

组学技术在海洋生态毒理学研究中的应用

徐英江¹, 刘鸽^{1,2}, 崔艳梅¹, 姜芳¹, 曹伟¹, 王明磊¹, 冷男¹, 杨玉芳¹, 宫向红¹, 田秀慧¹

(1. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东烟台 264006) (2. 上海海洋大学食品学院, 上海 200120)

摘要: 近年来我国沿海区域的城市化和工业化推动经济高速发展, 众多的重金属冶炼、加工等企业蓬勃发展, 随之而来的是大量工业废水排放到海洋中, 导致海洋污染问题日益加重。其中重金属由于高危险性及难治理性, 被认为是环境中重要的污染物之一。重金属等污染物在海洋环境中浓度累计达到一定程度后, 会影响生物体的正常生长发育, 进而对生物种群乃至整个生态系统的结构产生不可逆的破坏作用。随着系统生物学的不断发展, 为探求重金属等对海洋生物的生态毒性效应以及生物体的响应机制提供更加有力的工具。本文主要针对重金属污染现状、毒理效应以及基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢组学技术在海洋生态毒理学研究中的应用进行综述, 旨在为海洋重金属检测及环境风险评估提供理论参考。

关键词: 镉; 砷; 海洋生态毒理学; 组学技术

文章编号: 1673-9078(2020)05-329-336

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.043

Application of Omics in Marine Ecotoxicology: a Review

XU Ying-jiang¹, LIU Ge^{1,2}, CUI Yan-mei¹, JIANG Fang¹, CAO Wei¹, WANG Ming-lei¹, LEN Nan¹,
YANG Yu-fang¹, GONG Xiang-hong¹, TIAN Xiu-hui¹

(1. Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China)

(2. Department of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200120, China)

Abstract: In recent years, the urbanization and industrialization of China's coastal areas have promoted rapid economic development. Many enterprises of heavy metal smelting, processing, etc. have flourished. These led to a large amount of industrial wastewater, which has been discharged into the ocean, resulting in marine pollution. Among them, heavy metals are considered to be one of the important pollutants in the environment due to their high risk and difficult to treat. After the concentration of heavy metals and other pollutants reaches a certain level in the marine environment, it will affect the normal growth and development of the organisms, thereby causing irreversible damage to the structure of biological populations and even the entire ecosystem. With the continuous development of system biology, it could be provide a more powerful tool to explore the ecotoxic effects of heavy metals on marine organisms and the response mechanism of organisms. This paper focused on the status of heavy metal pollution, toxicological effects, and the application of genomics, transcriptomics and metabolomics techniques in marine ecotoxicology, aiming to provide a theoretical reference for marine heavy metal detection and environmental risk assessment.

Key words: cadmium; arsenic; marine ecotoxicology; omics technology

引文格式:

徐英江, 刘鸽, 崔艳梅, 等. 组学技术在海洋生态毒理学研究中的应用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 329-336

XU Ying-jiang, LIU Ge, CUI Yan-mei, et al. Application of omics in marine ecotoxicology: a review [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 329-336

我国海区是由渤海、黄海、东海和南海四部分组成, 地域辽阔。中国大陆的东面和南面均为中国海区所环绕, 南北跨距长达 4000 多公里, 总面积为 480

收稿日期: 2019-10-21

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1600702); 山东省现代农业产业技术体系藻类创新团队加工与质量安全控制岗项目(SDAIT-26-05); 山东省农业重大应用技术创新项目(SF1805301301)

作者简介: 徐英江(1979-), 男, 副研究员, 研究方向: 食品质量与安全
通讯作者: 田秀慧(1982-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品质量与安全

万平方公里, 海岸线长度达 1.8 万多公里, 纵向包含了温带、亚热带和热带三个气候带, 沿海有暖、寒流交汇, 且沿岸岛屿、港湾较多, 滩涂面积广阔, 得天独厚的地理优势使我国发展成世界上最大的渔业生产国。随着近 20 年我国经济的飞速发展, 渔业发展取得了突飞猛进的进展的同时, 沿海工业也迅速崛起, 排入各个海域的污水量不断增加, 来自各方面的污染对海洋环境造成不同程度的破坏, 污染物的长期增加和累积给海洋带来一系列的环境问题, 诸如重金属污染等问题日益突出, 我国海洋生态环境整体的趋势不容

乐观。2017年中国海洋生态环境状况公报结果显示,河口和海湾附近海域部分生物体内镉、铅和砷残留水平较高,使得鱼卵仔鱼密度总体偏低^[1]。重金属污染具有高危害性和难治理性^[2,3],在环境中累积达到一定的浓度后,对生态系统造成不可逆的破坏。重金属污染已然成为严峻的环境难题,引起社会广泛关注^[4,5]。

