

污染物微观致毒机制 和环境生态风险早期诊断

王晓蓉 等 著

Toxic Mechanism of Pollutants and Early
Diagnosis of Ecological Risk



科学出版社

污染物微观致毒机制 和环境生态风险早期诊断

**Toxic Mechanism of Pollutants and Early
Diagnosis of Ecological Risk**

王晓蓉 等 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

环境中有毒污染日益加剧,导致生态安全和健康问题日趋突出,污染物低浓度长期暴露生态风险难以定量评估和早期识别。本书系统地介绍近20年来王晓蓉课题组在典型污染物形态与生物有效性、毒性效应和致毒机制、生态风险早期诊断等方面的研究成果,共13章。介绍了环境生态风险早期预警方法原理,环境中不同生物体生理、生化指标对污染物胁迫的响应及其机制,阐明生物体活性氧产生和抗氧化防御系统变化及氧化损伤之间的耦合关系,揭示生物体内活性氧积累水平是污染物导致氧化损伤并致毒的关键,筛选系列敏感分子生物标志物,获得部分典型污染物早期伤害的关键阈值,研发基于多种分子生物标志物、生物有效性的生态风险早期预警技术,给出了上述成果在区域环境生态风险早期诊断实践中的应用与展望。

本书可作为环境科学高年级本科生及研究生的教学参考书,也可供从事环境科学研究的科学家、工程技术人员、环境保护专业技术人员、生态风险管理和技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

污染物微观致毒机制和环境生态风险早期诊断/王晓蓉等著. —北京:科学出版社, 2013. 4

ISBN 978-7-03-037097-6

I. 污… II. 王… III. 化学污染物-环境预测 IV. X5

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第051073号

责任编辑:张震/责任校对:张小霞

责任印制:钱玉芬/封面设计:无极书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京通州皇家印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年4月第一版 开本:787×1092 1/16

2013年4月第一次印刷 印张:37 1/4

字数:880 000

定价:168.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

随着我国经济的高速发展，环境中化学品污染日益加剧，严重威胁人体和生态健康，成为影响我国社会经济可持续发展的重大问题之一。认识和揭示化学污染物在复杂环境介质中的变化过程及其毒性效应的内在规律，建立生态风险早期诊断技术，是预防和控制污染物生态风险的重要科学问题，也是我国环境保护重大战略需求。

在国家重点基础研究发展计划（“973”计划）、国家自然科学基金、江苏省自然科学基金、博士点基金、中国-加拿大国际合作项目、江苏海洋“908”项目、江苏省国土生态地球化学调查项目等的资助下，针对传统生态风险评估方法难以对污染物的毒性效应做出早期预警的现状，王晓蓉课题组以环境中典型有机污染物、重金属为对象，围绕污染物的环境化学行为、毒性效应、早期诊断开展了长期系统研究。本书系统地介绍了王晓蓉课题组多年来在生态风险早期诊断方面的研究成果。从微观角度系统阐释了水生生态系统生物体（藻、水蚤、鱼和沉水植物）和陆生生态系统生物体（农作物、蔬菜和蚯蚓）等的生理、生化指标对污染物胁迫的响应及响应机制，发现了多种污染物诱导不同生物体产生活性氧的直接证据，揭示了生物体内活性氧积累水平是化学污染物导致氧化损伤致毒的关键，系统阐明了其微观致毒机制，筛选出活性氧、还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比值、应激蛋白、植物络合素等系列敏感生物标志物，获得了部分典型污染物对生物产生早期伤害的关键阈值，创建了多种分子生物标志物综合的生态风险早期诊断指标体系与预测技术并应用于实践。

本专著是在总结近20年来课题组成员研究工作、发表的论文和申请的专利的基础上撰写的。这些成果凝聚了两代科研工作者的辛勤劳动与汗水，其最大特色是突破了环境污染物早期危害难以定量诊断的技术瓶颈，探索出在区域环境中有效的生态风险早期预警体系，为我国部分环境质量基准和标准的修订提供了科学依据及技术指导，并为有毒污染物的早期预防和控制提供了理论依据及技术支持。书中不乏一些创新的研究思路和方法，很多数据是首次发表。

全书共分13章。第1~3章介绍生态风险早期诊断的意义及典型污染物的环境行为和生物有效性研究；第4~11章详细介绍环境生态风险早期预警方法原理及各种生理、生化指标对污染物胁迫的响应和响应机制，阐明了生物体活性氧产生与抗氧化防御系统变化及氧化损伤之间的耦合关系，系统揭示了典型污染物毒性作用的微观机制；第12章介绍系列敏感生物标志物的筛选，创建了基于多种分子生物标志物的环境生态风险早期诊断指标体系与预测技术，并将其应用于区域土壤质量和水体生态风险诊断的实践；第13章介绍生态毒理组学技术研究、应用及展望。

