重金属污染评估及其生物健康效应

郑飞, 郭欣, 郭博洋, 黄贤亮, 陈兵*

河北大学生命科学学院, 保定 071002

* 联系人, E-mail: chenbing@hbu.edu.cn

收稿日期: 2021-07-15; 接受日期: 2021-08-18; 网络版发表日期: 2021-09-15

国家自然科学基金(批准号: 31872304)、河北省高校百名优秀创新人才支持计划(批准号: SLRC2019019)和河北大学高层次人才支持计划(批准号: 521000981358、521100221018)资助

摘要 重金属污染是目前全球面临的最为严峻的环境问题之一, 不仅引发了粮食安全危机, 还直接危害着动物和人类健康. 土壤线虫作为陆地环境中重金属污染的重要指示生物, 不仅会对重金属的毒害产生复杂的防御机制, 其肠道微生物还被证明可以协助宿主抵御重金属胁迫. 本文系统梳理了国内外重金属的污染现状及其评估方法, 以线虫为模型概述了重金属对土壤动物行为、生理、生化三个方面的影响, 总结了动物对重金属暴露的应激响应, 主要包括细胞壁和细胞膜的屏障作用、活性物质改变、金属硫蛋白表达以及非编码RNA调节等四个层面, 提出了肠道微生物的组成和多样性作为指示重金属毒性的新方法, 归纳了长期重金属暴露导致的生物适应性进化, 包括重金属超积累基因、抗性基因、解毒基因的出现和富集等, 进而量化环境胁迫引起的动物遗传变异在基因组水平上的响应, 比如基因的抗性突变和抗性基因的协同作用. 最后, 本文对重金属生态毒理学的研究进行了展望, 指出未来研究需着眼于当下的生态环境和人类健康, 探索土壤动物肠道微生物的生态作用, 深入探究重金属毒性发生发展以及生物解毒的潜在机制.

关键词 重金属, 生物毒性, 解毒机制, 线虫, 肠道微生物, 适应性进化

目前, 人类环境面临着三个相互关联的危机: 气候变化、生物多样性的衰落以及污染物的全球分布. 据报道, 仅美国、欧盟、中国和澳大利亚的污染场地已超过1000万个, 其中, 重金属污染达50%以上^[1]. 我国每年约有46700公顷土地受到重金属的污染^[2]; 各大江河湖库也存在普遍污染, 其底质的污染率高达80.1%^[3], 已造成不可忽略的环境风险, 对生态系统和人类健康造成严重威胁.

近年来, 由于环境污染问题日趋严重, 污染物对生

态系统的破坏和对生物的毒害及其作用机制引起了大家的广泛关注. 栖息于土壤和水环境中的线虫, 作为动物界中最大的门之一, 在重金属的毒理评价方面发挥着重要作用. 据估计, 全球共有 $(4.4 \pm 0.64) \times 10^{20}$ 只线虫, 存在于各种环境条件的土壤中, 能为生态环境的毒理评价提供系统、完善、客观的评价数据^[4]. 因操作简单、成本低廉、测试周期短等优势, 秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)常被作为指示生物, 对污染物进行检测和评价. 秀丽隐杆线虫的应用已有30余年的

引用格式: 郑飞, 郭欣, 郭博洋, 等. 重金属污染评估及其生物健康效应. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1264–1273

Zheng F, Guo X, Guo B Y, et al. Risk assessments and health impacts of heavy metal pollution (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1264–1273, doi: 10.1360/SSV-2021-0318

历史,是生态毒理研究的有力模型.另外,肠道微生物作为宿主的“代谢器官”,其对于环境污染物有着极高的敏感性和特异性,也可作为指示重金属毒性的重要衡量手段.随着基因组学的革命,对潜在防御应激分子机制的认知水平已大大提高.在强大的选择压力下,线虫甚至可能进化出更强的抗逆能力.因此,本文在系统梳理全球重金属的污染现状及评估体系基础上,就重金属对线虫的毒性效应以及机制的研究进行了总结,并概述了土壤动物肠道微生物作为新指示途径的应用,浅析了线虫的适应性进化,旨在应用线虫生态毒理学为重金属污染检测和风险防控提供理论依据和数据支撑.