海洋中的重金属主要分成天然来源和人为来源两个方面,天然来源主要是火山爆发、地壳岩石风化、大气沉降等,人为来源包括矿产和海洋油田的开采、工业污水的排放、劣质化肥的使用等^[6]。人为来源重金属污染物通过入海河流的途径进入到海洋,成为海洋生态环境破坏的主要来源。渤海湾是我国容纳污染物最多的海域,占全国总量的1/3,其重金属含量超出正常水平约24倍^[7]。王丽平^[8]等对天津渤海湾近岸海洋沉积物中四种重金属铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)和锌(Zn)的污染特征连同潜在生态风险展开调查,发现Cd污染最为严重,Cu污染量有所增加。许艳^[9]等通过对渤海湾沉积物中重金属的浓度展开分析,发现Hg、Cu、Cd质量浓度的平均值均超越中国所有海域的平均值,其中Hg和Cd已经超出标准。孙钦帮^[10]等在2014年分别对渤海湾近海海域的16个采样站位中的7种常见重金属的含量开展了测定,发现Cu、Cd、Cr和Hg含量的平均值均大于沉积物重金属参考值,其中Cd和As的单元素平均含量潜在风险等级已然到达“中等”。王惠艳等^[11]在2016年分析评价渤海湾100个站位浅表沉积物中重金属元素的含量,结果表明在高值区,Pb和Cu属于轻度污染,而Cd已然达到中等程度的生态危害,相比2014年有所改善。

除渤海湾外,其他海域均呈现出不同水平的重金属污染局面。郭福星^[12]分析研究了东海、黄海两个海域的80个表层沉积物样品,结果表明黄海表层沉积物中具有潜在影响的重金属主要是Cd,分布在长江口南端以及象山以东。王教凯^[13]等研究了东海内陆架两个沉积岩芯DH33和KP04中重金属的含量,生态风险评价结果显示,仅岩芯KP04在20世纪90年代和20世纪30年代处于“中度污染”级别,且主要是由Hg、Cd、As引起。通过对各个海域重金属污染情况调查的数据进行分析,我们发现各个海域沉积物中存在不同程度的重金属污染。海洋沉积物在海洋生态环境中的作用十分重要,不仅能够通过吸附和解吸作用与水体进行物质交换,对水体环境造成污染;此外作为底栖生物生活的主要场所,沉积物中的重金属污染物会直接或间接的对海洋生物体产生毒性,并且会通过食物链富集^[14]。所以有必要从毒理学的角度对重金属污染物对海洋生物的毒理效应展开研究,从而为重金属

的生物污染检测以及环境质量风险评估提供理论依据。

1 重金属对海洋生物毒理效应的研究概况

重金属污染物具有致癌、致畸、致死等毒性效应,同时重金属具有不降解、易在生物体内蓄积的特性,通过食物链进行转移和富集,并且会逐级累积放大,最终影响整个生态系统。所以重金属污染对海洋生物的毒理效应及其致毒机制一直被国内外海洋生态环境领域当作研究的热点^[15]。

1.1 Cd对海洋生物毒理效应的研究

镉(Cadmium, Cd)是海洋生物体非必须的重金属元素,性质稳定且不易降解,易在生物体内蓄积,所以会对生物各方面造成不同程度的损伤。Cd的所有化学形态都是有毒的^[16],其中离子状态危害最大^[17]。所以绝大多数的学者采用离子态的镉进行毒暴实验,探究其毒性机制。

Han^[18]等研究发现在Cd²⁺暴露后斑马鱼幼虫游泳速度降低并且失去平衡控制。冯志桐^[19]等以斑马鱼为研究对象,进行不同浓度的CdCl₂毒暴实验,发现0.1 μM的CdCl₂可抑制斑马鱼胚胎的孵化,并且随着浓度的上升,胚胎的24 h血流障碍、56 h死亡数及56 h孵化抑制等指标均呈现上升趋势。由于生物体会在污染物入侵时释放溶菌酶,通过溶解杀伤细菌发挥防御功能^[20]。所以冯志桐等进一步以转基因斑马鱼T_g(lyz:EGFP)-Lyz fish为模型进行溶菌酶荧光标记实验,结果显示中性粒细胞数量与CdCl₂浓度呈正相关且有向肝脏部位转移的趋向,造成免疫失衡。

此外Cd胁迫可能会对海洋生物的基因表达过程产生影响。Cd可攻击鳗鱼(*Anguillidae*)卵巢线粒体,使得环氧化酶1(cox1)、线粒体ATP酶、细胞色素c(cytc)和NADH脱氢酶5(ND5)基因的表达水平下降,最终导致卵母细胞无法成熟^[21]。师玲^[22]等研究,经Cd暴露后,在鲫鱼鳃组织中P-糖蛋白基因表达明显上升,并且具有剂量相关性。类似的结果也出现在霍礼辉^[23]等对不同浓度Cd²⁺胁迫下,缙蛭软体组织中金属硫蛋白mRNA表达量的研究中。

1.2 As对海洋生物毒理效应的研究

砷(Arsenic, As)为类金属,作为生物体必须的微量元素,在自然界中普遍存在,一般认为砷的存在形态分为有机和无机两种。无机砷化合物亚砷酸盐和砷酸盐有剧毒^[24]。一甲基砷(MMA)和二甲基砷(DMA)具有中等毒性,而砷甜菜碱(AsB)、三甲基

