

DOI :10.3876/j.issn.1000-1980.2010.03.004

水体污染风险预警的生物标志物技术

计 勇^{1 2 3} 陆光华²

(1.河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室 江苏 南京 210098 ;
2.河海大学浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室 江苏 南京 210098 ;
3.南昌工程学院水利工程系 江西 南昌 330099)

摘要 :在提出生物标志物内涵的基础上 ,分析了污染物在水体及生物之间的迁移途径并构建了生物标志物应用系统架构图 ,重点阐述了生物标志物相关理论基础及生物标志物应用体系 ,概括性总结了生物监测技术在国内外水环境监测中的研究与应用现状 ,系统分析了水体污染风险预警技术的发展趋势 ,同时提出了生物标志物研究与应用中重点关注的几个问题 .

关键词 :生物监测 ;生物标志物 ;有机污染物 ;重金属 ;水体污染 ;风险预警

中图分类号 :X52 文献标志码 :A 文章编号 :1000-1980(2010)03-0258-05

自 20 世纪 70 年代 Simmon 发现饮用水中存在致突变性有机污染物以来 ,以多氯联苯(PCBs)、多环芳烃(PAHs)等具有“致突变、致畸和致癌”作用为代表的有机污染物正威胁人类的健康 .研究^[1]表明 ,太湖表层沉积物中 PAHs 和 PCBs 普遍检出 ,其中美国 EPA16 种优控 PAHs 的质量比范围为 63.1 ~ 885 ng/g ,检出 56 种 PCBs ,质量比范围为 1.35 ~ 13.8 ng/g .与此同时 ,重金属的广泛超标 ,也使得水体污染日趋复杂 .显然 ,水体主要污染物已从早期的生物类污染物发展到现在的有机、重金属复合污染 ,因此早期监控水体中的污染物质以及对痕量污染物质进行风险评价就显得极为重要 .然而 ,水体中的有机、重金属污染物通常含量低 ,带来的生物损伤停留在分子水平上 ,最终才在生态系统水平上反映出来 ,这使得常规化学分析和传统实验室的毒理学分析面临许多问题 .生物监测(biology monitor technology)及相应的指标生物标志物(biomarker)在评估外源性化学物质对机体影响及进行危险度评价时具有独特的优势 ,对评价水体污染和水体生态系统早期预警显得非常重要 .本文重点阐述生物监测技术中标志物体系的研究和应用现状 ,并对国内外现有监测方法与监测对象进行总结比较 ,指出将来应该着重发展的方面 .

1 生物标志物技术理论体系

1.1 生物标志物技术系统架构

在环境科学领域 ,生物标志物可以定义为生物体或体液样品或在个体水平上所能检测到的生化、细胞、生理或行为的变化^[2] .生物标志物技术当前的研究和应用主要集中在欧美地区 ,是一种综合考虑了外界污染源、污染迁移、生物吸收及生物反应的相互作用体系 ,如图 1 所示 .石油、化工、冶炼等工业点源以及农业、家禽、养殖等面源 ,在经过地表径流、蒸发、大气对流、降雨等过程最终汇入到水体中 ,这些污染物不易降解 ,在水体生态系统中广泛而长期分布 ,经过水体生物消化、吸收与富集后 ,给生物体带来一定的影响 ,而这些特定的影响可以反馈给研究人员特定的信息 ,使研究人员了解水体污染程度及生态风险程度 ,从而改变人们的社会行为 .