书中各章作者分别为：第1章、第2章，王晓蓉；第3章，王晓蓉、顾雪元；第4章，罗义、汪承润、孙琴、王晓蓉；第5章，汪承润；第6章，罗义、汪承润、尹颖；第

7 章, 张景飞、刘慧; 第 8 章, 尹大强、赵庆顺、朱含开; 第 9 章, 施华宏、尹大强、徐挺; 第 10 章, 汪承润; 第 11 章, 孙琴; 第 12 章, 王晓蓉、汪承润; 第 13 章, 姜锦林。最后由王晓蓉统审、定稿。

先后参加本课题研究的有孙媛媛、林仁漳、薛银刚、徐向华、王宁、田园、任磊、苏燕、陈燕燕、孟文娜、胡俊、谢显传、顾颖、吴兆毅、李延、于振洋等, 本书同样涵盖了他们的一些研究结果, 在此表示衷心感谢。

本书在写作过程中得到张全兴院士、污染控制与资源化研究国家重点实验室和南京大学环境学院领导的关心和支持, 在此表示衷心的感谢。手稿完成后, 汪承润、罗军帮助审阅部分书稿, 张娟对全书的格式、文献的查实核对等编排工作给予了很大帮助, 韩超、赵艳萍博士帮助绘制部分图表, 在此一并致谢。

书中难免有疏漏和不妥之处, 敬请读者批评指正。

作 者

2012 年 11 月 20 日

目 录

前言

1 绪论	1
1.1 经济高速发展带来的环境问题	1
1.2 生态毒理学研究进展	1
1.3 生态风险评价及生态风险早期诊断研究	4
1.3.1 生态风险评价	4
1.3.2 生态风险早期诊断研究	4
1.4 生态风险早期诊断的意义及研究展望	7
参考文献	8
2 持久性有机污染物在环境中的分布特征、毒性效应及生态风险研究	11
2.1 水环境中 POPs 的分布特征、来源识别和生态风险研究	12
2.1.1 海南五指山地区水环境中 POPs 的分布特征和来源识别	12
2.1.2 海南铜鼓岭地区水环境中 POPs 的分布特征及生态风险初探	23
2.1.3 太湖沉积物 POPs 的分布特征和生态风险初探	33
2.1.4 江苏近海沉积物中 POPs 的分布特征和生态风险初探	38
2.2 POPs 在生物体中的分布特征和健康风险研究	48
2.2.1 江苏近海地区 POPs 在生物体中的分布特征和健康风险	48
2.2.2 太湖地区 POPs 在生物体中的分布特征和健康风险	58
2.3 新型有机污染物污染现状、毒性效应及进展	65
2.3.1 水环境中全氟化合物污染现状和研究进展	65
2.3.2 PBDEs 研究进展	69
2.3.3 药物和个人护理品研究进展	79
2.4 研究展望	82
2.4.1 开展精准的生态风险评价方法研究	82
2.4.2 关注新型 POPs 的环境行为和生态毒理效应研究	83
参考文献	84
3 土壤的重金属污染及其生物有效性研究	96
3.1 江苏沿江典型农业土壤和蔬菜中重金属的分布特征	97
3.1.1 南京沿江几个主要蔬菜产区土壤和蔬菜中重金属的分布特征	97
3.1.2 苏州主要农业土壤及农作物中重金属的分布	102
3.1.3 扬中市主要农业土壤及蔬菜中重金属的分布	103
3.1.4 邗江主要农业土壤及蔬菜中重金属的分布	105

3.2	重金属的生物有效性和影响因素	106
3.2.1	土壤重金属的赋存形态的生物有效性	107
3.2.2	pH 对土壤 Cd 赋存形态及其生物有效性的影响	108
3.2.3	老化效应对土壤重金属形态及其生物有效性的影响	110
3.2.4	土壤有机质和配体对重金属生物有效性的影响	114
3.3	土壤重金属生物有效性的测定和预测模型研究	116
3.3.1	重金属生物有效性研究方法进展	116
3.3.2	应用 DGT 技术预测田间农作物的生物有效性	118
3.3.3	金属的生物有效性模型	125
	参考文献	127
4	环境生态风险早期预警方法原理	132
4.1	生态毒理学研究进展	132
4.1.1	生物标志物的定义和发展	134
4.1.2	生物体敏感指标相互作用的分子机制	136
4.2	主要生物标志物的研究与应用	137
4.2.1	细胞色素 P450 系统作为生物标志物的研究	138
4.2.2	应激蛋白的研究和应用	140
4.2.3	抗氧化防御系统用做生物标志物的研究	143
4.2.4	活性氧及其用于生态风险早期预警的潜力	145
4.3	活性氧引起的氧化应激与损伤	152
4.3.1	氧化应激的概念与产生机制	152
4.3.2	污染物胁迫下活性氧的产生与氧化损伤	153
4.4	植物络合素作为生物标志物的研究	156
4.5	生态风险早期预警的研究方法	157
4.5.1	生物标志物的筛选	157
4.5.2	生态风险早期预警的研究方法	157
4.5.3	应用多种生物标志物综合诊断污染环境的早期生态风险	157
	参考文献	158
5	生物体内 P450 酶系对污染物胁迫的响应	169
5.1	P450 的组成、功能及其多样性	169
5.1.1	P450 的组成和功能	169
5.1.2	P450 的多样性	170
5.2	P450 基因的诱导表达和抑制效应	173
5.2.1	P450 基因的诱导表达	173
5.2.2	P450 基因的抑制效应	174
5.3	P450 在污染物降解和环境污染诊断中的应用研究	175
5.3.1	动物 P450 在环境污染诊断中的应用研究	175
5.3.2	植物 P450 在环境污染早期诊断中的研究	184