砷 (TMAO)、砷胆碱 (AsC) 和四甲基砷 (TEMA) 无毒^[25]。As (III) 的毒性约是 As (V) 约是的 60 倍^[26], 但是环境中 As (V) 的含量远高于 As (III)。目前对于 As (III) 和 As (V) 的毒性研究既包括生物利用率又有在生物体内的转化。

李巧梅^[27]等以紫贻贝为实验对象进行 30 d 的 As (III) 的暴露实验后, 发现长期在低浓度 As (III) 暴露即可导致紫贻贝肝胰腺和鳃组织的脂质过氧化, 且对紫贻贝鳃组织的影响更加显著。Lam^[28]等对斑马鱼进行 96 h 的 As (V) 暴露实验, 结果表明 DNA 和蛋白质损伤是由砷代谢和氧化应激反应引起的。Haggard^[29]等研究发现在缺锌和低水平砷暴露会使斑马鱼胚胎活力下降 40%。Russell^[30]等发现虹鳟蠕虫对水性 DMA 比对无机砷更敏感。另有报道指出 As 会干扰牡蛎的能量和脂质代谢^[31], 且盐度会影响牡蛎胚胎对 As 的敏感度^[32]。还有研究报道表明, As 会干扰海洋生物的细胞凋亡, 影响海洋生物内环境的稳态, 导致细胞死亡率上升^[33,34]。

砷会对海洋生物基因表达造成不同的影响。Britton^[35]等检查了盐度和砷对鲑鱼鳃中 miRNA 表达的个体和组合效应, 并发现 miR-135b 在响应砷和转移至盐水后 24 h 差异表达。Mondal^[36]等以斑马鱼为试验样品, 研究砷和氟化物混合效应对转录因子 Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid-2-Related Factor 2) 和相关异生物代谢酶的表达的影响, 发现在每一个时间点共同接触砷和氟化物改变了 Cu/Zn 超氧化物歧化酶、Mn 超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶 (Gpx) 和编码还原型辅酶/醌氧化还原酶 (Nqo1) 的基因表达, 首次证明在单独和结合接触砷和氟化物后, 斑马鱼肝脏中 Nrf2 和其他应激反应基因的表达差异。

1.3 其他重金属对海洋生物毒理效应的研究

铅 (Lead, Pb), 同样作为生物非必需元素之一, 在自然界中分布范围广泛, 在环境中可以通过生物浓缩达到剧毒的水平, 从而对生物正常的生长发育产生不利影响。Qian^[37]等对幼年大口黑鲈进行急性铅暴露实验, 结果显示肝脏中的免疫应答和凋亡途径被激活。Zhang^[38]等用斑马鱼作为模型研究神经系统形态的改变并检验发育性 Pb 神经毒性是通过神经元生长和轴突运输功能的改变部分介导的假设, 但还需要进一步研究以确定是否会产生持久的功能影响。

汞 (Mercury, Hg), 尤其是其有机形式, 甲基汞 (MeHg), 是一种持续性的环境污染物, 可沿着生物链进行放大, 在鲸鱼等高营养生物体内发生生物累积^[39]。日本鳗在暴露于二价汞离子后, 鳃片与大量细胞

崩解和坏死脱落之间的粘附, 肝组织经历充血和肿胀, 出现血斑^[40]。除此之外汞暴露会产生致畸, 神经毒性和生殖毒性。最终对海鱼的生存, 生长和行为造成伤害^[41]。

铬 (Chromium, Cr), 作为生物必需的微量元素, 同时也是一种毒性较强的重金属。氧化状态下的铬具有更强的毒性以及致癌性, 是判断工业污染的重要指标之一^[42]。在海洋环境中通过生物的呼吸作用进入生物体的不同组织部位, 并沿着食物链迁移和富集, 对海洋生物产生潜在危害。有研究表明, 长期 Cr (VI) 暴露会导致许氏平鲈体内抗氧化酶活性发生明显改变^[43]。氧化应激反应通常被当作是主要危害。除此之外, Cr 的毒性效应还包括免疫、生殖以及遗传毒性^[44]。

2 组学技术在海洋生态毒理学研究中的应用

随着系统生物学的不断发展, 为研究生物生态毒理效应以及生物体对外来刺激的响应机制提供了更有效的工具。利用高通量手段检测生物体在受到外来胁迫刺激之后分子水平 (基因、蛋白质和代谢物) 上的变化, 能够获得生物体接受外来刺激响应的全部信息。改进了传统毒理学的滞后性和被动性的缺点。因此, 将组学技术应用在海洋生态毒理学的研究中可以更深入地研究污染物的毒理效应。目前常用的组学技术有基因组学、转录组学、蛋白质组学以及代谢组学^[45]。

2.1 基因组学在海洋生态毒理学研究中的应用

基因组学的概念最早是由 Winkler 在 1920 年提出的^[46], 研究生物基因和如何操控基因, 包括基因作用、测序和整个基因组结构和功能分析等方面的一门学科。作为遗传学的分支, 基因组是系统生物学研究的基础, 也是最早应用在生态毒理学研究中的组学技术^[47]。随着基因测序技术逐渐成熟发展, 全基因测序生物涉及的生物已经不局限于哺乳动物, 涉及的范围也逐渐扩大。目前牡蛎^[48]、斑马鱼^[49]、大黄鱼^[50]等生物的全基因测序已经完成并绘制出了全基因序列图谱。为组学技术的发展创新打下了坚实的基础, 同时这些生物也可以作为海洋环境检测的标志。全基因测序完成的生物可以通过 DNA 微阵列技术, 高通量的对比两个样本的基因表达谱的差异, 包括 DNA 水平和 mRNA 水平, 通过分析基因功能以解释污染物的毒性机制。但是目前全基因测序的物种较少, 是基因组学技术在生态毒理学研究中最大的阻碍。