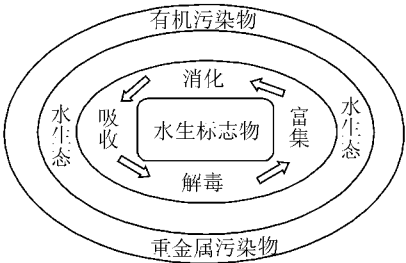


图 1 生物标志物系统组成及架构

Fig. 1 System composition and framework of biomarkers in water ecology

生物标志物由于不仅能提供污染物质的环境水平,更能够反映生物体的生化反应,目前引起研究者广泛关注,人们对污染物胁迫造成的分子与细胞生理影响机制研究逐步深入。

1.2 生物标志物技术理论基础

生物标志物技术是环境科学、环境化学、生物学与毒理学发展的成果,在目标上体现水环境预警和风险评估功能,在过程中充分运用环境工程技术科学选择研究对象,运用环境化学分析痕量污染物浓度,运用生物学与毒理学进行生理分析与毒性分析,对水体生态系统给予研究,评估生态系统的安全。当前,广泛开展的生物标志物技术研究主要以水生动物(底栖生物、鱼类)和水生植物为研究对象,标志物分析主要采用生物体 I 相和 II 相生理指标或生物体对化学品的富集程度指标,如图 2 所示。

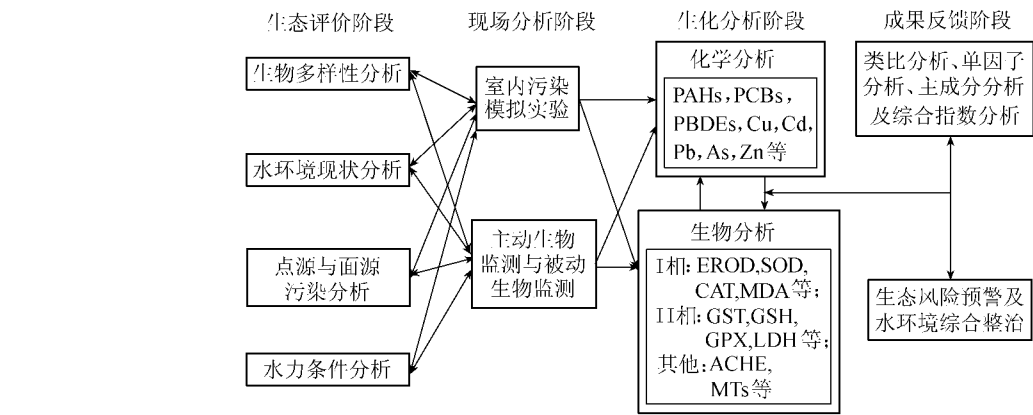


图 2 水体生物标志物技术基础理论对应关系

Fig. 2 Basic theory and corresponding relationship of biomarkers in water ecology

实验室可以模拟呋喃、杀虫剂、重金属等污染物质对生物的生理影响,但实验环境不能真实反应实际环境情况,而现场监测却可以较好利用经驯化后、同一基因物种生物来真实反应实际环境污染对生物体的影响。因此,评价实际水体污染状况需要结合现场生物监测来进行。

1.2.1 主动生物监测与被动生物监测

根据监测方式不同,现场生物监测可分为主动生物监测(ABM)和被动生物监测(PBM)。这两种方法都能真实反应实际环境污染对生物体的影响,有效避免实验室人为因素的干扰。被动生物监测是利用生态系统中土著生物体、生物群落或部分生物体对污染环境的响应,指示和评价环境质量的变化。主动生物监测则是在控制条件下将清洁环境中的生物体(放置于合适容器中)移居至污染监测点进行生态毒理学参数的测试。应用主动生物监测技术得到的结果优于被动生物监测,因为主动生物监测生物基因一致,来源统一,分析结果便于比较;另一方面可以有效避免土著物种的缺失,同时避免本土物种对环境的“适应”而造成生物标志物“钝化”。

