

两栖动物在水体污染生物监测中作为指示生物的研究概况*

徐士霞 李旭东 王跃招**

(中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

摘要: 简单介绍了两栖动物作为指示生物在环境监测中的优越性及其研究历史和现状,同时也概述了我国学者在这方面的研究,总结了污染水体中部分蝌蚪的形态行为特征,并且提出了利用两栖动物的形态和行为模式建立水体污染生物监测仪器的可能性,为生物监测提供了科学依据。

关键词: 两栖动物;水体污染;生物监测

中图分类号: Q895; Q494 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)06-110-05

Study on Amphibian as Bioindicator on Biomonitoring Water Pollution

XU Shi-Xia LI Xu-Dong WANG Yue-Zhao

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: The paper introduces the advantages of amphibians as bioindicator on monitoring water pollution and the history and present conditions in the study. Some researches done by Chinese scientists is also summarized. The amphibian's characters of morphology and behaviour in pollution water are discussed. We put forward the assumption of using the pattern of amphibian's changes of morphology and behaviour to set up the model of monitoring water pollution.

Key words: Amphibian; Water pollution; Biomonitoring

世界的水资源为 13.5 亿 km³,其中 96.5% 是海水, 2.8% 是淡水,扣除冰川和冰山后,可利用的淡水少于 1%,而现在世界上 1/3 的水受到化肥和有害化学产品的污染^[1]。在生态环境日益受到人们重视的今天,水污染也相应地引起越来越多的关注。消除或减轻污染,关键问题在于对环境进行有效的监测。所谓生物监测就是利用生物对环境变化所产生的反应来评价、监测环境质量,从生物学的角度为环境的监测提供依据。生物与环境是相互作用的统一整体,环境中的各种理、化条件的改变直接影响到生活在该环境中的生物,从而影响到生物体的内部功能和种间关系,以至破坏生态平衡;而生物又不断地影响改变着环境,二者相互依存,协同进化。生物与其环境的这种统一性和协同进化是环境质量生物监测的生物学基础^[2]。本文简单总结了两栖动物(amphibian)在水体污染生物监测中作为指示生物的研究概况。

1 两栖动物被应用于环境监测的优越性

李江平和李雯^[3]曾在文中指出,与传统的理化监测方法相比,生物监测的优越性主要表现在:(1)在环境中,生物接触的污染物不止一种,而几种污染物混合起来,有可能发生协同作用,使危害程度加剧,生物监测能较好地反映出环境污染对生物产生的综合效应;(2)一些低浓度甚至是痕量的污染物进入环境后,在能直接检测或人类直接感受到以前,生物即可迅速作出

* 中国科学院知识创新工程重要项目(No. KSCX2-S, W-102-02),中国科学院知识创新课题(No. KSCX2-1-06A);

** 通讯作者, E-mail: arcib@cib.ac.cn;

第一作者介绍 徐士霞,女,24岁,硕士研究生;研究方向:两栖类在污染水体中的行为学及生物监测材料。

收稿日期:2002-12-01,修回日期:2003-06-10

反应,显示出可见症状。因此,可以在早期发现污染,及时预报;(3)对于那些剂量小、长期作用产生的慢性毒性效应,用理化方法很难进行测定,而生物监测却可以做到;(4)生物监测克服了理化监测的局限性和连续取样的繁琐性。

生物监测具有时效性、综合性和敏感性,能反映整个时期中环境因素改变的情况,以及各环境因素变化的协同和颞颥作用的结果。然而如何选择指示生物成为生物监测中的一个关键问题。两栖动物具有水陆两栖独特的生活周期,卵和蝌蚪在水中生活,成体在接近水的陆地上生活,所以不仅可以监测水体污染,而且还可以对陆地的污染物进行监测;两栖动物具有特殊的生理学特性如皮肤呼吸,故皮肤的渗透性很强,所以对污染物的累积作用很明显,因此对水质的反应极为敏感,是监测环境因子变化的极好的指示物种。

两栖动物可以很好地反映其栖息地的水体质量,在其不受侵扰时,利用它们独特的叫声、行为、生理指标等很容易对水体质量进行监控。如有尾两栖类的许多类群终生生活在水中(或繁殖期在水中,非繁殖期在水体边缘的淤泥中生活),它们常常集群活动,便于观察和统计,此外这些动物活动能力有限,活动区域较狭窄,其食物主要是水生昆虫或水生植物,在食物链中占有重要的地位;无尾两栖类的卵团和蝌蚪是无尾类发育过程中的重要阶段,此阶段对环境因子的变化极为敏感,环境因子微小的变化都有可能通过卵和蝌蚪的形态、行为以及某些生理指标等方面的变化在短期内反映出来;并且蝌蚪在水塘和其它定位观察水体中也容易被观察,这就为两栖动物作为监测材料创造了条件。