1 重金属污染及评估体系

重金属污染包括重金属(如汞、镉、铅、铬和类金属砷)及其化合物造成的环境污染,主要由自然因素(如火山喷发、森林火灾和岩石风化)和人为因素(如污水灌溉、废气排放和农用物资的不合理使用)所致.在自然环境中,大部分有害重金属会经过一系列的物理、化学或生物转变,以稳定的形态长期存在于环境中.此外,重金属污染还呈现隐蔽性、表聚性和不可逆性等特点.目前,重金属污染已发展成为全球面临的严峻问题.

研究表明,仅美国、欧盟、中国和澳大利亚的重金属污染场地就达到500万个^[1].据统计,全世界平均每年排入土壤中的铅(Pb)约为500万吨、汞(Hg)1.5万吨、铜(Cu)340万吨、锰(Mn)1500万吨、镍(Ni)100万吨.污水灌溉导致镉(Cd)、铜(Cu)、锌(Zn)在瑞士土壤中的大量积累,造成澳洲土壤中Cd含量达到0.11~6.37 mg/kg.我国共有 2.88×10^6 公顷土地被用于重金属开采,每年大约有 4.67×10^4 公顷的土地受到重金属的污染^[2],以Hg、Cd污染最为严重.2014年4月环境保护部与国土资源部联合公布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国农田土壤中重金属污染最为突出,其中污染最严重的8种重金属元素及其点位超标率分别是As(2.7%),Cd(7.0%),Cr(1.1%),Hg(1.6%),Pb(1.5%),Cu(2.1%),Zn(0.9%),Ni(4.8%)^[3].海域污染问题也十分普遍,我国各大江河湖库均受到不同程度的重金属污染.以雄安新区的核心水系-白洋淀流域为例,地积累指数和潜在生态风险指数均表明白洋淀沉积物中Cd污染

极为严重,As污染较重,应当引起足够的重视.结合历史数据发现,仅在2004~2016十余年间,白洋淀沉积物中As、Cd和Pb浓度急剧增加,尤其是Cd,贡献率达83%以上,是主要的污染因子,因此,对Cd的入湖控制和底泥治理刻不容缓.

土壤中的重金属积累到一定程度会造成土壤退化,在植物体内的富集会使农作物产量和品质下降,导致粮食作物中的重金属严重超标.2011年初,《新世纪》周刊的新闻报道“镉米杀机”震撼了整个社会,被称为“48号魔鬼”的重金属Cd引起了全民对重金属污染和粮食安全与健康问题的极大关注^[6].据统计,全国每年受重金属污染的粮食多达1200万吨,因重金属污染而导致粮食减产高达1000多万吨,合计经济损失至少200亿元^[7].通过粮食和瓜果蔬菜,环境中的重金属最终进入人体,进而影响机体功能,长时间接触可能导致畸形、癌变等,短期暴露可能会引起急性中毒,导致死亡.Cd已经被当前国际癌症研究机构归类为I类致癌物.As会诱发急性胃肠炎、神经系统病变、消化道腐蚀等;As及其化合物也被确认为致癌物^[8].Hg元素及其化合物都属于剧毒物质,进入人体后,引发中毒,危及生命.因此,重金属污染不仅威胁生态环境、粮食安全,影响国民经济,还会危害动物乃至人体健康.2016年,国务院印发了《土壤污染防治行动计划》(即“土十条”);又于2018年通过了《中华人民共和国土壤污染防治法》.这两项法规都以改善土壤环境质量为核心,充分体现国家对土壤污染防治的重视.

重金属污染评价有利于评判重金属污染程度,有助于制定合理、高效的重金属治理方案.经过多年的实践和探索,传统和现代评价方法(表1)已广受应用.然而,仅用化学分析方法难以正确评价潜在的重金属生态风险.因此,开发合理、高效、准确的评价体系尤为重要.秀丽隐杆线虫因其操作简单、成本低廉、测试周期短等特点,能有效聚焦到单一因素,直观地反应污染物的毒性效应.近年来,研究人员正探索以秀丽隐杆线虫作为生物指示物检测和评价重金属污染.