1.2.2 生物标志物体系

1.2.2.1 抗氧化标志物

自然界中的氧一方面促进生物的进化,另一方面氧本身及其代谢产物对生物体又会产生毒性效应,在自然进化过程中形成了较为平衡与完整的防御系统。在有机、重金属外源化合物存在的情况下,通过生物体的代谢与解毒,会在生物体内产生大量的外源性自由基,对生物体产生损害。其中细胞色素 P450 连接的混合功能氧化酶(MFO)广泛应用于毒理学研究中,是评价环境污染状况最灵敏的生物学指标之一,能被一系列环境中的重要平面分子影响,如 PAHs、PCBs、DDT 及二恶英和呋喃等。谷胱甘肽家庭中谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,可以使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,同时促进 H₂O₂ 的分解,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害。研究发现,还原性谷胱甘肽(GSH)能有效清除生物体内自由基,在低浓度污染暴露下早期会受到诱导^[3]。但据 Florence 等^[4]研究报道,当贻贝暴露在混合重金属污染中时,GSH 活性受到严重抑制。由于谷胱甘肽酶系的协同作用,建议应考虑各种酶的协同作用,尤其是 GPX 以及谷胱甘肽还原酶(GR)。

过氧化氢酶(CAT)在国外研究较为广泛,尤其是采用底栖动物贝类报道较多。CAT 能有效地将体内 H₂O₂

转化为水和氧气.在无脊椎动物体内,CAT活性较高,在抗氧化机制中起非常重要的作用.但有研究^[5]发现,当贻贝暴露在高浓度金属环境中,6周后发现CAT活性没有显著变化,在其他的野外暴露实验和室内暴露实验中,也发现生物体CAT的生化适应性.超氧化物歧化酶(SOD)是生物消除体内超氧化物自由基的天然抗氧化剂,它能有效地将氧自由基歧化并生成水.除SOD及CAT外,机体防御体系的抗氧化能力(TAOC)的强弱既能反映酶促体系,如SOD、GPX、CAT等,同时又能反映非酶促体系,如维生素E、胡萝卜素、维生素C、葡萄糖等.研究^[6]证明,在海洋贝类中DNA的损伤程度与TAOC值高度相关.脂质过氧化(LPO)常以机体中丙二醛(MDA)浓度来表示,MDA是细胞氧化胁迫及损伤的标志,反映了生物膜脂质预氧化状态,当物种遭受长期外界压力时,MDA会显著增加,重金属会引起脂质过氧化.当前MDA在医学领域研究较多,在水环境监测应用中,Blaha等^[7]研究了鱼卵及鱼的幼体发育过程中MDA及抗氧化酶活性发生的变化.

1.2.2.2 特异性标志物

主动生物监测中常用的特异性标志物有金属硫因(MTs)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、DNA损伤标志物、卵黄蛋白原(Vtg)等.MTs在生物中广泛分布,其合成与诱导是金属污染的象征,尽管其作用机制还有些争论,但是MTs对生物体内重金属的调节作用是可以肯定的.MTs通过对重金属的吸附与释放,同时可以清除自由基来保护细胞免受氧化损伤,MTs已用来反映海洋Cd、Hg等重金属对海洋生物胁迫的预警^[8].AChE是一类参与神经突触传递的介质,会受到有机磷酸酯类化合物以及重金属的抑制,导致生物体中毒.对水生生物,AChE被证明是生理压力的有效标志物,许多海洋监测项目已经把双壳类生物AChE活性的抑制作为海洋有机磷杀虫剂的生物标志物^[9].DNA损伤标志物主要包括DNA加合物以及DNA断裂链,DNA任何微小的变化都有可能对生物体造成深远的影响.不过研究发现许多生物体具备DNA自我修复功能,DNA加合物作为PAHs污染标志物,在双壳类生物监测项目中得到广泛应用^[10].卵黄蛋白原是指示环境雌激素暴露、测试环境雌激素效应的最为敏感的分子生物标志物之一.Vtg的基因表达受雌激素受体的控制,对卵生鱼类来讲,任何具有生物有效性的ER激活剂都能够激起Vtg的表达,已有研究表明雄鱼体内大多数分子生物标志物的变化基本上与生物学特性无关,而主要与污染物的暴露有关^[11].

除了上述生物标志物外,研究人员有时也结合生物体对化学物质的富集程度或代谢产物含量来研究生物体在化学品暴露下的早期效应.生长因子及实验后期生理指标(生长、繁殖、代谢等)也是常用的生理学指标,可以综合评价生物体的营养状态和受胁迫程度.在污染严重的区域,受试生物的死亡率也作为评价污染程度的指标.

