

指示生物在海洋污染监测中的应用

Application of organisms in marine pollution monitoring

白树猛^{1,2}, 田黎^{1,2}

(1. 青岛科技大学 生物系, 山东 青岛 266042; 2. 国家海洋局 第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

中图分类号: X835

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)01-0080-04

伴随着社会经济和工业的快速发展, 人口的不断增长, 在生产和生活过程中产生的废弃物也越来越多, 这些废弃物的绝大部分最终直接或间接地进入海洋。当这些废物和污水的排放量达到一定的限度, 海洋便受到了污染。污染海洋的物质众多, 按污染物的性质和毒性, 以及对海洋环境危害方式, 大体可以把污染物分成以下几类: 一是营养盐类和有机物质, 如工业排出的无机氮、磷酸盐等, 生活污水中的粪便、洗涤剂; 二是重金属和酸碱类物质如汞、铜、锌、镉等重金属, 以及砷、硫、磷等非金属和各种酸碱; 三是有毒化学制品, 主要是化肥和农药的残留物^[1,2]。海洋污染与大气、陆地污染有很多不同, 其突出的特点: 一是污染源广, 不仅人类在海洋的活动可以污染海洋, 而且人类在陆地和其他活动方面所产生的污染物, 也将通过江河径流、大气扩散和雨雪降水等形式, 最终都将汇入海洋。二是持续性强。海洋是地球上地势最低的区域, 不可能像大气和江河那样, 通过一次暴雨或一个汛期, 使污染物转移或消除。近海海湾基本上是半封闭的, 屏蔽能力强, 作用于水体的外动力弱, 导致水体的更新周期延长, 一旦污染物进入海洋后, 很难再转移出去, 不能溶解和不易分解的物质在海洋中越积越多, 往往通过生物的浓缩作用和食物链传递, 对人类的健康及生产活动如养殖业等造成危害^[2]。

对海洋污染进行监测, 可以了解海洋污染状况, 从而为海洋污染管理和治理提供有效的帮助^[3]。常规的海洋污染监测方法主要为理化检测即利用仪器对海洋污染进行检测。虽然理化检测方法具有较高的精确度, 可以快速分析污染物的污染状况和程度。但理化检测只能对海洋污染状况进行局部的、瞬时的反映, 无法反映海洋的整体污染效应。由于环境污染成分复杂, 各种分子和各种离子之间既有协同作用, 又有拮抗作用, 以及相加作用等。同时, 污

染物的毒性还受到环境因子, 如 pH 值、酸碱性、水温等的影响, 理化监测只能检知各种污染物的含量和类别, 不能确切反映污染物对环境的综合效应, 尤其是对生物的综合效应。在评价污染危害时, 还要进一步进行生物实验, 而生物监测则直接把污染物与它们的毒性联系起来, 不仅可以预测污染对环境的综合效应, 还可以预测污染综合效应对生物的影响。

由此, 有关领域的科学家建立了生物检测方法, 来弥补理化污染检测的不足。生物与其生存环境具有协同性, 利用生物对环境变化所产生的反应, 直接判断水体中污染物的影响, 从而反映环境污染对生物体的危害。指示生物法是最经典的水体污染的生物监测方法之一。指示生物又叫做生物指示物, 是指那些在一定区域范围内, 能通过其特性、数量、种类、群落和生理生化代谢等变化, 指示环境污染特征的生物。利用指示生物对水质进行监测评价已具有较长的历史。早在 1908 年 Kolksitz 和 Marsson 等提出“污水生物系统”, 并为不同的水质有机污染带提出了指示生物。由于水生生物与其海洋环境之间是相互影响的, 一旦海洋水体受到污染, 其生物体就会表现出相应的变化。因此, 生物体的变化就可作为海洋环境状况的良好指标^[4,5]。根据污染监测生物的种类, 指示生物分为 3 大类: 指示动物、指示植物和指示微生物。

收稿日期: 2008-05-30; 修回日期: 2008-08-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40776098, 40976104); 国家“863 计划”项目 (2007AA09Z435, 2007AA091507, 2008AA09Z407)

作者简介: 白树猛 (1983), 男, 山东泰安人, 硕士研究生, 从事海洋微生物的研究; 田黎, 通信作者, 电话: 0532-88967423; E-mail: wshw8@yahoo.com.cn