2 重金属的生物毒性效应——以线虫为模型的研究

重金属会显著改变生物的行为及新陈代谢,严重

表 1 重金属污染的评价方法

Table 1 Evaluation methods for heavy metal pollution

类别	范围	评价方法	优缺点	参考文献
传统评价	单因子评价	单项重金属污染指数法	指标单一, 存在片面性	[9]
		地累积指数法	考虑自然成岩作用, 指标单一	[9]
		富集系数法	反映污染来源和化学活性, 单一	[9,10]
	多因子评价	几何均值风险指数法	均一化处理, 未反映毒性较大重金属的污染贡献率	[11]
		内梅罗综合污染指数法	灵敏性差	[12]
		潜在生态风险指数法	反映毒性较大重金属污染贡献率	[13]
		污染负荷指数法	均一化处理, 反映污染贡献率	[14]
现代评价	模型评价	模糊数学法	直观易懂	[15]
		灰色聚类法	不丢失信息, 结论更符合实际	[15]
		支持向量机	泛化, 易实现, 主观判断影响小	[16]
	GIS评价	地统计学评价法	可以充分利用参数的空间信息	[17]
		人工神经网络	体现映射关系, 缺乏理论指导	[17]
	健康风险评价	健康风险评估法	结合人类健康效应, 真实可靠	[18]
		环境风险指数法	反映污染风险程度, 缺乏时空变异	[18]

图 1 重金属来源及对土壤线虫的胁迫

Figure 1 Source and stress of heavy metals to soil nematodes

时会导致生物死亡。线虫的重金属毒性效应主要体现在行为、生理和生化三个方面(图1)。

线虫行为指标变化主要分为运动行为和取食行为。运动行为指标包括头部摆动频率、身体弯曲频率、基本运动能力和运动速率。取食行为指标一般以取食抑制率表示。行为指标的测定操作相对简单、易

于观察、敏感性高, 且周期短、成本低, 因而, 被广泛应用于多种重金属的毒性评价中^[19,20]。

线虫生理评估指标包括致死率、最长寿命、半数致死天数、细胞凋亡、个体发育和生殖等。致死率测定方法简单、周期短、见效快, 是最基本的评价参数, 但灵敏度不高。随着重金属暴露时间增加, 线虫的半致

死剂量越低, 毒性越高^[21]. 致死率考察的是短期效应, 而最长寿命和半数致死天数则体现了短期暴露后的长期效应. 个体发育指标主要有体长、体宽及是否畸形发育, 一般适合于毒性较强重金属的评价^[20]. 生殖能力通常采用世代时间、繁殖率或者子宫内卵的数量评价, 是比较敏感的亚致死剂量指标, 且一直是毒理学研究的重要内容, 也是最常用的评价指标之一^[20]. 大量研究表明, 重金属暴露会显著抑制线虫的繁殖能力, 而且这种抑制能遗传到子代中^[19].

线虫的生化标志物主要包括蛋白、酶活性及 DNA 分子水平. 常见的蛋白有热休克蛋白和金属硫蛋白. 转基因品系是检测该种蛋白的常规手段, 方法复杂, 且对设备要求高^[20]. 金属硫蛋白是富含半胱氨酸的金属结合蛋白, 其巯基能强烈螯合有毒金属, 并将其排出体外, 从而实现解毒功能. 酶活性指标具有专一性, 较敏感, 可适合不同程度的重金属毒性分析, 但所需的线虫数量较大. 其中, 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)是常用的指标. 近年来, 与重金属胁迫相关的一些重要基因也相继被应用到污染评估中. 比如, 用于评价重金属

Cd, Zn和Hg毒性的应激基因 $cdr-4$ ^[22], 金属硫蛋白基因 $mtl-1$ 和 $mtl-2$ ^[23]以及热激蛋白基因^[24].