2 生物标志物技术研究现状

欧盟BEEP(biological effects of environmental pollution in marine coastal ecosystems)项目及美国地质调查局(United States Geological Survey,USGS)主持下的BEST(biomonitoring of environmental status and trends)项目在国际上影响较大.2001年开始的BEEP项目采用多相生物标志物,较为全面地分析不同海洋生物暴露在不同污染物质(重金属、杀虫剂、PAHs等)不同浓度情况下的生物影响.BEST项目主要研究美国的几大流域,主要采用生物标志物ethoxy resorufin O-deethylase(EROD)活性评价有机污染物质(有机杀虫剂等)、微量重金属对流域鱼类健康的影响.此外,荷兰OMEGAM环境研究所van der Oost等^[12]通过收集污染地鳗鲡(eel)对阿姆斯特丹城区周围6个不同污染程度的淡水区进行生物监测,葡萄牙学者Florence等^[4]通过收集污染地的软体动物蛤,监测组织微粒体和线粒体中抗氧化酶系统,研究海岸的污染程度,法国学者Roméo^[13]采用主动生物监测,利用未污染区的软体动物贻贝对法国海湾Nice和Cannes镇进行了为期1月的生物监测研究,南非学者Wepener等^[14]在南非水资源保护委员会基金资助下,分别选取淡水螺和非洲鲫鱼对面积达4 000 hm²的利特弗雷自然保护区进行水环境监测,亚洲也有部分国家正在开展相关研究^[15].

国内在生物标志物研究方面起步较晚,当前集中在实验室模拟双壳类海洋生物研究,如王重刚等^[16]在实验条件下,研究不同浓度苯并(a)芘、芘及其等浓度混合物暴露对梭鱼抗氧化酶的影响,陈荣等^[17]通过0号柴油水溶性成分的海水对牡蛎的生物影响,分别测定消化腺和鳃GST的活性、DNA损伤及MDA.近年,也有学者采用淡水鱼类作为研究对象,如陆光华等^[18]以洁清地鲫鱼为研究对象,采用注射方式研究不同浓度PAHs对鱼肝脏组织中EROD活性与GST活性的影响.

3 生物标志物技术研究展望

3.1 监测生物与生物标志物选择

在实际环境监测中,需要根据待评价水环境特点、污染特征及生物分布特点,选择合适的生物物种作为指示生物,既要考虑研究物种的代表性,又要避免本地物种的环境适应性。Goldberg等^[19]提出运用贻贝来监测、评价近海环境污染状况,双壳类底栖动物及鱼类也是水环境被动生物监测中常用的指示生物物种。当前,国际项目(BEEP,BEST等)主要采取无脊椎双壳类软体生物与有脊椎生物鱼类进行生物监测。此外,在生物分布较为丰富地区,虾、泥鳅、苦草、黑藻等生物体也逐步受到研究者的关注,水相与底栖相的“小宇宙”生态监测体系也许是未来水环境监测的发展方向。

在水体污染物含量较低的情况下,与生物体早期生物调节、防御机制相关的生物标志物往往易于变化,在早期会表现出较为明显的诱导或抑制,当适应机制产生后,有时抗氧化酶反应不明显。另外,由于遗传影响,许多生物体具备一定的解毒能力,当暴露在低浓度污染物中时,有些生物体能够通过自身的解毒和代谢机制,逐步消除外界的影响。因此,污染物的生物监测有时变得较为困难。van der Oost等学者^[3]强调同时监测不同组织(如肝脏、腮等)多项分子生物标志物的重要性,这样能够通过多成分、多因素分析污染物质对生物体的综合影响。近几年的国内外研究表明,要想有效利用生物标志物来监测水生环境,一方面要考虑水体内部性环境的影响,例如水温、盐度、食料、水力等的影响;另一方面要考虑生物体自身的影响,例如生长、性别、产卵等的影响。有些学者展开了为期数年的研究,探索季节性自然因素,如温度、食物、生长、产卵等因素对生活酶活性的影响。Loizeau等^[20]研究认为自然界食物的含量很大程度上会影响双壳类生物对外源化合物的富集程度,这一点在Bodin等^[21]的研究中也得到了充分的证实。