参考文献	185
6 污染物的氧化胁迫及氧化损伤机制研究	191
6.1 鱼体内活性氧捕获方法的建立、鉴定和定量	191
6.1.1 活体异位捕获技术的建立	192
6.1.2 活体原位捕获技术的建立	194
6.1.3 体外捕获技术的建立	195
6.1.4 活性氧的鉴定和定量	197
6.2 活性氧用做生物标志物对污染物的早期预警研究	200
6.2.1 鲫鱼对酚类污染物胁迫的响应	200
6.2.2 鲫鱼对多环芳烃类污染物胁迫的响应	213
6.3 植物体内活性氧和自由基的定量及分析方法	220
6.3.1 $O_2^{\cdot-}$ 的定量方法研究	221
6.3.2 氮氧自由基和过氧自由基	224
6.3.3 碳中心自由基的测定方法	226
6.3.4 H_2O_2 的定量研究	227
6.3.5 $\cdot OH$ 的定量研究	229
6.4 生物体氧化损伤的研究方法	230
6.4.1 膜脂质过氧化的研究	230
6.4.2 蛋白质氧化损伤的研究	233
6.4.3 DNA 断裂、DNA 加合物和 DNA 交联的研究	236
参考文献	240
7 污染物对生物体内谷胱甘肽系列的影响	250
7.1 生物体内的谷胱甘肽系列	250
7.1.1 谷胱甘肽的结构特征	250
7.1.2 谷胱甘肽系列的生物学作用与机制	251
7.2 重金属对生物体内谷胱甘肽系列的影响	253
7.2.1 单一重金属污染对生物体内谷胱甘肽系列的影响	254
7.2.2 重金属复合污染对生物体内谷胱甘肽系列的影响	256
7.2.3 有机配体存在下重金属对生物体内谷胱甘肽系列的影响	258
7.3 有机污染物对生物体内谷胱甘肽系列的影响	260
7.3.1 石油烃类污染物对生物体内谷胱甘肽系列的影响	260
7.3.2 酚类污染物对生物体内谷胱甘肽系列的影响	261
7.3.3 苯胺类污染物对生物体内谷胱甘肽系列的影响	267
7.3.4 PAHs 对生物体内谷胱甘肽系列的影响	268
7.3.5 溴化阻燃剂对生物体内谷胱甘肽系列的影响	271
7.4 谷胱甘肽系列在环境生态安全早期诊断中的作用	272
参考文献	274

8 污染物的遗传毒性与发育毒性研究——以五氯酚为例	278
8.1 五氯酚及其生物毒性	278
8.1.1 PCP 的生物毒性	278
8.1.2 PCP 致毒机制	280
8.2 遗传毒性及其检测技术	280
8.2.1 遗传毒性	280
8.2.2 DNA 损伤及检测技术	280
8.2.3 基因点突变及检测技术	281
8.3 PCP 诱导斑马鱼 <i>p 53</i> 基因点突变研究	283
8.3.1 <i>p 53</i> 基因在遗传毒性研究中的应用	283
8.3.2 PCP 诱导斑马鱼 <i>p 53</i> 基因点突变的巢式 PCR-RFLP 分析	284
8.3.3 PCP 诱导斑马鱼 <i>p 53</i> 基因点突变的克隆测序分析	286
8.3.4 DHPLC 及其分析方法的建立	287
8.3.5 DHPLC 分析 PCP 对斑马鱼 <i>p 53</i> 基因的作用	289
8.4 五氯酚对斑马鱼毒理基因组学研究	294
8.4.1 毒理基因组学	294
8.4.2 PCP 暴露下斑马鱼胚胎基因芯片分析	295
8.4.3 PCP 对斑马鱼细胞凋亡的影响	299
8.5 五氯酚对斑马鱼发育毒性研究	302
8.5.1 发育毒性	302
8.5.2 以斑马鱼为模式动物的发育毒性检测方法	302
8.5.3 PCP 对斑马鱼发育毒性研究	304
8.6 展望	306
参考文献	307
9 污染物对生物体的内分泌干扰效应及其机制研究	312
9.1 环境内分泌干扰物	312
9.1.1 环境内分泌干扰物简介	312
9.1.2 环境内分泌干扰物的种类和来源	313
9.1.3 环境内分泌干扰物的生物学效应及其作用机制	315
9.2 污染物对鱼类和腹足类的性激素干扰效应及其作用机制	321
9.2.1 氯代芳烃对鲫鱼血清性激素水平及肝脏代谢关键酶的影响	321
9.2.2 三丁基锡对腹足类的雄激素干扰效应及其作用机制	328
9.3 污染物对鱼类和两栖类动物的甲状腺激素干扰效应及其作用机制	336
9.3.1 污染物对鱼类的甲状腺激素干扰效应及其作用机制	336
9.3.2 污染物对两栖类动物的甲状腺激素干扰效应及其作用机制	342
9.4 鲫鱼淋巴细胞增殖实验在环境内分泌干扰物筛选中的应用	355
9.4.1 天然激素和双酚 A 对鲫鱼免疫细胞体外暴露的研究	356
9.4.2 天然激素和双酚 A 对鲫鱼免疫细胞体内暴露的研究	358