1 指示动物

指示动物是指示生物监测方法中应用较广、研究较成熟的指示生物。水生动物易于辨认,对海洋环境变化敏感,能够在体内积累和代谢一定量的污染物。并且随着环境污染物浓度的不同,动物体内会发生不同的生理生化变化,根据此变化可以对海洋水质进行评价^[6]。

在利用指示动物进行海洋污染监测中,以贻贝和牡蛎监测研究和应用为最多。贻贝监测于1975年由美国科学家提出,受到一些国家有关领域科学家的重视,并成功应用于世界许多国家和地区的海洋监测工作中。贻贝监测是主要是利用双壳类软体动物体内的污染物含量,监测海洋污染状况,所采用的指示生物主要是贻贝和牡蛎^[7-9]。贻贝和牡蛎对金属元素具有很高的蓄积能力,通过测定体内污染物的含量、种类和机体的生理生化反应,来评价水体的污染状况。陆超华^[10]等研究牡蛎作为重金属镉的指示生物的可能性,通过测定牡蛎体内镉的含量,能如实地反映水中镉污染状况。目前,贻贝监测已经作为较成熟的生物监测方法被广泛应用于海洋环境检测中。

除了贻贝和牡蛎,河蚬也被用作指示生物。黄玉瑶、任淑智等^[11,12]应用河蚬研究蓟运河的 Hg 污染,发现河蚬体内的 Hg 含量与污染源相关,根据河蚬体内的 Hg 含量,可以反映该河的 Hg 污染程度。黄雪琴等^[13]从酶学角度,探讨了 Cd 污染与江蚬体内的碱性磷酸酶之间的关系,发现 Cd 能明显抑制碱性磷酸酶的活性。从已搜集的报道看,目前国内外该领域中,底栖无脊椎动物是研究和应用最多的水生指示生物^[14]。

鱼类也可作为水生指示生物,人们利用鱼类的生理生化指标包括细胞色素 P4501A1、金属硫蛋白和 DNA 加合物^[15]等来监测海洋污染状况。用鱼肝细胞色素 P4501A1 作为有机物污染的生物标志物,已经在野外现场研究实验中得到应用。Stegeman^[16]在其研究中发现,细胞色素 P4501A1 与污染物含量之间存在剂量反应关系,通过这种关系,可以根据细胞色素 P4501A1 可诱导性的变化,推测污染物的含量。金属硫蛋白存在于多种鱼体内,可以蓄积并反应水体中的金属元素。Hogstrand^[17]在实验中,检测到鱼体中的金属硫蛋白受 Cd 等金属的诱导,并与水体中金属含量呈现相关性。Thomas^[18]通过实验证明,苯并芘和芳香胺在鱼体内经代谢而产生亲电子的产物,与核酸和蛋白质结合,形成 DNA 加合物,从而有效指示这些污染物的程度。

2 指示植物

与海洋污染监测的指示动物不同,指示植物主要通过群体变化来反应水体的污染情况,目前应用较多的水生植物是藻类。污染物进入水体后,一旦被藻类吸收,就将会引起藻类生长代谢功能紊乱,从而改变水体中藻类的组成,通过分析藻类的种类和数量组成及变化,判断水质的污染性质和污染程度^[6]。此方法被应用于评价湖泊和海洋的水质变化情况。廖祖荷等^[19]曾通过研究浮游藻类的种类组成对桂湖水质进行监测评价,探讨了桂湖水质与浮游藻类之间的关系。研究发现该水域的藻类主要是硅藻和绿藻等,按藻类物种组成特点划分,桂湖水质属于硅-绿藻型湖泊。按“污水生物系统”关于藻类作为指示生物的标准:中污以上水质的指示藻类主要是蓝藻,寡污-清水水质的指示藻类主要是硅藻等。由此确定桂湖水质属于寡污-清水水质,水质环境良好。Clayton^[20]研究利用水生植物作为监测水体生态条件的指示生物。他认为应用水生植物可以更加宏观地检测水体变化情况,并且每年需要检测的次数较少。Antonella^[21]通过测量湖泊中金属铅含量,将水质污染状况分为四个时期,每个时期具有不同的优势硅藻类。绒毛平板藻在未污染的水体中占据优势,一旦水体受到污染就立刻消失。当水中 Cu 离子浓度变大时,脆杆藻成为优势藻类。但是随着 Zn、Cd、Fe 的含量增加,曲壳藻在水体中含量增多。随着水质的渐渐好转,淡水硅藻又重新出现在湖泊中,并且在水体表面大量生长。