2.2 转录组学在海洋生态毒理学研究中的应用

转录组指细胞或组织转录出来的所有 RNA 的总

和^[51], 转录组学是在整体水平上分析研究细胞中基因转录的情况及转录调控规律的一门学科, 主要是在 RNA 水平研究基因的表达情况。同一细胞在不同生长时期以及生长环境下, 基因的表达情况不完全相同, 所以转录组的定义中包含了时间和空间的限定。通过转录组谱反映的特定前提条件下基因表达相关的信息, 可以推断相应未知基因的功能, 从而揭示特定调控基因的作用机制。

通过测序技术揭示造成差异的情况, 已是目前最常用的手段。传统用于转录组数据获得和分析的方法主要有基于杂交技术的芯片技术包括 cDNA 芯片和寡聚核苷酸芯片, 基于测序技术的基因表达系列分析 SAGE (serial analysis of gene expression, SAGE)、大规模平行信号测序系统 MPSS (massively parallel signature sequencing, MPSS)、全长 cDNA 文库和 EST (expressed sequence tag) 文库方法, 但是这两种技术手段均存在一定的缺陷, 目前经常使用的二代测序技术的转录组分析称为 RNA-Seq^[52]。

Haggard^[26]等利用斑马鱼模型来检验父母锌缺乏使发育中的胚胎对低浓度 As 毒性敏感, 并且可能增加患糖尿病等慢性疾病的风险。崔国祯^[53]等利用转录组学探讨铝对斑马鱼的神经毒性作用, 数据结果显示, AlCl₃ 处理组与对照组相比, Neurogenin 1 等 19 个与神经疾病相关的基因表达产生显著变化, 22 个显著变化的基因富集在 MAPK 信号通路。Mehinto^[54]等对成年大口黑鲈进行低剂量镉暴露实验, 发现转录组谱具有组织特异性。通过对差异表达基因所在通路分析, 可以对表型差异进行预判, 所以有必要对生物进行转录组基因测序, 寻找差异表达基因, 从而能够更好的了解生物体对重金属等污染物的毒性响应机制。

2.3 蛋白质组学在海洋生态毒理学研究中的应用

蛋白质组的概念最早是 1994 年由澳大利亚学者 Marc Winkins 等提出, 指由一个基因组或一个细胞乃至一种生物表达的所有蛋白质。与传统生化分析不同的是, 蛋白质组学的方法可以同时分离复杂混合物中的全部蛋白质并进行分析, 从而可以探讨生物体在环境胁迫下蛋白质的变化^[55]。通过对发生相应的蛋白质进行定量、定性的分析, 可以解释生命活动发生变化, 从而阐明污染物的毒理效应, 进而可以筛选出新的生物标记物^[56,57]。

当下常用的实验技术分为蛋白质分离技术和蛋白质鉴定技术, 其中蛋白质分离技术包括双向凝胶电泳

(SDS-PAGE) 和高效液相色谱 (HPLC); 蛋白质鉴定技术则主要利用质谱 (MS) 技术^[58]。而随着同位素及荧光标记技术的快速发展, 同位素标记相对和绝对定量技术 (iTRAQ) 等更为先进的技术开始出现^[59]。这些技术的出现使得蛋白质组学相关研究的效率和准确度有了大幅度的提升, 在生命科学发展中发挥着重要的作用。

Schauer^[60]等使用无标记定量分析了海湾鳕鱼前肠中响应高钠盐暴露, 并且参与消化和营养吸收的蛋白质, 结果显示出更高的蛋白质丰度。Manduzio^[61]等研究了原油对紫贻贝的毒理效应, 蛋白质组学结果显示, 紫贻贝组织中的重金属结合蛋白、肌动蛋白等均发生变化。

由此可见, 通过对差异蛋白进行上下游的分析, 可以清楚的了解前提发生的实时变化, 所以将蛋白质组学应用于海洋生态毒理学领域中可以更好的阐明污染物的毒性机制。但是目前用于环境质量检测的贝类大多数没有获得全基因组信息, 导致实验所得的一部分差异蛋白为未知蛋白, 无法应用于毒性机制的研究^[59], 所以目前在海洋生态毒理学中的应用较少。此外, 很多低丰度表达的蛋白质信息很难获取和分析^[62]。