9.4.3	天然激素和双酚 A 对鲫鱼免疫细胞影响的分析	359
9.4.4	应用鲫鱼淋巴细胞增殖实验筛选环境内分泌干扰物	362
9.4.5	小鼠前脂肪细胞 (3T3-L1) 在环境肥胖激素筛选中的应用	368
9.5	展望	373
9.5.1	新的内分泌干扰物和内分泌干扰效应	373
9.5.2	典型内分泌干扰物的作用机制	374
9.5.3	内分泌干扰物的分子作用机制与种群水平上的生态效应的联系	375
9.5.4	内分泌干扰物的筛选和生物监测方法	375
	参考文献	377
10	生物体内应激蛋白对污染物胁迫的响应研究	384
10.1	HSPs 检测方法	385
10.1.1	Western blotting 技术	385
10.1.2	酶联免疫技术	385
10.1.3	其他研究方法	385
10.2	动物应激蛋白在水生生态环境污染监测中的研究和应用	386
10.2.1	水生动物应激蛋白在水生生态环境污染监测中的研究现状	386
10.2.2	鲫鱼不同组织 HSP70 对重金属胁迫的响应	387
10.2.3	鲫鱼肝脏 HSP70 对有机污染物胁迫的应激响应	391
10.2.4	动物应激蛋白在陆生生态环境污染监测中的研究进展	400
10.3	植物应激蛋白在环境污染监测中的研究	402
10.3.1	蚕豆幼苗 HSP70 对土壤重金属污染胁迫的响应	402
10.3.2	番茄幼苗 HSP70 对土壤重金属胁迫的响应	405
10.4	植物 HSP70 对稀土元素氧化胁迫的应激响应	406
10.4.1	叶片组织 La 含量的测定	406
10.4.2	叶片组织 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的原位显色	407
10.4.3	叶片组织 4 种抗氧化酶同工酶图谱的变化	407
10.5	La^{3+} 通过介导 HSP70 等生理指标的变化干扰植物细胞的增殖周期	410
10.5.1	受试蚕豆幼苗的培养和染毒	411
10.5.2	根部组织 La、Ca、Fe 和 K 元素含量的变化	411
10.5.3	根尖细胞增殖周期和增殖指数的变化	412
10.5.4	根尖组织 HSP70 诱导表达水平的变化	413
10.6	稀土元素拮抗重金属对植物氧化胁迫的研究	414
10.6.1	以蚕豆叶片作为研究对象	414
10.6.2	以蚕豆根部组织作为研究对象	419
10.7	转基因模式动物和植物的 Hsps 作为环境污染监测的生物标志物	423
10.8	应激蛋白作为分子标志物需要注意的事项	423
	参考文献	424