藻类在不同水质环境的生理生化变化,也可作为污染监测指标。浩云涛^[22]等研究重金属铜、锌、镍、镉等元素对椭圆小球藻的生长状况和叶绿素 a 含量的影响。叶绿素 a 的含量与重金属浓度呈明显的负相关性。此结果表明,小球藻的生长抑制程度与重金属浓度具有正相关性。Ryther 等^[23]研究了江蕨对环境水体中的不同营养类型及浓度的生理生化反应的变化,指出江蕨可作为准确测量环境中生物可获得营养盐浓度变化的指示生物的可行性^[24,25]。

3 指示微生物

利用水生动物和植物作为指示生物虽然可以准确监测海洋环境,但动植物采集过程较困难,监测周期比较长。微生物取样方便,研究周期短,成本低,使其更容易在海洋污染监测中应用。水生动物和植物用于监测海洋环境污染,主要是通过生物体内的污染物积累和变化来反应,由于生物受污染的影响首先发生在细胞水平,当污染程度增大时,才会



产生生物个体和生态水平的效应。需要一定的时间才能反应出来,当人们可以通过动植物对海水进行检测时,海洋受到的污染已经很严重了^[26]。如果想在海洋污染初期发现并预防,微生物是最好的选择对象,微生物学参数的变化能够早期感应和预报海洋污染情况。

3.1 原核微生物

原核微生物中的细菌作为指示生物的研究较早,发光细菌和大肠杆菌是较典型的代表,正常情况下,发光细菌中的 FMNH₂ 和醛类在胞内荧光素酶的作用下,氧化生成 FMN、酸和水,释放出蓝绿色荧光。当污染物存在时,细菌的行为会变得异常,发光细菌的发光行为受到阻碍,引起荧光强度的变化,根据这种特征可以对有毒污染物进行定量分析。粪大肠杆菌群也是海洋和陆地水体常用的污染指示生物^[27]。该菌群来源于人和温血动物的粪便,当培养温度升高到 44.5℃ 时,仍能发酵乳糖产酸产气。利用多管发酵法得出其在水体中的数量,此数量可直接显示水体受粪便污染的程度。粪大肠杆菌已成为国际上通用的检测水体受粪便污染的指示菌。

随着生物技术的发展,DNA 技术和电泳技术也被用于进行环境污染状况评价。16s rDNA 技术可以准确地表现待测环境中原核微生物的种类和多样性。Roane^[28] 通过 16s rDNA 序列技术,分别对毒性金属污染和无污染的水体中的微生物进行检测。获得细菌在基因水平上的多样性,通过对不同环境下原核微生物的 16s rDNA 序列比较,证明金属污染的水体中可培养的细菌微生物数量和种类减少了。以后发展的变性梯度凝胶电泳技术能够把长度相同但序列不同的 DNA 片段区分开来,通过比较微生物种群多样性变化,预测环境污染的程度。

3.2 真核微生物

虽然细菌作为指示生物在一定的范围内得到应用,但是细菌结构简单,形态不易区别。而属于真核微生物的真菌个体较大,可产生明显的色素,易于观察。通过研究真菌可以推测污染对高等真核生物的影响。

目前国内外均有利用细菌作为淡水环境污染监测的报道^[29],尚未见真菌尤其是半知菌作为水体或海洋污染监测的指示生物。半知菌是真菌的一个重要类群,因在其成员的生活史中尚未发现有性阶段而得名。半知菌以其种类多、繁殖快、分布广、适应性强,易于人工培养的特点与人类生活息息相关,并在地球生态系统中的物质和能量转化中起重要的作用。半知菌一些种类对生长条件要求范围宽,对环境的适应性强,可在很短时间内在不良条件胁迫下,由不适应生长变为适应性生长。当海洋生态系统的