3 生物对重金属的防御机制

为降低重金属的毒害, 生物体会产生一系列自我保护机制, 比如细胞壁增厚、行为趋避、抗氧化酶增加以及解毒基因上调等. 研究表明, 细胞壁厚度的增加会导致细胞表面大量扩张, 对固定重金属有潜在作用, 细胞壁硬度的增强也会阻隔重金属的进入^[25,26]. De Benedictis等人^[27]对比了Cd暴露下的野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和植物络合素合酶缺陷的突变体 $cad1-3$ 的代谢组差异, 在 $cad1-3$ 茎中发现木质化的增加, 说明细胞壁增加可作为一种细胞抵御重金属的趋避机制. 对于没有细胞壁的生物来说, 细胞膜是重金属进入胞内的第一道屏障. Amin^[28]以水生单细胞生物阿米巴的形态、膜通透性和DNA损伤来评估多种重金属的毒性, 发现重金属可通过阿米巴膜通透性的改变造成其细胞损伤, 进而产生毒性.

重金属胁迫会诱发过量的活性氧分子(reactive

图 2 重金属的生物毒性效应与解毒机制

Figure 2 Toxic effect and detoxification mechanism of organisms

oxygen species, ROS), 对生物体造成损伤, 生物体则通过抗氧化酶、金属解毒酶和螯合素等活性物质进行防御。抗氧化酶包括SOD, CAT和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等。SOD催化高活性 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为 O_2 和活性较弱的 H_2O_2 , H_2O_2 又可被CAT或GPX反应破坏, 反应形成水和 O_2 。金属解毒酶包括羧酸酯酶(CarE)、葡萄糖苷酶和谷胱甘肽S-转移酶(GST)^[29]。糖蛋白、CarE参与脂质和脂肪代谢, GST则参与外源污染物的解毒^[30]。谷胱甘肽是一种抗氧化剂, 是重金属暴露的有效生化标志物^[31]。它可与金属非特异性结合^[32], 促使金属与巯基反应, 是生物体清除金属进而解毒的重要途径^[33]。此外, 植物和真菌在接触重金属后会合成植物螯合素(phytochelatins, PCs)来抵御毒害。PCs对重金属具有高亲和力, 促进了重金属的空泡吸附^[34]。最近, Fire等人^[35]在线虫基因组中发现了一个PCs单拷贝同源基因*ce-pcs-1*, 这表明PCs可能参与动物的金属稳态; 进一步研究显示, *ce-pcs-1*可以编码PCs合成酶, 进而介导PCs的合成, 促进线虫体内重金属的解毒。这为确定该途径的普适性奠定了坚实的基础, 不仅具有环境毒理学意义^[36], 也标志着缓解重金属毒害新方法产生。

金属硫蛋白(metallothionein proteins, MTs)是生物体抵御重金属毒性的第一道防线, 其具有很强的重金属结合能力, 在所有真核生物中都表达, 是一种非常重要的重金属清除或储存机制。当摄入的金属到达肠道细胞时, 肠道中的MTs会捕获有毒金属并阻断其在全身的分佈^[37]。MTs的激活受金属响应转录因子(MTF-1)的调控^[38]。MTF-1是一种多功能性转录调节因子, 保守进化, 参与重金属胁迫响应, 在重金属稳态和解毒中起重要作用^[39]。MTs可以通过与自由金属的结合抑制MTF-1的功能, 从而抑制其自身的表达, 否则将直接或间接激活MTF-1。另外, 对土壤中自由生活的弹尾目*Orchesella cincta* Cd耐受性的研究发现, MTs基因在金属污染的田间种群中过度表达^[40]。因而, MTs的转录调控是研究重金属污染的长期选择压力下微观进化的一个有趣模型。

近年来, 科学家还发现非编码RNA(ncRNAs)也参与到重金属胁迫反应中。ncRNAs可以分为长非编码RNA(lncRNA)和小非编码RNA(sncRNA), sncRNA通过抑制翻译microRNA或降解mRNA(siRNA)来控制基因表达。MT1DP是金属硫蛋白基因家族中的一个假基

