 [J]. 环境科学与技术, 2008, 31(12): 77-83.

[13] Lefevre F, Chalifour A, Yu L P, et al. Algal fluorescence sensor integrated into a microfluidic chip for water pollutant detection [J]. Lab on a Chip, 2012, 2(4): 787-793.

[14] 梁英, 冯力霞, 尹翠玲, 等. 叶绿素荧光技术在微藻环境胁迫研究中的应用现状及前景 [J]. 海洋科学, 2007, 31(1): 71-76.

[15] 梁英, 王帅, 冯力霞. 重金属胁迫对三角褐指藻生长及叶绿素荧光特性的影响 [J]. 海洋环境科学, 2009, 28(4): 374-382.

[16] Macinnis-Ng C M O, Ralph P J. Towards a more ecologically relevant assessment of the impact of heavy metals on the photosynthesis of the seagrass, Zostera capricorni [J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 45(9): 1002-1006.

[17] 孙凯峰, 王娜, 刘莉莉, 等. 基于四尾栅藻响应的有机磷农药生态风险评估 [J]. 中国环境科学, 2013, 33(5): 868-873.

[18] Ve'drine C, Leclerc J C, Durrieu C, et al. Optical whole-cell biosensor using Chlorella vulgaris designed for monitoring herbicides [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2003, 18(4): 457-463.

[19] Durrieu C, Tran-Minh C. Optical algal biosensor using alkaline

- phosphatase for determination of heavy metals [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2002, **51**(3): 206-209.
- [20] 李明, 潘晓洁, 陈小娟, 等. 一种新型水体在线毒性监测系统——bbe Algal Toximeter 的构造、功能及调试效果 [J]. *三峡环境与生态*, 2011, **33**(6): 46-50.
- [21] 吴振斌, 马敏剑, 赵强, 等. Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合胁迫对伊乐藻的毒害作用 [J]. *中国环境科学*, 2005, **25**(3): 262-266.
- [22] 韩博平, 韩志国, 付翔. 藻类光合作用机理与模型 [M]. 北京: 科学出版社, 2003. 57-60.
- [23] 吴丰昌, 孟伟, 曹宇静, 等. 镉的淡水水生生物水质基准研究 [J]. *环境科学研究*, 2011, **24**(2): 172-184.
- [24] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 767-773.
- [25] 田程. 藻类荧光对重金属毒性响应规律的研究 [D]. 石家庄: 河北科技大学, 2010. 44-45.
- [26] Ouyang H L, Kong X Z, He W, *et al.* Effects of five heavy metals at sub-lethal concentrations on the growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, **57**(25): 3363-3370.

《环境科学》多项引证指标名列前茅

2013年9月27日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了2012年度中国科技论文统计结果.统计结果显示2012年度《环境科学》多项引证指标位居环境科学技术及资源科学技术类科技期刊前列.

《环境科学》综合评价总分77.8,排名第一,总被引频次6489,影响因子1.156.

综合评价总分是根据中国科技期刊综合评价指标体系,计算多项科学计量指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等),采用层次分析法确定重要指标的权重,分学科对每种期刊进行综合评定,计算出每个期刊的综合评价总分.这项指标屏蔽了各个学科之间总体指标背景值的差异,使科技期刊可以进行跨学科比较.根据发布的统计结果,2012年度《环境科学》综合评价总分77.8,在被统计的30种环境科学技术及资源科学技术类期刊中名列第一.