2 两栖动物被作为指示生物的研究历史和现状

20世纪40年代,美国政府开始重视杀虫剂、除草剂等农药对两栖类的危害,利用田间实验来估计杀虫剂对蛙类成体及蝌蚪的毒性效应^[4-6]。1963年,Mulla^[7,8]等人报道田地里的蛙类受到杀虫剂的毒害;1970年,Cory^[9]等人报道可用蛙类进行监测杀虫剂——DDT的污染。20世纪80年代初,Cairns和Schalie提出“生物监测革命”的时代已经到来^[10]。

近些年来,随着环境污染的日益加重,两栖动物种类在世界各地正在急剧地衰减或消失^[11]。尤其在北美洲西部,如哥伦比亚,两栖纲的18个物种中7个物种濒临灭绝,加利福尼亚的黄腿山蛙(*Rana muscoca*)和黄腿蛙(*Rana boylei*)的逐渐减少,阿勒冈州的红腿蛙(*Rana*

aurora)和西部多斑蛙(*Rana pretiosa*)的消失情况都已证明与除草剂和杀虫剂等农药有关^[11]。20世纪80年代初期,在人类活动很少、基本未受干扰的地区如自然保护区出现了两栖纲物种大量消失或种群急剧衰减的现象。为此,美国政府在80年代后期对世界各地自然保护区许多常见的两栖纲物种不明原因地衰减或消失进行了多次论证,认为两栖动物由于其皮肤的高渗透性、水陆两栖等生物学特性,对环境污染极其敏感。另外,两栖动物种群变化与气候、水体、温度、环境污染等环境因子有密切的关系,因此,美国政府在1989年(www.frogweb.usgs.gov)就明确提出将两栖类作为环境质量监测的指示生物。

两栖动物是水生生态系统中重要的生物类群,又是联系水生和陆生环境的代表,因此,国外越来越多的学者使用其作为指示生物进行水质的监测,并且取得了较好的效果,在这方面有一些报道^[13-19];而我国起步较晚,直到上世纪90年代初才见报道,并且已有的研究主要是对水体中重金属的监测^[20,21],而有关对除草剂和杀虫剂等其它农药的监测报道很少^[22]。目前,除草剂和杀虫剂等农药的大量使用严重威胁着水资源的质量。

鉴于以上原因,作者开展了将两栖动物作为指示生物的研究,对目前世界上广泛使用的除草剂、杀虫剂等农药造成的水体污染进行监测。通过观察部分两栖动物在污染水体中的行为、形态方面(如卵团形态、蝌蚪形态、蝌蚪运动规律等)的宏观变化,并对两栖动物在污染水体中所发生的微观变化,如红细胞、染色体、DNA及特定蛋白质的变化等进行检测,综合宏观和微观两个方面的信息,利用现代信息技术与生物学和环境科学的结合,建立水体污染程度的监测平台及其相应的判定标准和监测方法。目前,已经开展了三个月的研究工作,取得了一定的效果。研究发现目前世界上使用最广泛的除草剂——阿特拉津(Atrazine)对弹琴蛙(*Rana adenopleura*)蝌蚪具有显著的影响,蝌蚪的行为形态与正常蝌蚪对照均有明显的变化。

3 两栖动物在污染水体中的形态行为特征

两栖动物具有水陆两栖独特的生活周期,部分两栖类的蝌蚪生活在水环境中,所以水体的质量将会对蝌蚪的生长发育产生巨大的影响,通过观察蝌蚪的形态行为特征,可以对水质进行准确的评价。

4.1 形态特征

两栖动物的皮肤具有高渗透性,所以对水体污染尤其敏感,即使在极低的浓度下,也能很快

表现出受害症状。根据其表现出的受害症状,可以对污染种类进行定性分析,也可以根据症状的轻重、面积大小,对污染物的浓度进行初步的定量分析。水体污染对两栖动物形态的危害主要表现在^[23-25]:(1)躯体收缩,呈“S”形;(2)尾弯曲,尾肌萎缩;(3)口和鼻孔大张;(4)眼睛凸出;(5)皮肤表面出现许多泡状瘤,色素部分脱落或完全脱落,皮肤透明等;(6)头部膨大;(7)体重减轻等。