因, 属于lncRNA; 它在Cd暴露下会结合RhoC蛋白, 从而影响了CCN1/2-AKT通路, 使得细胞毒性增强, 敲除lncRNA MT1DP可有效抑制Cd引起的细胞损伤^[41]。lncRNA ODRUL则被认为是一种新的应激调节剂, 可以增强银纳米粒子诱导的细胞毒性。

4 动物肠道微生物在重金属毒性评估与防御中的应用

肠道微生物被称为宿主的“第二基因组”^[42]和“代谢器官”^[43,44], 在宿主的消化、代谢、免疫以及抗压力方面都发挥着关键作用^[45~47]。最近研究显示, 重金属污染暴露还会导致宿主肠道微生物失调^[48]。动物的肠道微生物往往对重金属胁迫较为敏感。例如, As暴露会显著减少蚯蚓肠道微生物的种类^[49]; 银(Ag)会干扰跳虫肠道微生物稳态^[48], 并诱导小鼠肠道中厚壁菌门与拟杆菌门的比值增加, 进而诱发肥胖症以及炎症反应^[50]。另外, 动物肠道微生物与重金属的迁移和转化关系密切。研究发现, 蚯蚓(*Metaphire sieboldi*)肠道微生物可直接参与五价砷的还原和三价砷的外排^[51]。黑水虻(*Hermetia illucens*)的肠道微生物能够改变含Cu和Zn化合物的形态, 进而影响这些化合物的生物可利用性^[52]。此外, 肠道微生物也可抵御重金属的毒害^[53]。研究显示, 将具有Hg耐受性的细菌定殖到大型溞(*Daphnia magna*)的肠道之后, 明显增强了大型溞对Hg的耐受能力^[54]。因此, 肠道微生物与重金属之间存在双向的关系。一方面, 重金属能够影响动物肠道微生物的结构和组成; 另一方面, 动物肠道微生物对重金属的转化在宿主抵御重金属毒害上扮演着重要的角色。然而, 目前土壤动物肠道微生物这一“暗箱”的作用往往被忽视, 线虫肠道微生物对重金属毒性响应的研究更是鲜有报道。

有研究提示, Cd暴露明显降低了线虫肠道微生物的多样性^[55]。不仅如此, 朱永官团队^[56]对As的长期研究发现, 线虫肠道微生物在介导As的氧化还原以及甲基化中起着关键的作用。该团队还推测新兴污染物抗生素抗性基因可以通过土壤微生物-线虫肠道微生物-蚯蚓肠道微生物这一食物链进行扩散^[57]。类似地, 重金属可能也存在着这种传播和富集的风险。随着肠道微生物研究的深入, 其在环境污染物响应方面的报道也日益增多。这也同时表明: 对线虫肠道微生物的研

究有望为分析重金属毒性作用机制提供一种全新的方法及视角。

5 重金属胁迫下的生物适应性进化

生态适应是物种应对环境变化的重要方式, 解析物种的生态适应分子机制可以为物种的保护和利用奠定理论基础. 现代分子技术和检测方法有利于进一步明确量化环境变化引起的遗传变异在基因组水平的响应, 为生态适应研究提供了新思路.

研究者通过对巴西马利亚纳市铁矿污染的河流进行间隔一年的采样分析, 发现微生物群落能逐渐适应新环境, 产生耐Fe菌株^[58]. Briskine等人^[59]检测了重金属污染下的拟南芥基因组, 发现了三种HMA4基因(一种Cd和Zn超积累的关键基因)的串联复制, 并强调了HMA4和MTP1等重金属超积累基因对个体功能的重要性. Liu等人^[60]通过Illumina和PacBio测序技术构建了冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)的全基因组, 发现其重金属抗性基因的丰度较低, 这解释了其组织中高水平重金属的存在. Anderson等人^[61]使用RDA-seq重测序的方法确定了长期重金属污染下蚯蚓(*Lumbricus rubellus*)的遗传变异, 找到了与Pb和As相关的钙和磷酸盐调节机制以及谷胱甘肽相关机制.