11 植物络合素对重金属污染胁迫的响应研究	431
11.1 PCs 的发现、命名及其结构	431
11.1.1 PCs 的发现	431
11.1.2 PCs 和 M-PCs 复合物的合成	432
11.2 PCs 的检测方法	435
11.2.1 差减法	435
11.2.2 高效液相色谱柱前衍生化法	437
11.2.3 毛细管电泳法	440
11.2.4 电化学法	440
11.2.5 高效液相色谱-质谱联用法	441
11.2.6 其他的仪器联用技术	441
11.3 重金属胁迫下生物体内 PCs 的响应	442
11.3.1 PCs 的生物标记物作用	442
11.3.2 PCs 的重金属解毒作用	444
11.3.3 PCs 调节和维持植物体内金属离子的平衡作用	457
11.3.4 PCs 的抗氧化胁迫作用	457
11.3.5 PCs 的其他作用	458
11.4 PCs 作为生物标记物的潜力	458
11.4.1 陆生植物体内 PCs 的响应与重金属生物毒性的关系	459
11.4.2 水生植物体内 PCs 的响应与重金属生物毒性的关系	465
11.5 PCs 研究存在的问题与值得进一步研究的方向	467
参考文献	467
12 多种生物标志物在环境生态风险早期诊断中的应用研究	475
12.1 多种生物标志物对进行生态风险早期诊断的意义	475
12.2 应用多种生物标志物对水环境生态风险的早期诊断	476
12.2.1 敏感分子生物标志物的筛选	476
12.2.2 不同生物对同一污染物胁迫响应的比较研究	483
12.2.3 生物对不同化合物胁迫响应的差异性	490
12.2.4 腐殖酸对生物受污染物胁迫响应的影响	491
12.2.5 太湖蓝藻水华对鲤鱼生态毒理效应的原位研究及其早期预警初探	496
12.3 应用多种生物标志物对土壤环境生态风险的早期诊断	506
12.3.1 Cd 污染土壤对作物胁迫的生态风险早期诊断研究	507
12.3.2 应用蚯蚓生物标志物对 Cd 污染土壤的生态风险早期诊断	513
12.3.3 Pb 污染土壤对蔬菜胁迫的生态风险早期诊断及微观致毒机理	522
12.4 污染物的兴奋效应与致毒关键阈值研究方法的探讨	533
12.4.1 Pb 污染土壤诱导蚕豆幼苗的 Hormesis 效应及其风险性评价方法	535
12.4.2 La ³⁺ 诱导蚕豆幼苗的 Hormesis 效应及其风险性评价方法	539

12.5	应用与展望	545
12.5.1	继续应用多种分子生物标志物综合诊断水环境早期生态风险	545
12.5.2	继续开展基于重金属形态生物有效性的多种分子生物标志物综合 诊断方法的应用	546
12.5.3	应用多种分子生物标志物对生态风险综合早期诊断技术应关注的 问题	547
	参考文献	548
13	生态毒理组学技术研究及其应用	554
13.1	生态毒理基因组学	554
13.1.1	基因芯片	555
13.1.2	差异显示反转录技术	556
13.1.3	基因表达系列分析技术在毒理基因组学的应用	557
13.2	生态毒理蛋白质组学	557
13.2.1	蛋白质组学技术	557
13.2.2	磷酸化蛋白质组学技术	559
13.2.3	从生态毒理基因组学到蛋白质组学	561
13.3	代谢组学技术	561
13.4	生态毒理组学技术研究内容	562
13.4.1	生态毒理组学研究常用生物平台	562
13.4.2	生态毒理基因组和生态毒理蛋白质组学研究内容	563
13.5	应用生态毒理组学技术研究蓝藻水华衍生物毒性效应	564
13.5.1	水环境富营养化污染现状	564
13.5.2	微囊藻毒素的分子致毒机理	565
13.5.3	与微囊藻毒素致毒机制密切相关的蛋白	566
13.5.4	太湖蓝藻水华对鲤鱼肝脏毒性效应的蛋白质组学研究	567
13.6	生态毒理基因组学和生态毒理蛋白质组学研究展望	580
13.6.1	生态毒理基因组学和生态毒理蛋白质组学研究存在问题	580
13.6.2	生态毒理基因组学和生态毒理蛋白质组学研究的发展趋势	580
	参考文献	581

1.1 经济高速发展带来的环境问题

随着现代工农业的迅速发展以及城市化进程的不断加剧，大量的工业废水、生活污水和各种未经处理的固体废弃物排入环境，导致环境污染日趋严重。最近研究表明，江河湖库中均检测到持久性有毒有机污染物（persistent toxic substance, PTS）的存在，多数 PTS 具有内分泌干扰作用，在环境中尽管含量低，但毒性大且很难降解，并通过环境介质长距离迁移、长期滞留于环境中，严重威胁饮用水源的安全，由此引发的生态安全问题受到人们的高度重视。联合国预测，21 世纪水危机将成为全球危机的首位。我国在环境保护“十二五”规划中指出，“当前，我国环境状况总体恶化的趋势尚未得到根本遏制，环境矛盾凸显，压力继续加大。一些重点流域、海域水污染严重，部分区域和城市大气灰霾现象突出，许多地区主要污染物排放量超过环境容量。农村环境污染加剧，重金属、化学品、持久性有机污染物以及土壤、地下水等污染显现。部分地区生态损害严重，生态系统功能退化，生态环境比较脆弱。核与辐射安全风险增加。突发环境事件的数量居高不下，环境问题已成为威胁人体健康、公共安全和社会稳定的重要因素之一”。土壤污染不仅导致土地质量退化，影响农产品安全，而且还可通过淋溶作用污染地表水和地下水。土壤污染具有隐蔽性、累积性、滞后性等特点，一旦发生严重污染，往往造成不可逆转的严重后果。而大量的污染物进入环境后，会对生态环境带来多大的危害？特别是环境中低浓度、复合污染的长期暴露究竟会对生态系统产生多大的影响？生态风险有多大？均不清楚。因此，迫切需要开展有毒、有害污染物在水体、土壤及生物体内的迁移、转化和生态毒性研究，评价其生态风险和生态安全。由于生态系统改变是不可逆的，一旦污染物对生物产生危害甚至导致死亡，就会对生态系统造成不可挽回的损失，因此，把污染物对生物体的毒性作用阻止在细胞、组织伤害之前就显得更为重要。