研究表明^[12,20,26-30],美洲蟾蜍(*Bufo a. americanus*)、绿蛙(*Rana clamitans*)、拟蝗蛙(*Pseudacris t. triseriata*)和豹蛙(*R. pipiens*)对硝酸盐类的污染比较敏感,豹蛙蝌蚪对杀虫剂——合成拟除虫菊酯比较敏感,绿蟾蜍蝌蚪对重金属离子也比较敏感。根据现有资料将常见水体污染物对两栖类的异常形态、受害剂量及敏感指示物种总结于表1。

表1 主要水体污染物对部分两栖类蝌蚪形态的危害

污染物	受害剂量	异常形态	敏感指示物	文献
杀虫剂:西维因	1.0 mg/L 处理胚胎期 0.4 mg/L 处理卵和胚胎期	只形成一条后腿 尾巴在远端部出现弯曲;卵比对照组小 形成三条前腿 且畸形率增大;皮肤透明,可见其内脏	楔头蛙蝌蚪	27
合成拟除虫菊酯	1.3 μg/L 3.6 μg/L	体重显著下降,腹部膨大,尾部弯曲 活动显著下降,躯体紧缩呈不规则形态	蛙属蝌蚪	12
重金属离子 Ag ⁺	大于 0.10 mg/L	躯体紧缩,尤其是后腹部收缩严重,尾弯曲,尾鳍萎缩, 口大张,鼻孔大而明显,皮肤有小型泡状物,严重者皮 肤脱落,但色素变化不明显	绿蟾蜍蝌蚪	20
重金属离子 Cu ²⁺	大于 0.32 mg/L	躯体呈 S 形,尾弯曲,尾末端卷曲,口张,眼突出,身体 表面出现许多泡状瘤,严重者皮肤溃烂,色素层脱落	绿蟾蜍蝌蚪	20
重金属离子 Cr ⁶⁺	96 h 的 LC ₅₀ 为 1.1 mg/L	躯体变细,呈弓形,尾向一侧弯曲,皮肤表面有许多泡 状物,但未见皮肤脱落,皮肤色素明显减少,呈灰褐色	绿蟾蜍蝌蚪	20
重金属离子 Hg ²⁺	0.32 ~ 0.56 mg/L 1.00 mg/L	腹部膨大,皮肤色素变浅,腹部皮肤略透明,可见其内 脏肿大 头部膨大,鼻孔大张,身体有 2~3 处收缩,腹部无膨大 现象	绿蟾蜍蝌蚪	20
硝酸铵	10 ~ 50 mg/L 暴露 96 h 0, 2.5, 5, 10 mg/L 暴露 10 d	体重在 96 h 时显著降低;游动时,身体不能保持平衡; 头部与腹部膨大,眼睛变形,皮肤完全失去色素,身体 水肿,呈球形,尾巴弯曲 存活率显著降低;游动能力减慢;弯曲的尾巴开始卷 曲,蝌蚪只能环形游动,身体肿大并且透明,头变形,皮 肤表面有许多凸起	美洲蟾蜍、绿蛙、拟 蝗蛙和豹蛙等蝌蚪	26
杀虫剂:DDT	0.001 mg/L 暴露 33 d	蝌蚪脊柱扭结,尾巴向左侧扭曲,左腿完全伸直,膝关 节僵化,生长发育速率加快	欧洲林蛙蝌蚪	28
杀虫剂:异狄氏剂、 狄氏剂、毒杀芬	96 h 的 LC ₅₀ 为 0.5 mg/L	全部死亡,部分蝌蚪皮肤表面有许多泡状物,有些蝌蚪 腹部膨大,且皮肤略透明	拟蝗蛙蝌蚪	29

3.2 行为特征 应激反应是生物界普遍存在的特性,对游动能力较强的无尾两栖类蝌蚪尤为明显。当蝌蚪接触到低剂量有害污染物时,刺激其嗅觉、味觉和视觉等感受器官,影响呼吸或作用于中枢神经系统,从而影响蝌蚪的活动能力如摄食、逃避敌害、繁殖或其它行为,并改变其在水体中的分布。回避试验是目前广泛采用的以水生动物为指示物,研究其对污染物,尤其是对有毒污染物的回避反应及引起回避反应的污染物的

浓度,以期对水体污染进行早期预报和评价^[2]。大量研究证明^[28-30],在人为设计的污染水区和非污染水期中,未经训练的蝌蚪在受到亚致死剂量的有毒污染物刺激时,能主动回避受污染水体,游向清洁区或向水体表面游去。根据目测或利用电视摄像系统,可以观察污染物对蝌蚪行为的影响。根据现有资料^[12,23-27]将常见水体污染物对两栖类的异常行为、受害剂量及敏感指示物种总结于表2。