除此之外, 生态基因组学在线虫重金属毒理中的应用也日渐增多. 研究发现, 在Ni胁迫敏感的线虫种群中, 大多数基因组区域携带可检测到的影响生长和繁殖的变异^[62]. 采用微阵列技术, Sahu等人^[63]对As暴露下线虫的基因组进行分析, 发现了癌症相关基因, 特别是与白血病相关的基因. 另外, Cui等人^[64]监测了Cd暴露24 h下线虫转录谱的变化, 获得了290个差异表达的基因, 包括几个金属解毒基因(*mtl-1*, *mtl-2*, *cdr-1*和*ttm-1*), 对50种Cd应激相关基因的RNA干扰加重了线虫对Cd的敏感性, 证实了这些基因与Cd抗性有关; 蛋白互作网络明确了信号蛋白KEL-8的参与, 基因*Kel-8*通过MAPKK的方式保护线虫免受Cd的毒害. 由于许多线虫的基因和信号转导通路都是进化保守的, 这些结果有助于理解高等生物的Cd暴露中不同基因的功能角色.

为了维持体内平衡, 线虫通过应答转录调节复合物诱导金属解毒基因程序. Novillo等人^[65]研究显示Cd

暴露会诱导特异性基因*mtl-2*和*cdr-1*在线虫肠道中表达, 并通过一种特定的金属响应元件进行Cd的转录调控. Shomer等人^[66]研究显示, 当暴露于Cd和过量的Zn时, 线虫体内进化保守的中介转录共调节器的亚单元MDT-15会和核激素受体HIZR-1相互作用以提升分子、细胞和组织的适应性, 并发现基因*mdt-15*和*hizr-1*能够协同诱导Zn和Cd的应答, 调节Cd的解毒和Zn的存储, 并且这种机制也存在哺乳动物中. 为了鉴定参与Zn代谢的基因, 研究者对化学诱导的线虫突变进行了正向遗传筛选, 找到了19个对Zn具有显著抗性的突变位点. 借助于Bruinsma等人^[67]开发的单核苷酸多态性的全基因组图谱, 明确了至少3个基因参与了这些突变, 从而对Zn引起的毒性产生抗性.

重金属诱导的线虫适应性进化研究不仅局限于模式种秀丽隐杆线虫, 也扩展到自然环境中的其他种群, 甚至植物组织寄生种群. Xu等人^[68]系统研究了59种线虫基因组和20种线虫转录组中抗氧化酶的进化和基因表达, 发现磷脂过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶在线虫中广泛分布, 并在其中独立进化, SOD则一直存在于线虫的整个进化过程中, 而细胞外亚型(SOD3)在几种线虫中发生了重复和分化, 进而揭示了线虫体内抗氧化酶的复杂演化过程. Handayani等人^[69]从印度尼西亚群岛的马铃薯田中采集了37个土壤样品, 结合ITS rDNA和COI mtDNA测序分析马铃薯孢囊线虫群体的特征, 结果显示其与世界其他地方相比几乎没有序列变异, COI序列与世界上最常见、分布最广的单倍型相同. 这为制定环境无害且有效的马铃薯孢囊线虫控制策略奠定了理论基础和数据支撑.

6 展望

综上所述, 着眼于当前对生态环境和人类健康构成潜在威胁的重金属污染问题, 虽然微生物修复早已成为重金属污染治理的主旋律, 但是对于土壤动物肠道微生物这一“暗箱”的研究才刚刚开始, 还存在一些亟需回答的科学问题. 比如重金属会如何影响线虫肠道微生物群落的组成和结构? 线虫肠道微生物对于重金属的响应机制又是怎样的? 另外, 金属稳态和抗性调节的研究可以对许多疾病的治疗提供借鉴意义. 然而, 金属抗性的许多机制目前尚不清楚. 比如, 金属解毒酶中抵御重金属毒性的分子机制是怎样的? 螯合素

途径在其他动物体内是否存在? ncRNAs调节重金属胁迫响应的精准调控机制又是什么? 对于这些分子机制的进一步研究, 必然是未来生物科学领域的一大挑战, 但同时也能对了解一些重大疾病的发生、发展过程提供思路。随着基因组革命的技术创新, 生态学相关性状进化机制的知识迅速增长, 这也将适用于金属耐性的进化。进化和生态功能基因组学是一门多学科