3.2 基础理论与分析手段

由于生物标志物技术是多学科交叉发展的一门技术,其发展关键受制于毒代动力学、毒效动力学、生物化学等学科的发展,其中毒代动力学主要研究化学物经机体吸收、分布、生物转化和排泄过程的动态变化规律,毒效动力学是动态地研究有毒因素接触量与毒效强度间的定量关系并以数学模型表达这种规律的学科。除此以外,分析化学、生物化学及分子生物学等基础学科的发展对分析精度、检测水平的提高具有重要的意义,特别是研究一些新的生物标志物。

由于生物监测总体来说是用于群体评价的,在整个监测程序中,均需要使用统计学方法。如指标的敏感度、特异度和预测值等。单因子分析方法与类比分析方法计算简单,在生物标志物监测中应用较多。作为多变量分析的技术手段,主成分分析法、综合指数法(integrated biomarker response,IBR)也在近年逐步应用于分子生物标志物的研究中^[22]。此外,还可使用逐步回归方法来进行选择。在经济进步的同时,水环境与水安全问题日益受到人们的普遍关注。自从生物监测技术引起人们兴趣以来,随着科学理论研究、仪器分析水平的不断提高,生物标志物也许是水体早期复合污染预警又一有效的技术方法。

参考文献:

- [1] 陈燕燕,尹颖,王晓蓉,等.太湖表层沉积物中PAHs和PCBs的分布及风险评价[J].中国环境科学,2009,29(2):118-124.
(CHEN Yan-yan,YIN Ying,WANG Xiao-rong,et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyl in surface sediments of Taihu Lake: the distribution, sources and risk assessment[J]. China Environmental Science, 2009, 29(2): 118-124. (in Chinese))
- [2] QUINIOU F,DAMIENS G,GNASSIA-BARELLI M, et al. Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae[J]. Environment International, 2007, 33(1): 27-33.
- [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] GERET F,SERAFIM A,BEBIANNO M J. Antioxidant enzyme activities,metallothioneins and lipid peroxidation as biomarkers in *Ruditapes decussata*[J]. Ecotoxicology, 2003, 12(1): 417-426.
- [5] LIONETTO M G,CARICATO R,GIORDANO M E, et al. Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area[J]. Marine Pollution Bulletin, 2003, 46(3): 324-330.
- [6] DEL BARGA G,FRENZILLI V,SCARCELLI M, et al. Effects of algal extracts (*Polysiphonia fucoides*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a biomarker approach[J]. Marine Environmental Research, 2006, 62(Supl): 283-286.