2.4 代谢组学在海洋生态毒理学研究中的应用

代谢组学是在基因组学和蛋白质组学之后的又出现一个高通量组学技术, 通过对生物体内所有代谢物 (大多数为相对分子质量 1000 以内的小分子物质) 进行定量分析, 监测生物代谢物的变化同时寻找与生理病理变化之间关系的研究方式, 这个概念最早是由 Nicholson^[63]等在 1999 年提出的, 由于代谢组学研究方法可以实时无损地监测机体的生理状态, 动态地评价药物及污染物的毒性效应, 在毒性效应评估中发挥了不可替代的作用, 现在已然发展成为系统生物学研究领域至关重要的组成部分。与基因组学和蛋白质组学相比, 代谢组学有独特的优势: 首先代谢物更能反映细胞的生存环境, 而且与细胞的营养状况, 药物和环境污染物的作用, 以及其它外界因素的关系十分紧密; 其次它不需要全基因组测序; 最后代谢物基本相似, 导致种类较少, 分析和鉴定简单。所以代谢组学常被用来评估水生环境的污染状况^[64]。目前应用比较广泛的代谢组学分析技术包括核磁共振 (NMR) 和色谱-质谱联用, 其中包括气相/液相色谱-质谱 (GC/LC-MS) 和超高效液相-质谱 (UPLC-MS)^[65]。

在生态毒理学的研究中, 通常是通过检测毒暴实验后生物体内代谢物的变化种类、数量以及规律, 由此推断生物体对污染物的响应机制。Wu^[66]等利用基于

核磁共振技术的代谢组学研究不同海水盐度下 As 对菲律宾蛤仔的毒理效应。结果显示砷会影响菲律宾蛤仔的渗透压调节和能量代谢过程。同时 Wu^[67]等还采用了基于核磁共振技术的代谢组学分析对比了两种菲律宾蛤仔在经过 Cd 和 Zn 毒暴实验后代谢物的响应情况。Huang^[68]利用代谢组学来分析铁氧化物纳米颗粒 (FeOX NPs) 对胚胎幼虫斑马鱼发育毒性的潜在机制。宋月^[69]在布洛芬对斑马鱼毒暴实验中筛选出涉及能量代谢、氧化应激、神经发育、基因调控等方面的 45 种生物标志物。Fu^[70]等通过 GC-MS 在经三氯生暴露实验后的斑马鱼胚胎中鉴定分析出 29 种代谢物,涉及能量代谢、氨基酸代谢以及氮代谢等方面。Jia^[71]等将斑马鱼暴露于浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$ 的水胺硫磷中,通过代谢组学分析发现亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸和丙氨酸均增加。

通过寻找差异代谢产物,并对其所在的通路进行分析,可以快速高效的反映机体发生的变化,进一步可探究其表型变化,从而可以展示污染物的毒性效应以及生物体的响应机制。

3 展望

3.1 海洋重金属污染情况日益加剧,已然在全世界范围内引起广泛的关注,海洋污染治理势在必行。针对重金属生态风险评估与毒性机理的研究日益成为热点研究问题。但是重金属对生物体的毒性影响是多方面的,在面临重金属胁迫时,生物体会调整原本的生理生化活动以达到维持自身内环境稳态的目的,这就会造成生物体内生理生化过程发生改变。因此不仅要了解 Cd 和 As 等重金属对海洋生物的毒害表现,也要研究海洋生物响应重金属胁迫的应答机制,可以更加系统全面的了解重金属的毒性效应。

3.2 系统生物学中高通量组学技术可以在分子水平上的变化进行检测,可以获得生物体在重金属污染物刺激后发生相应的全部信息。基因组学作为研究基础,蛋白质组学可以反映生物体当前的生活状态,而代谢组学能够描述生物体发生过的变化,可以系统的分析重金属对扇贝的毒理机制,为海洋中重金属检测以及环境风险评估提供有价值的理论参考。

参考文献

[1] 国家海洋局.中国海洋生态环境状况公报[N]. 中国海洋环境质量公报,2018-06-06
State Oceanic Administration. Bulletin on the State of China's Marine Eco-Environment [N]. China Marine Environmental Quality Bulletin, 2018-06-06

[2] Xu Xiaoda, Cao Zhimin, Zhang Zhixun, et al. Spatial distribution and pollution assessment of heavy metals in the surface sediments of the Bohai and Yellow Seas [J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 110(1): 596-602

[3] El Heni Jihen, Messaoudi Imed, Hamouda Fatima, et al. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: histology and Cd accumulation [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(11): 3522-3527

[4] Liu Xiaoshou, Jiang Xin, Liu Qinghe, et al. Distribution and pollution assessment of heavy metals in surface sediments in the central Bohai Sea, China: A case study [J]. Environmental Earth Sciences, 2016, 75(5): 364

[5] Zhan Shuifen, Peng Shitao, Liu Chunguang, et al. Spatial and temporal variations of heavy metals in surface sediments in Bohai bay, north China [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 84(4): 482-487

[6] 贺亮,范必威.海洋环境中的重金属及其对海洋生物的影响[J].广州化学,2006,31(3):63-68
HE Liang, FAN Bi-wei. The heavy metals in the marine environment and their effects on marine life [J]. Guangzhou Chemical Industry. 2006, 31(3): 63-68

[7] 夏娜娜,王军,史云娣,等.海洋重金属污染防治的对策研究[J].资源与环境,2012,22(5):343-346
XIA Na-na, WANG Jun, SHI Yun-di, et al. Study on the countermeasures of marine heavy metal pollution prevention and control [J]. Resources and Environment, 2012, 22(5): 343-346