1.2 生态毒理学研究进展

一般的理化监测虽能对环境或生物体内的污染物进行定量描述，但无法反映污染物对生物体的毒性效应，更无法对代谢产物的毒性做出准确评估。生态毒理学就是随着生态学和毒理学的发展而形成的。

生态毒理学 (ecotoxicology) 是 20 世纪 70 年代发展起来的一门新兴的边缘学科, 主要研究污染物、环境、机体三者之间的关系以及有毒物质对生物在个体、种群、群落和生态系统水平上的毒性响应。对生态毒理学的学科定义和内涵有几种不同的认识, 目前, 普遍的观点是, 生态毒理学在个体或生态系统水平上的研究可较好地反映污染物在生态系统整体水平上的影响, 比较接近自然状况, 对污染物的评价和筛选起到了重要作用 (徐立红等, 1995)。早期的生态毒理学研究主要关注污染物在环境中的归趋、在生物体的富集和代谢、污染物对生物体产生的毒害效应及程度等。到了 80 年代, 生态毒理学有了三个标志性的研究, 即生态风险度评估、环境污染物的生态毒理学性质评估和生态系统生态毒理学的研究。近年来, 对生物标志物 (biomarker) 的研究, 提高了环境污染物慢性暴露危害作用评估的准确性 (孟紫强, 2009)。

生态毒理学的核心部分是生态毒理效应, 即研究有毒、有害物质对生物体的危害程度、范围以及剂量-响应关系的确定 (周启星等, 2004)。生态毒理学的基本研究方法根据研究目的、规模和对研究对象处理方式大体可分为体内研究和体外研究 (整体生物毒性实验以及器官、细胞和亚细胞水平实验)、室内实验和野外调查与验证以及在不同生物层次 (分子水平、细胞水平、个体水平、种群水平和生态系统水平) 的研究 (孟紫强, 2009)。常规的生物毒性实验包括急性毒性实验、亚慢性毒性实验、慢性毒性实验和蓄积毒性实验等 (周启星等, 2004)。

常用的毒性参数如下所述 (孔繁翔等, 2000):

绝对致死剂量或浓度 (absolute lethal dose, LD_{100} ; absolute lethal concentration, LC_{100}): 是指能使一群动物全部死亡的最低剂量或浓度。

半数致死剂量或浓度 (median lethal dose, LD_{50} ; median lethal concentration, LC_{50}): 是指能引起一群动物的 50% 死亡的最低剂量或浓度。毒性的大小与半数致死剂量成反比。

最小致死剂量或浓度 (minimum lethal dose, MLD; minimum lethal concentration, MLC): 是指能使一群动物中仅有个别死亡的最高剂量或浓度。

最大耐受剂量或浓度 (maximum tolerance dose, LD_0 ; maximum tolerance concentration, LC_0): 是指能使一群动物发生中毒, 但无一死亡的最高剂量或浓度。

最大无作用剂量 (maximum no-effect level): 是指外来化合物在一定时间内, 按一定的检测方法或观察指标, 不能观察到任何损害作用的最高剂量。

最小有作用剂量 (minimal effect level): 是指能使机体发生某种异常变化所需剂量, 即能使机体开始出现毒性反应的最低剂量。

无作用浓度 (no effect level): 是指在一定时间内, 生态系统中暴露于环境毒物的生物种群还没有产生不良反应时该污染物的浓度范围。有时也称非可观察的效应水平 (no observable effect level, NOEL), 即不足以引起反应的污染物剂量水平。

半数效应浓度 (median effect concentration, EC_{50}): 是指能引起 50% 受试生物的某种效应变化的浓度。通常指非死亡效应。

半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}): 是指能引起受试生物的某种效应 50% 抑制的浓度。

急性毒性实验 (acute toxicity test): 是指研究化学物质大剂量一次毒性染毒或 24h 内

多次染毒动物所引起的毒性实验。该实验的目的是在短期内了解该化学物质的毒性大小和特点。

亚慢性毒性实验 (subchronic toxicity test): 是指在相当于动物生命周期的 $1/30 \sim 1/20$ 时间内使动物每日或反复多次接触受试物的毒性实验。该实验的目的是为进一步对受试生物的主要毒作用、靶器官和最大无作用剂量或中毒阈剂量作出估计。

慢性毒性实验 (chronic toxicity test): 是指将低剂量外来化合物长期与实验动物接触, 观察其对实验动物所产生的生物学效应的实验。该实验可确定最大无作用剂量, 为制订人体每日允许摄入量 (allowable daily intake, ADI) 和最高容许浓度 (maximum allowable concentration, MAC) 提供毒理学依据。