- [7] BLAHA L ,KOPP R ,SIMKOVA K ,et al. Oxidative stress biomarkers are modulated in silver carp exposed to microcystin-producing cyanobacterial water bloom[J]. *Acta Veterinaria Brno* 2004 ,73(4) :477-482.
- [8] COSSON R P. Bivalve metallothionein as a biomarker of aquatic ecosystem pollution by trace metals : limits and perspectives[J]. *Cell and Molecular Biology* 2000 ,46(2) :295-309.
- [9] BENELLI R ,MORINI M ,CARROZZINO F ,et al. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin : implications for regulation of angiogenesis and inflammation[J]. *The FABES Journal* 2002 ,16(2) :267-269.
- [10] DOLCETTI L ,DALLA Z L ,VENIER P. DNA adducts in mussels and fish exposed to bulky genotoxic compounds[J]. *Marine Environmental Research* 2002 ,54(3/4/5) :481-486.
- [11] MONTERRAT S ,DEEEMETRIO R ,DAMIA B ,et al. Long-term exposure effects in vitellogenin ,sex hormones ,and biotransformation enzymes in female carp in relation to a sewage treatment work[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003 ,56(3) :373-380.
- [12] VAN DER OOST R ,VINDMIAN E ,VAN DEN BRINK P J ,et al. Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) : III . Statistical analyses of relationships between contaminant exposure and biomarkers[J]. *Aquatic Toxicology* ,1997 ,39(1) :45-75.
- [13] ROMEO M ,HOARAU P ,GARELLO G ,et al. Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean[J]. *Environmental Pollution* 2003 ,122(3) :369-378.
- [14] WEPENER V ,VAN VUREN J H J ,CHATIZA F P ,et al. Active biomonitoring in freshwater environments : early warning signals from biomarkers in assessing biological effects of diffuse sources of pollutant[J]. *Physics and Chemistry of the Earth* 2005 ,30(11) :751-761.
- [15] WAGNER A ,BOMAN J. Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish[J]. *Spectrochimic Acta :Part B : Atomic Spectroscopy* 2003 ,58(12) :2215-2226.
- [16] 王重刚 陈奕欣 郑微云 等. 苯并(a)芘、芘及其混合物暴露对梭鱼肝脏谷胱甘肽硫转移酶活性的影响[J]. *海洋学报* , 2004 ,28(3) :40-43.(WANG Chong-gang ,CHEN Yi-xin ,ZHENG Wei-yun ,et al. The effect of exposure of Benzo(a) Pyrene ,Pyrene and their mixture on hepatic glutathione-s-transferases activity in *Mugil soiyu*[J]. *Marine Sciences* 2004 ,28(3) :40-43.(in Chinese))
- [17] CHEN Rong ,ZHENG W Y ,YU Qun ,et al. Effect of oil pollution on glutathione and relative enzyme in oyster(*Saccostrea cucullata*) [J]. *Acta Oceanologica Sinica* 2003 ,22(1) :145-150.
- [18] LU Guang-hua ,WANG Chao ,ZHU Zi. The dose-response relationship for induction of EROD and GST by polyaromatic hydrocarbons in *Carassius auratus*[J]. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology* 2009 ,82(2) :194-199.
- [19] GOLDBERG E D ,BOWEN V T ,FARRINGTON J W. The mussel watch[J]. *Environmental Conservation* ,1978 ,5(2) :101-125.
- [20] LOIZEAU J L ,SPAN D ,COPPEE V ,et al. Evolution of the trophic state of Lake Annecy (eastern France) since the last glaciations as indicated by iron ,manganese and phosphorus speciation[J]. *Journal of Paleolimnology* 2001 ,25(2) :205-214.
- [21] BODIN N ,BURGEOT T ,BOCQUENE G. Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology :Part C :Toxicology & Pharmacology* 2004 ,138(4) :411-427.
- [22] BENOIT B ,THIERRY B. Integrated biomarker response : a useful tool for ecological risk assessment[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2002 ,21(6) :1316-1322.

Biomarker technology for early warning of water pollution risks

JI Yong^{1 2 3} , LU Guang-hua²

(1. *State Key Laboratory of Hydrology-Water Resources and Hydraulic Engineering* ,
Hohai University , *Nanjing 210098* , *China* ;

2. *Key Laboratory for Integrated Regulation and Resources Development on Shallow Lakes* ,
Ministry of Education , *Hohai University* , *Nanjing 210098* , *China* ;

3. *Department of Irrigation Work Engineering* , *Nanchang Institute of Technology* , *Nanchang 330099* , *China*)

Abstract : Based on the concept of biomarkers , the modes of transfer of pollutants between water bodies and living organisms were analyzed. A system of biomarkers was established. The relevant theoretical basis and application system of biomarkers are highlighted. Advances and applications of biology monitoring technology in water environments worldwide are summarized. The development trend of early warning of water pollution risks is systematically discussed. Simultaneously , several focuses for studies and applications of biomarkers are put forward.

Key words : biology monitoring ; biomarker ; organic pollution ; heavy metal ; water pollution ; early warning of risks