[8] 王丽平,雷坤,乔艳珍.天津渤海湾近岸海域沉积物中4种常见重金属的分布及其风险分析[J].海洋环境科学,2017,36(5):693-698
WANG Li-ping, LEI Kun, QIAO Yan-zhen. Distribution and risk analysis of four common heavy metals in sediments in the coastal waters of the Bohai bay, Tianjin [J]. Marine Environmental Science, 2017, 36(5): 693-698

[9] 许艳,王秋璐,李潇,等.环渤海典型海湾沉积物重金属环境特征与污染评价[J].海洋科学进展,2017,35(3):428-438
XU Yan, WANG Qiu-zhen, LI Xiao, et al. Environmental characteristics and pollution assessment of heavy metals in typical gulf sediments from the Bohai Sea [J]. Advances in Marine Science, 2017, 35(3): 428-438

[10] 孙钦帮,王阳,张冲,等.渤海湾西南部近岸海域表层沉积物重金属的含量分布与污染评价[J].人民珠江,2016,37(10): 89-93
SUN Qin-bang, WANG Yang, ZHANG Chong, et al. Content

- distribution and pollution assessment of heavy metals in surface sediments in the coastal waters of southwestern Bohai bay [J]. People's Pearl River, 2016, 37(10): 89-93
- [11] 王惠艳,陈亮,胡树起,等.渤海湾西部海域表层沉积物重金属含量分布与评价[J].物探与化探,2016,40(3):609-613
WANG Hui-yan, CHEN Liang, HU Shu-qi, et al. Distribution and evaluation of heavy metal contents in surface sediments from the western Bohai bay [J]. Geophysical and Geochemical Exploration, 2016, 40(3): 609-613
- [12] 郭福星.东、黄海海域沉积物中重金属、生源要素的分布特征和生态风险评价[D].广州:暨南大学,2011
GUO Fu-xing. Distribution characteristics and ecological risk assessment of heavy metals and biogenic elements in sediments of the East and Yellow Seas [D]. Guangzhou: Jinan University, 2011
- [13] 王教凯,赵宗山.百年来东海内陆架沉积物中重金属的累积过程及生态风险变化[J].长江流域资源与环境,2014,23(12): 1721-1728
WANG Jiao-kai, ZHAO Zong-shan. The accumulation process and ecological risk of heavy metals in the sediments of the East China Sea over the past 100 years [J]. Journal of Yangtze River Resources and Environment, 2014, 23(12): 1721-1728
- [14] Luo Wei, Lu Yonglong, Wang Tiewu, et al. Environmental concentrations and bioaccumulations of cadmium and zinc in coastal watersheds along the Chinese northern Bohai and Yellow Seas [J]. Environmental Toxicology, 2013, 4(32): 831-840
- [15] Aslihan Babayigit, Dinh Duy Thanh, Anitha Ethirajan, et al. Assessing the toxicity of Pb- and Sn-based perovskite solar cells in model organism *Danio rerio* [N]. Scientific Reports, 2016-1-13
- [16] 许友卿,刘永强,陈亨德,等.镉对水生动物繁育和生长的影响及机理[J].饲料工业,2019,40(10):1-5
XU You-qing, LIU Yong-qiang, CHEN Heng-de, et al. Effects and mechanism of cadmium on aquatic animal breeding and growth [J]. Feed Industry, 2019, 40(10): 1-5
- [17] Arnold V Hallare, Martin Schirling, Till Luckenbach, et al. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. Journal of Thermal Biology, 2005, 30(1): 7-17
- [18] Han Jian, Liu K, Wang R C, et al. Exposure to cadmium causes inhibition of otolith development and behavioral impairment in zebrafish larvae [J]. Aquatic toxicology, 2019, 214: 105236
- [19] 冯志桐,赵爽,潘炯,等.镉对转基因斑马鱼的急性毒性效应[J].天津理工大学学报,2019,35(2):61-64
FENG Zhi-tong, ZHAO Shuang, PAN Jiong, et al. Acute toxic effects of cadmium on transgenic zebrafish [J]. Journal of Tianjin University of Technology, 2019, 35(2): 61-64
- [20] Laura Canesi, Michele Betti, Caterina Ciacci, et al. Cell signalling in the immune response of mussel hemocytes [J]. Invertebrate Survival Journal, 2006, 3(1): 40-49
- [21] David E Kime, Mansour Ebrahimi, Mansour Ebrahimi. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution on sperm quality of fish; application to the effects of heavy metals [J]. Aquatic Toxicology, 1996, 36(3/4): 223-237
- [22] 师玲,刘晓宇.重金属镉在鲫鱼鳃组织中的积累及其对P-糖蛋白基因表达的影响[J].食品工业科技,2019,40(19):221-225
SHI Ling, LIU Xiao-yu. Accumulation of heavy metal cadmium in the tissues of *Carassius auratus* and its effect on P-glycoprotein gene expression [J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(19): 221-225
- [23] 霍礼辉,陈彩芳,林志华,等.镉诱导缙蛭(*Sinonovacula constricta*)体内金属硫蛋白基因变化规律研究[J].海洋与湖沼,2012,43(4):723-728
HUO Li-hui, CHEN Cai-fang, LIN Zhi-hua, et al. Cadmium induced respectively (*Sinonovacula constricta*) *in vivo* metallothionein gene variation law study [J]. Journal of Ocean and Limnetic, 2012, 43(4): 723-728
- [24] 赵艳芳,段元慧,尚德荣,等.我国几种重要经济贝类中砷的含量及其形态特征转化规律[J].水产学报,2013,37(5):735-741
ZHAO Yan-fang, DUAN Yuan-hui, SHANG De-rong, et al. The content of arsenic and its morphological characteristics in several important economic shellfish species in China [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(5): 735-741
- [25] Dang Q Hung, Olga Nekrassova, R Compton. Analytical methods for inorganic arsenic in water: A review [J]. Talanta, 2004, 64(2): 269-277
- [26] Vinny Naidoo, Kerri Wolter, Ian Espie, et al. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment [J]. Environmental Science & Technology, 1999, 33(21): 3697-3705
- [27] 李巧梅,王清,吴惠丰,等.As(III)暴露对紫贻贝抗氧化酶活性和脂质过氧化的影响[J].海洋通报,2013,32(4):429-433