污染物在体内的蓄积作用, 是引起亚慢性毒性和慢性毒性作用的基础。蓄积系数法是一种常用来评价环境污染物蓄积作用的方法。

蓄积系数 (cumulative coefficient, K): 是指分次给受试生物后引起 50% 受试生物出现某种毒性响应的总剂量 [以 $\sum LD_{50}(n)$ 表示] 与一次给受试生物后引起 50% 受试生物出现同一毒效应的剂量 [以 $\sum LD_{50}(1)$ 表示] 的比值。 $K = \sum LD_{50}(n) / \sum LD_{50}(1)$ 值越小表示蓄积作用越强。

但是, 传统的生态毒理学在系统水平上的研究耗时长、影响因子多、花费大, 并且生物体死亡、生长受阻或影响繁殖以至最终导致生态系统破坏已经是污染物造成不可逆转的晚期影响或结果, 难以就污染物对生物体的损伤效应做出早期预警。因此, 迫切需要有能反映污染物作用本质并能对污染物早期影响进行检测的指标, 把污染物的生态毒性作用阻止在细胞或组织伤害之前, 从而对污染物的环境早期影响做出更为准确的生态毒理学预测或早期预警 (徐立红等, 1995)。污染物对生态系统的影响如图 1-1 所示。由图 1-1 可以看出, 污染物对生物最早的作用都是从生物体内的分子开始的, 然后, 逐步在细胞、器官、个体、种群、生态系统等各个水平上反映出来, 这种早期作用对保护种群和生态系统具有最大的预测价值。因此, 在分子水平上开展环境污染的早期诊断和生态风险评价研究成为生态毒理学研究的热点之一。

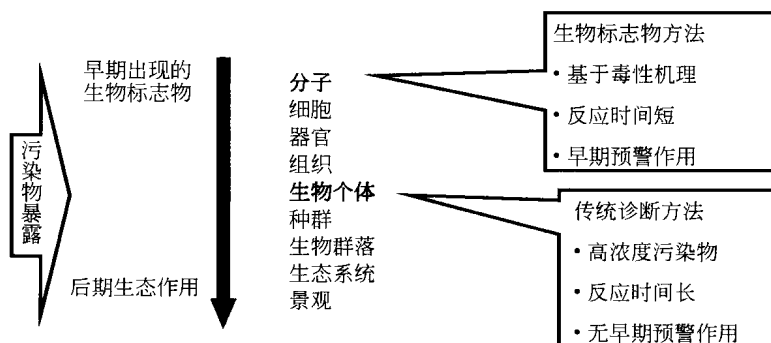


图 1-1 污染物对生态系统影响的示意图

分子生态毒理学就是采用现代分子生物学方法与技术, 研究污染物及其代谢产物与细胞内大分子 (包括蛋白质、核酸、酶) 的相互作用, 找出作用的靶位或靶分子, 揭示污染

物剂量与生物体效应的关系,探索生物标志物,从而对污染物在个体、种群或生态系统水平上的影响做出预报。分子生态毒理学在国外发展很快,并已受到越来越多的重视,目前研究多集中在将有关酶的活性作为机体功能和器官损伤的标志;在 mRNA 及蛋白质水平上研究某些污染物引起生物体的基因活化,使 mRNA 表达水平或蛋白质含量升高;在 DNA 水平上研究污染物对 DNA 的化学修饰所形成的 DNA 加合物及损伤等方面(徐立红等,1995)。我国在这方面的研究起步较晚。生物化学和分子生物学技术的飞速发展,将有利于深入揭示污染物的微观致毒机制,推动分子生态毒理学研究深入开展。

1.3 生态风险评价及生态风险早期诊断研究

生态风险特指污染物对非人的生物体、种群和生态系统造成的风险,主要通过暴露表征、效应表征来评估和描述。生态风险评价的目的是使用生态学和毒理学信息,估计有害生态事件发生的可能性,它是一个预测人类活动对不同水平的生态系统产生有害影响可能性的过程,已成为生态毒理学研究的前沿领域之一(周启星等,2004)。

1.3.1 生态风险评价

美国环境保护局(USEPA)(1992年)将生态风险评价(ecological risk assessment, ERA)定义为:研究一种或多种压力形成或可能形成的不利生态效应的可能性的过程。它主要研究人类活动带来的各种灾害对生态系统及其组分的可能影响。传统的生态风险评价研究多注重单一污染物的极端终点和直接效应的毒性测试,如致死和半致死效应等,这些测试对污染物的评价和筛选曾起到了重要作用,但由于污染物排放浓度的变化、暴露的变异性和物种暴露敏感的差异性导致生态风险评价存在着不确定性,实际水体的污染状况往往是低浓度多种污染物共存的复杂体系,尤其是随着对环境中 PTS 和内分泌干扰类物质生态学效应的揭示,接近于真实环境的污染物低剂量长期暴露问题近年来备受关注。目前,传统的生态毒理学分析方法对污染物低剂量长期暴露对生物体的伤害,缺乏科学的早期预警功能,且难以解决新出现的环境污染物引发的生态毒理学效应问题。