动态平衡遭受某种破坏时,这些半知菌会以其顽强的适应能力和极快的繁殖速度,迅速形成不同的微生物区系,调整和促进新动态平衡的形成;另一些种类则较敏感,周围环境的轻微变化就会引起其形态和色素变化,人们可利用半知菌这种群体和个体的变化,对海洋污染情况进行预测。沈敏等^[30] 研究不同浓度的重金属离子对青霉形态学的影响。通过梯度嵌合平板法将青霉在不同浓度的 Pb²⁺、Cu²⁺、Cr³⁺、Cd²⁺ 等培养基上进行培养,利用扫描电子显微镜观察青霉的形态学变化情况。结果表明,青霉形态学的变化与重金属离子浓度的变化呈一定的相关性,随着离子浓度的增加,菌体的生长能力越来越弱。并且青霉对不同离子的变化效应不同,对金属离子的忍受能力为 Pb²⁺ > Cr³⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺。根据此实验结果,可以筛选对重金属离子具有特定吸附能力的微生物,探讨其对重金属离子的反应差异。利用半知菌的酶类变化则可更灵敏和准确地预测周围环境的变化,刘建忠等^[31-33] 研究金属离子对黑曲霉的生理生化影响。他们选择过氧化氢酶和葡萄糖氧化酶作为生理生化指标。将黑曲霉培养在不同浓度和种类金属离子发酵液中进行产酶发酵,然后通过紫外分光光度法测定菌株在不同发酵液中产生的酶的活性。研究发现,添加金属离子后,过氧化氢酶和葡萄糖氧化酶的生物合成和活性受到抑制。K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ 对过氧化氢酶抑制强度为 Mg²⁺ < Na⁺ < Ca²⁺ < K⁺。对于葡萄糖氧化酶,Ag⁺、Hg²⁺ 对其有较强抑制作用,而 Cu²⁺ 对其基本无影响。此结果表明,微生物在不同离子浓度的环境下,体内生理生化指标会发生变化,并且变化程度具有差异性。尽管目前国内外对真菌作为指示生物研究的还很少,但是这些研究已显示半知菌所具有的特殊优势,预计其在海洋污染监测中将具有较大的发展潜力,尤其是随着对真菌分子生物学研究的深入和发展,有关半知菌 18s rDNA、ITS 等的研究也越来越多^[34],为半知菌的分类鉴定、多样性及系统发育等研究提供了十分重要的资料和依据。此项技术的应用比传统的生物学技术可更准确、灵敏地反应海洋环境的半知菌种群的消长动态及其分布,从而推断海洋污染状况。随着真菌基因芯片研究的发展,使得这种测试更具有实用性。

参考文献:

- [1] 王焱,胡本强,辛万光,等.我国海洋环境污染的现状、成因与治理[J].中国海洋大学学报(社会科学版),2006,5:1-6.
- [2] 张彬彬.海洋污染与监测[J].海洋地质动态,2004,20(3):1-4.
- [3] Brent T, Mirek S, Mary, et al. Ecological monitoring

and assessment network's proposed core monitoring variables: an early warning of environmental change [J]. **Environmental Monitoring and Assessment**, 2001, 67: 29-56.