- LI Qiao-mei, WANG Qing, WU Hui-feng, et al. Effects of As (III) exposure on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation of purple mussels [J]. *Marine Science Bulletin*, 2013, 32(4): 429-433
- [28] Siew Hong Lam, Cecilia Lanny Winata, Yan Tong, et al. Transcriptome kinetics of arsenic-induced adaptive response in zebrafish liver [J]. *Physiological Genomics*, 2006, 27(3): 351-361
- [29] Haggard, Derik E, Das, et al. Comparative toxicogenomic responses to the flame retardant mTP in developing zebrafish [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2017, 30(2): 508-515
- [30] Russell J Erickson, David R Mount, Terry L Highland, et al. The effects of arsenic speciation on accumulation and toxicity of dietborne arsenic exposures to rainbow trout [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 210: 227-241
- [31] Xu Lanlan, Ji Chenglong, Wu Hui-feng. A comparative proteomic study on the effects of metal pollution in oysters *Crassostrea hongkongensis* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 112: 436-442
- [32] Moreira Anthony, Figueira Etelvina, Libralato Giovanni, et al. Comparative sensitivity of *Crassostrea angulata* and *Crassostrea gigas* embryo-larval development to As under varying salinity and temperature [J]. *Marine Environmental Research*, 2018, 140(9): 135-144
- [33] Marisa D Pulido, Alan R Parrish. Metal-induced apoptosis: mechanisms [J]. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2003, 533(1): 227-241
- [34] H de la Fuente, D Portales-Pérez L, Baranda, et al. Effect of arsenic, cadmium and lead on the induction of apoptosis of normal human mononuclear cells [J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2002, 129(1): 69-77
- [35] Goodale Britton C, Hampton Thomas H, Ford Emily N, et al. Profiling microRNA expression in Atlantic killifish (*Fundulus heteroclitus*) gill and responses to arsenic and hyperosmotic stress [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 206(1): 142-153
- [36] Mondal Paritosh, Shaw Pallab, Bandyopadhyay Arindam, et al. Mixture effect of arsenic and fluoride at environmentally relevant concentrations in zebrafish (*Danio rerio*) liver: Expression pattern of Nrf2 and related xenobiotic metabolizing enzymes [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 213: 105219
- [37] Qian Baoying, Xue Liangyi, Qi Xin, et al. Gene networks and toxicity/detoxification pathways in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) liver induced by acute lead stress [J/OL]. *Genomics*, 2019-6-24
- [38] Zhang Jun, Samuel M Peterson, Gregory J Weber, et al. Decreased axonal density and altered expression profiles of axonal guidance genes underlying lead (Pb) neurodevelopmental toxicity at early embryonic stages in the zebrafish [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2011, 33(6): 715-720
- [39] Joanna L Kershaw, Ailsa J Hall. Mercury in cetaceans: Exposure, bioaccumulation and toxicity [J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 694: 133683
- [40] Tang Yuanqiang, Liu Yunguo, Zhang Tao, et al. Acute toxicity of divalent mercury ion to *Anguilla japonica* from seawater and freshwater aquaculture and its effects on tissue structure [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(11): 1965
- [41] Zheng Na, Wang Sujing, Dong Wu, et al. The toxicological effects of mercury exposure in marine fish [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, 102(5): 714-720
- [42] Stohs S J. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1995, 18(2): 321-336
- [43] Jun-Hwan Kim, Ju-Chan Kang. Oxidative stress, neurotoxicity, and metallothionein (MT) gene expression in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* under the different levels of dietary chromium (Cr^{6+}) exposure [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 125(1): 78-84
- [44] Danadevi K, Rozati Roya, Reddy P P, et al. Semen quality of Indian welders occupationally exposed to nickel and chromium [J]. *Reproductive Toxicology*, 2003, 17(4): 451-456
- [45] 梁雪芳, 查金苗, 程钢, 等. 蛋白组学技术的发展及在水生态毒理学中的应用[J]. *生态毒理学报*, 2012, 1: 10-24
- LIANG Xue-fang, ZHA Jin-miao, CHENG Gang, et al. Development of proteomics technology and its application in aquatic ecotoxicology [J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2012, 1: 10-24
- [46] Mckusick Va. Genomics: Structural and functional studies of genomes [J]. *Genomics*, 1997, 45(2): 244-249
- [47] Emile F Nuwaysir, Michael Bittner, Jeffrey Trent, et al. Microarrays and toxicology: The advent of toxicogenomics [J]. *Molecular Carcinogenesis*, 1999, 24: 153-159