1.3.2 生态风险早期诊断研究

1.3.2.1 生物标志物在生态风险早期诊断中的作用

近年来,细胞或分子水平上的生物标志物作为污染物暴露和毒性效应的早期预警指标受到广泛关注,并成为国内外生态毒理学研究的热点之一(Aas et al., 2000; van der Oost et al., 2003)。生物标志物的广义定义为生物对一种或几种化学物质污染的响应,可用于检测污染物暴露的毒性效应。对其更精确的描述是,通过测定体液、组织或整个生物体,能够表征对一种或多种化学污染物的暴露和(或)其效应的生化、细胞、生理、行为或能量上的变化(王海黎和陶澍,1999)。生物对环境污染物产生效应的主要系统有细胞色素 P450 系统、金属硫蛋白、应激蛋白、抗氧化防御系统、解毒系统第一阶段酶和第二阶段

酶、氧化损伤及血液学、免疫学、生殖毒性、神经毒性和基因毒性等。因此,开展生物体对低浓度污染物胁迫的响应,揭示污染物对生物产生伤害的微观致毒机制,寻找和获得对环境污染敏感的生物标志物,为污染环境生态风险的早期诊断提供方法就显得格外重要。由于生物标志物具有特异性、预警性和广泛性等特点,且污染物与生物体之间所有的相互作用都始于分子水平,因此,分子生物标志物可成为污染物暴露和毒性效应的早期警报指示物。

1.3.2.2 主要生物标志物

(1) 抗氧化防御系统

抗氧化防御系统包括酶系统和非酶系统两大类,其在参与活性氧的清除以及机体的保护性防御反应中发挥巨大作用。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是最先与活性氧自由基作用的酶,它可将超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)分解为 H_2O_2 和 O_2 , 过氧化氢酶(catalase, CAT)可继续分解 H_2O_2 , 从而降低体内 H_2O_2 浓度。除过氧化氢酶外,谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)也可利用 H_2O_2 , 将还原型谷胱甘肽(GSH)氧化生成氧化型谷胱甘肽(GSSG)。生物体的抗氧化酶对污染物胁迫相当敏感,其活性变化可为污染物胁迫下的机体氧化应激提供敏感信息,因此抗氧化酶被用做环境污染早期预警的指标,从而成为分子生态毒理学生物标志物研究热点之一(Cossu et al., 2000; Niyogia et al., 2001; Almeidaa et al., 2002; Cheung et al., 2002; Pascual et al., 2003; Zhang et al., 2003; Oruc et al., 2004)。王晓蓉课题组早期在研究鱼体肝脏对有机污染物如 20# 柴油、2,4-二氯苯酚(2,4-DCP)和重金属(如 Cu)胁迫的响应中发现,20# 柴油和 2,4-二氯苯酚在低于现行渔业用水水质标准(0.005mg/L)以下浓度便可引起机体产生氧化应激和氧化损伤(Zhang et al., 2003, 2004a, 2004b, 2004c), SOD、GST 和 GSH 等对这两种污染物都很敏感, Cu 在低于我国现行渔业水质标准(0.01mg/L)时就能引起抗氧化酶活性的改变,暗示现行渔业用水标准对生物的安全性有待进一步研究(Liu et al., 2005; 刘慧和王晓蓉, 2004; 刘慧等, 2005)。然而,用抗氧化酶的活性变化来指示环境污染,不同的实验室和野外研究得到的结果存在差异,甚至相反。

除抗氧化酶外,非酶参与的小分子抗氧化物质在机体保护防御过程中也发挥不可替代的作用,这类物质包括 GSH、抗坏血酸(维生素 C)、 α -生育酚(维生素 E)等。GSH 作为机体抵抗污染胁迫的第一道防线,在清除活性氧如 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 的过程中发挥重要作用。生物体遭受污染物胁迫时, GSH 含量降低(Zhang et al., 2005),大量活性氧产生并积累,使机体处于氧化应激态,此时,体内正常的氧化还原电位平衡机制被扰乱, GSH 向 GSSG 转化,使 GSSG 含量升高。健康的生物体, GSH/GSSG 值一般维持恒定(Stegeman et al., 1992),但当生物体遭受污染胁迫时,该值降低。因此 GSH/GSSG 值通常可作为指示环境污染引起的生物体氧化应激(van der Oost et al., 2003)的生物标志物。

(2) 活性氧

在正常的生理条件下,生物体内活性氧(ROS)的产生与抗氧化防御系统之间存在动态平衡机制,当生物体遭受污染物胁迫时,导致体内活性氧的产生超出平衡机制,从而造成生物的氧化损伤,此时机体产生氧化应激(oxidative stress)。而在污染物胁迫下,无论