表 2 主要水体污染物对部分两栖类蝌蚪行为的危害

污 染 物	受 害 剂 量	异常行为	敏感指示物	文 献
合成拟除虫菊酯	1.3 $\mu\text{g/L}$ 暴露 24 h	活动能力下降	蛙属蝌蚪	12
	3.6 $\mu\text{g/L}$ 暴露 24 h	出现抽搐痉挛		
	10 $\mu\text{g/L}$ 暴露 48 h	断断续续地抽搐;躯体和尾巴卷曲在一起,故螺旋游动		
	7.29 $\mu\text{g/L}$ 暴露 96 h	提高捕食率,抑制变态,减少聚集		
杀虫剂:西维因	3.5 mg/L	可降低蝌蚪 90% 的活动能力;冲刺游动速度和距离显著降低;捕食能力,逃避天敌的能力受到影响;生长率和适应环境的能力大大降低	楔头蛙蝌蚪	27
		5 mg/L	增强捕食能力;大部分时间聚集在水的表面	粗皮渍螺、普通欧洲蝾幼体
亚硝酸盐	20 mg/L	降低生长速度,提高发育速度,提前变态		
	硝酸铵	10 ~ 50 mg/L 暴露 96 h	游动能力减退,捕食减少,身体不能保持平衡,环形游动	美洲蟾蜍、绿蛙、拟蝗蛙和豹蛙等蝌蚪
0, 2.5, 5, 10 mg/L 暴露 10 d		游动能力减慢,对刺激反应迟钝,随着实验的进行,活动进一步减慢;弯曲的尾巴开始卷曲,所以,蝌蚪只能环形游动		
杀虫剂: DDT	0.001 mg/L 暴露 5 ~ 8 d	异常活跃,尾巴快速摆动,身体抽搐并且快速游动	欧洲林蛙蝌蚪	28

4 应用中值得注意的问题

虽然利用两栖动物作为指示生物监测水体污染的实际应用越来越广泛,但也存在一些问题。(1)标准化问题。所选择的两栖类动物生活在一定的生态系环境中,除了受污染物的影响外,同时还受到气候、季节、地域、土壤等其它因素影响。因此,必须建立标准化的监测方法,使获得的结果具可比性,才有应用价值。(2)监测参数选择较为困难。由于选用的是活体生物,同一种生物不同生长时期对污染物的敏感性和反应不同,即使是同一种生物也存在有个体差异,因此如何选择合适的物种进行监测,要视监测环境的污染物类型及对污染物反应的情况而定。(3)仅用指示生物监测环境污染无法做到准确定量,不能对引起生物体反应的原因进行定量分析。另外,根据作者的实验还有一点需要注意,即选择两栖动物的行为形态指标时应兼顾便于观察和量化这两个主要的条件。鉴于以上原因,建议利用指示生物对污染环境进行监测,其结果应与理化监测的结果相结合进行分析。

两栖动物在水体污染中的生物监测在国际上已得到初步的应用,但在国内的应用还较少。因此,探讨两栖动物与外界环境的关系,对环境监测和对两栖类物种的保护均有较大的现实意义及理论意义。通过对两栖动物的个体和群体形态、行为生物学的综合信息的监测,并与受污染水体获得的生物信息进行比较,应用数学方法将采收的行为信号转化为数字信号,除去干扰因素,建立数据库和量化模型,作为监测仪器的软件;通过生物信息流采收平台、信息处理平台和数据库系统的结合,并进行优化,研制出一套生物监测仪器,

以对水体污染进行快速而准确地监测,这将是水体污染生物监测一个新的发展方向。

参 考 文 献

- [1] 徐希莲. 水生昆虫与水质的生物监测. 莱阳农学院学报, 2001, 18(1): 66 ~ 70.
- [2] 黄先玉, 刘沛然. 水体污染生物检测的研究进展. 环境科学进展, 1997, 7(4): 14 ~ 18.
- [3] 李江平, 李雯. 指示生物及其在环境保护中的应用. 云南环境科学, 2001, 20(1): 51 ~ 54.
- [4] Lackey J B, Steinle M L. Effects of DDT upon some aquatic organisms other than insect larvae. *Publ Hlth Rep Wash*, 1945, 186(Suppl): 80 ~ 89.
- [5] Taylor A C, Kollros J J. Stages in the normal development of *Rana pipiens* Larvae. *Anat Rec*, 1946, 94: 7 ~ 23.
- [6] Tarzwell C M. Effects of DDT mosquito larviciding on wildlife. V. Effects on fishes of the routine manual and airplane application of DDT and other mosquito larvicides. *Publ Hlth Rep*, 1950, 65: 231 ~ 255.
- [7] Mulla M S, Isaak L W, Axelrod H. Field studies on the effect of insecticides on some aquatic wildlife species. *J Econ Entomol*, 1963, 56(2): 184 ~ 188.
- [8] Mulla M S. Toxicity of organochlorine insecticides to the mosquito fish *Gambusia affinis* and the bullfrog *Rana catesbeiana*. *Mosquito News*, 1964, 23(4): 299 ~ 303.
- [9] Cory L, Fjeld P, Serat W. Distribution patterns of DDT residues in the Sierra Nevada Mountains. *Pestic Moni J*, 1970, 3: 204 ~ 211.
- [10] 王国祥. 生物监测若干问题的探讨. 环境监测与管理技术, 1994, 6(3): 7 ~ 10.
- [11] Pounds J A, Fogden M P L, Campbell J H. Biological response