- [48] Zhang Guofan, Fang Xiaodong, Guo Ximing, et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation [J]. *Nature*, 2012, 490: 49-54
- [49] Howe Kerstin, Clark Matthew D, Torroja Carlos F, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. *Nature*, 2013, 496: 498-503
- [50] 中国科学家成功绘制大黄鱼全基因组图谱[J]. *水产养殖*, 2011, 32(4):7-7
Chinese scientists have successfully mapped the whole genome of large yellow croaker [J]. *Aquaculture*, 2011, 32(4): 7-7
- [51] 曹园, 高美风, 孔毅. 转录组和蛋白质组在动物毒素研究中的应用[J]. *药物生物技术*, 2018, 25(4):340-344
CAO Yuan, GAO Mei-feng, KONG Yi. Application of transcriptome and proteome in animal toxin research [J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2018, 25(4): 340-344
- [52] 张春兰, 秦孜娟, 王桂芝, 等. 转录组与 RNA-Seq 技术[J]. *生物技术通报*, 2012, 12:51-56
ZHANG Chun-lan, QIN Zi-juan, WANG Gui-zhi, et al. Transcriptome and RNA-Seq technology [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012, 12: 51-56
- [53] 崔国祯, 张莹, 龙紫苇, 等. 铝对斑马鱼幼鱼的神经毒性作用及其转录组学研究[J]. *广东医学*, 2017, 38(6):830-833
CUI Guo-zhen, ZHANG Ying, LONG Zi-wei, et al. Neurotoxicity of aluminum on zebrafish juveniles and its transcriptomics study [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2017, 38(6): 830-833
- [54] Mehinto, Alvine C, Prucha, et al. Gene networks and toxicity pathways induced by acute cadmium exposure in adult largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 152: 186-194
- [55] 戴家银, 王建设. 生态毒理基因组学和生态毒理蛋白质组学研究进展[J]. *生态学报*, 2006, 26:930-934
DAI Jia-yin, WANG Jian-she. Advances in ecotoxicology genomics and ecotoxicology proteomics research [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2006, 26: 930-934
- [56] Vera A Dowling, David Sheehan. Proteomics as a route to identification of toxicity targets in environmental toxicology [J]. *Proteomics*, 2006, 6(20): 5597-5604
- [57] López-Barea J, Gómez-Ariza J. Environmental proteomics and metallomics [J]. *Proteomics*, 2006, 6(1): 51-62
- [58] 梁雪芳, 查金苗, 程钢, 等. 蛋白质组学技术的发展及在水生态毒理学中的应用[J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(1):10-24
LIANG Xue-fang, ZHA Jin-miao, CHENG Gang, et al. Development of proteomics technology and its application in aquatic ecotoxicology [J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(1): 10-24
- [59] Treumann, Achim, Thiede, Bernd. Isobaric protein and peptide quantification: perspectives and issues [J]. *Expert Review of Proteomics*, 2010, 7(5): 647-653
- [60] Schauer Kevin L, Reddam Aalekhya, Xu Elvis Genbo, et al. Interrogation of the Gulf toadfish intestinal proteome response to hypersalinity exposure provides insights into osmoregulatory mechanisms and regulation of carbonate mineral precipitation [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part D: Genomics & Proteomics*, 2018, 27: 66-76
- [61] Hélène Manduzio, Pascal Cosette, Linda Gricourt, et al. Proteome modifications of blue mussel (*Mytilus edulis* L.) gills as an effect of water pollution [J]. *Proteomics*, 2005, 5(18): 4958-4963
- [62] Tiphaine Monsinjon, Thomas Knigge. Proteomic applications in ecotoxicology [J]. *Proteomics*, 2007, 7(16): 2997-3009
- [63] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189
- [64] Park Minseung, Lee Yeseung, Khan Adnan, et al. Metabolite tracking to elucidate the effects of environmental pollutants [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 376: 112-124
- [65] Kuehnbaum Naomi L, Britz-McKibbin Philip. New advances in separation science for metabolomics: Resolving chemical diversity in a genomic era [J]. *Chem Rev*, 2013, 113(4): 2437-2468
- [66] Wu Huifeng, Zhang Xinyan, Wang Qing, et al. A metabolomic investigation on arsenic-induced toxicological effects in the clam *Ruditapes philippinarum* under different salinities [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 90: 1-6
- [67] Wu Huifeng, Ji Chenglong, Wang Qing, et al. Manila clam *Venerupis philippinarum* as a biomonitor to metal pollution [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2013, 31(1): 65-74

(下转第 103 页)