- [4] Verlecar X N, Desai S R, Anupam S, *et al.* Biological indicators in relation to coastal pollution along Karnataka coast, India [J]. **Water Research**, 2006, 40: 3304-3312.
- [5] Casazza, Gianna, Silvestri, *et al.* The use of bio-indicators for quality assessments of the marine environment: Examples from the Mediterranean Sea [J]. **Journal of Coastal Conservation**, 2002, 8: 147-156.
- [6] 曾丽璇, 陈桂珠, 余日清, 等. 水体重金属污染生物监测的研究进展 [J]. **环境监测管理与技术**, 2003, 15(4): 12-15.
- [7] Khaled F N, Daniel C, Ghaby K, *et al.* *Brachidontes variabilis* and *Patella* sp. as quantitative biological indicators for cadmium, lead and mercury in the Lebanese coastal waters [J]. **Environmental Pollution**, 2006, 142: 73-82.
- [8] 杨小玲, 杨瑞强, 江桂斌. 用贻贝、牡蛎作为生物指示物监测渤海近岸水体中的丁基锡污染物 [J]. **环境化学**, 2006, 25(1): 88-91.
- [9] 阎启伦, 马德毅, 王淑芬. 贻贝监测的作用及其检测技术和方法 [J]. **海洋通报**, 1996, 15(4): 86-92.
- [10] 陆超华, 谢文造, 周国君. 近江牡蛎作为海洋重金属镉污染指示生物的研究 [J]. **中国水产科学**, 1998, 5(2): 79-83.
- [11] 黄玉瑶, 任淑智. 用河蚬监测蓟河汞污染的初步研究 [J]. **环境科学**, 1979, 1(6): 47-50.
- [12] 任淑智. 河蚬对蓟运河水体污染指示作用的研究 [J]. **环境科学**, 1984, 6(3): 4-8.
- [13] 黄雪琴, 龙玉博. 镉对江蚬 *Corbicula fluminalis* (Müller) 碱性磷酸酶的影响. **福建师范大学学报**, 1995, 11(2): 74-78.
- [14] Vincent H R. Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs [J]. **Environ Monit Assess**, DOI 10.1007/s10661-007-9749-4.
- [15] 李慧蓉. 生物监测技术及其研究进展 [J]. **江苏石油化工学院学报**, 2002, 14(2): 57-60.
- [16] Stegeman J J, Kloeper-Sams P J, Farrington J W. Monooxygenase induction and chlorobiphenyls in the deep-sea fish *Coryphaenoides armatus* [J]. **Science**, 1986, 231: 1287-1289.
- [17] Hogstrand C, Haux C. Metallothionein as an indicator of heavy metal exposure in two subtropical fish species [J]. **J Exp Mar Biol Ecol**, 1990, 138: 69-84.
- [18] Thomas P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring [A]. Adams S M. *Biological Indicators in Fish* [C]. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society 1990. 8: 9-28.
- [19] 廖祖荷, 周振明, 康彩艳, 等. 应用浮游藻类评价桂湖水质的研究 [J]. **湖南师范大学自然科学学报**, 2005, 28(4): 70-74.
- [20] Clayton J, Edwards T. Aquatic plants as environmental indicators of ecological condition in New Zealand lakes [J]. **Hydrobiologia**, 2006, 570: 147-151.
- [21] Antonella Cattaneo, Yves Couillard, Sybille Wunsam, *et al.* Diatom taxonomic and morphological changes as indicators of metal pollution and recovery in Lac Dufault (Quebec, Canada) [J]. **Journal of Paleolimnology**, 2004, 32: 163-175.
- [22] 浩云涛, 李建宏, 潘欣, 等. 椭圆小球藻 (*Chlorella ellipsoidea*) 对 4 种重金属的耐受性及富集 [J]. **湖泊科学**, 2001, 13(2): 158-162.
- [23] Ryther J H, Corwin N, DeBusk T A, *et al.* Nitrogen uptake by the red algae *Gracilaria tikvahiae* [J]. **Aquaculture**, 1981, 26: 107-115.
- [24] Gao K, McKinley K R. Use of macroalgae for marine biomass production and CO₂ remediation: a review [J]. **J Appl Phycol**, 1994, 1: 45-60.
- [25] Kursar T A, Alberte R S. Photosynthetic unit organization in a red alga: relationships between light-harvesting pigments and reaction centres [J]. **Plant Physiology**, 1983, 72: 409-414.
- [26] 范志杰, 宋春印. 海洋环境污染生物检测及其方案的设计研究 [J]. **交通环保**, 1995, 16(1): 1-10.
- [27] Robin W K, Bobby R, Huang Xiaqing, *et al.* A comparison of bacterial indicators and methods in rural surfacewaters [J]. **Environmental Monitoring and Assessment**, 2006, 121: 275-287.
- [28] Roane T M, Pepper I L. Microbial responses to environmentally toxic cadmium [J]. **Microbiol Ecol**, 1999, 38(4): 358-364.
- [29] 刘芳, 吴晓磊. 指示水体病原污染的微生物及其检测 [J]. **环境工程学报**, 2007, 1(2): 139-144.
- [30] 沈敏, 胡健, 刘意, 等. 重金属对青霉形态学影响的研究 [J]. **安徽农业科学**, 2007, 35(5): 1282-1283.
- [31] 刘建忠, 黄莹莹, 杨惠英, 等. 金属离子对过氧化氢酶的生物合成的影响 [J]. **中山大学学报(自然科学版)**, 1999, 38(3): 123-124.
- [32] 刘建忠, 杨惠英, 赵继伦, 等. 葡萄糖氧化酶及过氧化氢酶的生物合成 [J]. **中山大学学报(自然科学版)**, 1998, 37(1): 68-72.
- [33] 刘建忠, 杨惠英, 翁丽萍, 等. 静息细胞培养系统中葡萄糖氧化酶及过氧化氢酶的生物合成 [J]. **中山大学学报(自然科学版)**, 1998, 37(6): 125-126.
- [34] 刘春来, 文景芝, 杨明秀, 等. rDNA-ITS 在植物病原真菌分子检测中的应用 [J]. **东北农业大学学报**, 2007, 38(1): 101-106.
- [35] 刘春来, 杨明秀, 文景芝, 等. 大都疫霉菌 ITS 分子检测程序的建立及其应用 [J]. **微生物学通报**, 2007, 34(6): 1158-1162.

(本文编辑: 张培新)