- to climate change on a tropical mountain. *Nature*, 1999, **398**: 611 ~ 615.
- [12] Elizabeth J M, Charles F R, et al. Effects of the synthetic pyrethroid insecticide, esfenvalerate, on larval leopard frogs (*Rana* spp.). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1995, **14**(4):613 ~ 622.
- [13] Boyd C E, Vinson S B, Ferguson D E. Possible DDT resistance in two species of frogs. *Copeia*, 1963(2):426 ~ 429.
- [14] Marian M P, Anil V, Pandian T J. Acute and chronic effect of carbaryl on survival, growth, and metamorphosis in bull frog *Rana tigrina*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1983, **12**:271 ~ 275.
- [15] Stansley W, Widjeskog L, Roscoe D E. Lead contamination and mobility in surface water at trap and skeet ranges. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1992, **49**: 640 ~ 647.
- [16] Berrill M S, Bertram S, Wilson A, et al. Lethal and sublethal impacts of pyrethroid insecticides on amphibian embryos and tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1993, **12**:525 ~ 539.
- [17] Berrill M S, Bertram S, McGillivray M, et al. Effect of low concentrations of forest-use pesticides on frog embryos and tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1994, **13**:657 ~ 664.
- [18] Stansley W, Roscoe D E, Widjeskog L. Effects of lead-contaminated surface water from a trap and skeet rang on frog hatching and development. *Environmental Pollution*, 1997, **96** (1):69 ~ 74.
- [19] Hopkins W A, Roe J H, Congdon J D, et al. Nondestructive indices of trace element exposure in saquamata reptiles. *Environmental Pollution*, 2001, **115**:1 ~ 7.
- [20] 王爱民. 四种重金属对绿蟾蜍蝌蚪的急性毒性研究. 新疆大学学报, 1990, 7(1):60 ~ 64.
- [21] 汪学英等. 重金属离子对黑斑蛙胚胎及蝌蚪的毒性影响. 四川动物, 2001, **20**(2):59 ~ 61.
- [22] 耿德贵等. 四种除草剂对中华大蟾蜍蝌蚪红细胞微核及核异常的影响. 动物学杂志, 2000, **35**(1):12 ~ 16.
- [23] Dial N A, Bauer C A. Teratogenic and lethal effects of paraquat on developing frog embryos (*Rana pipiens*). *Bull Environ Contam Toxicol*, 1984, **33**:592 ~ 597.
- [24] Josh Van Buskirk, S Andy Mccollum. Influence of tail shape on tadpole swimming performance. *The Journal of Experimental Biology*, 2000, **203**:2 149 ~ 2 158.
- [25] Osano O, Oladimeji A A, Kraak M H S, et al. Teratogenic effect of amitraz, 2, 4-Dimethylaniline, and paraquat on developing frog (*Xenopus*) embryos. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, **43**:42 ~ 49.
- [26] Stephen J H. Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1995, **14** (12):2 131 ~ 2 137.
- [27] Bridges C M. Long-term effects of pesticide exposure at various of the southern leopard frog (*Rana sphenocephala*). *Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, **39**:91 ~ 96.
- [28] Cooke A S. Reponse of *Rana temporaria* tadpoles to chronic of pp'-DDT. *Copeia*, 1973(4):647 ~ 652.
- [29] Herman O S. Pesticide toxicities to tadpoles of the western chorus frog *Pseudacris triseriata* and fowler's toad *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*, 1970(2):246 ~ 51.
- [30] Hatch A C, Blaustein A R. Combined effect of UV-B, nitrate and low pH reduce the survival and activity level of larval Cascades frogs(*Rnan cascade*). *Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, **39**:494 ~ 499.