交叉的科学, 为确定环境因素, 如重金属胁迫下的物种适应性的遗传变异提供了新的方向, 从种群遗传学发展而来的生态基因组学, 将为深入理解物种对环境的生态适应, 探讨适应机制提供全新的视角和极大帮助。同时, 宏基因组、宏转录组、宏蛋白组以及代谢组和离子组等组学技术在评估生物的重金属抗性基因以及抗性机制上提供了新方法。

致谢 感谢河北大学叶军研究员、王文静研究员, 以及墨尔本大学陈青林博士对本文给予的宝贵意见。

参考文献

- 1 He Z, Shentu J, Yang X, et al. Heavy metal contamination of soils—sources, indicators, and assessment. *J Environ Indic*, 2015, 9: 17–18
- 2 Ali H, Khan E, Sajad M A. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 2013, 91: 869–881
- 3 Zhao Y, Yang Q W. Research progress of river heavy metal pollution in China based on CNKI (in Chinese). *J Chongqing Jiaotong Univ (Nat Sci)*, 2020, 39: 104–109 [赵宇, 杨清伟. 基于CNKI的中国河流重金属污染研究进展分析. 重庆交通大学学报(自然科学版), 2020, 39: 104–109]
- 4 van den Hoogen J, Geisen S, Routh D, et al. Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature*, 2019, 572: 194–198
- 5 Ministry of Environmental Protection and Ministry of Land and Resources. Publishment of a national survey of soil pollutions (in Chinese). *Chin J Environ Manag*, 2014, 6: 26 [环境保护部与国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报正式公布. 中国环境管理, 2014, 6: 26]
- 6 Gong J. Poisonous cadmium rice. <http://magazinecaixincom/2011-02-12/100224834html>, 2011 [宫靖. 镉米杀机. <http://magazinecaixincom/2011-02-12/100224834html>, 2011]
- 7 Shi Z R, Shan G B, Yang L, et al. Remediation technology of heavy metal contaminated soil (in Chinese). *Contemp Chem Ind*, 2020, 49: 1812–1815 [史作然, 单广波, 杨丽, 等. 土壤重金属污染修复技术综述. 当代化工, 2020, 49: 1812–1815]
- 8 Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull*, 2003, 68: 167–182
- 9 Taylor S R. Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table. *Geochim Cosmochim Acta*, 1964, 28: 1273–1285
- 10 Müller G. Schwermetalle in den sedimenten des Rheins-Veränderungenseit. *Umschau*, 1979, 79: 778–783
- 11 Huang S J, Zhou Y, Rong H, et al. Research on assessment method of sediment pollution in river and lake (in Chinese). *Pearl River*, 2020, 41: 117–121 [黄森军, 周严, 荣华, 等. 河湖底泥污染评价方法研究综述. 人民珠江, 2020, 41: 117–121]
- 12 Nemerow N L. *Stream, Lake, Stuary, and Ocean Pollution*. New York: United States, 1991
- 13 Hakanson L. An ecological risk index for aquatic pollution control: a sedimentological approach. *Water Res*, 1980, 14: 975–1001
- 14 Tomlinson D L, Wilson J G, Harris C R, et al. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index. *Helgolander Meeresunters*, 1980, 33: 566–575
- 15 Zhai H, Lu W X, Yang W, et al. Application of fuzzy mathematics and contamination index method to evaluation of soil heavy metals pollution (in Chinese). *Soils*, 2008, 40: 212–215 [翟航, 卢文喜, 杨威, 等. 模糊数学和污染指数法在土壤重金属污染中的应用. 土壤, 2008, 40: 212–215]
- 16 Liu Y, Wang H, Zhang H, et al. A comprehensive support vector machine-based classification model for soil quality assessment. *Soil Tillage Res*, 2016, 155: 19–26
- 17 Xia M, Zhao B Z, Zhang J B, et al. GIS-based research on soil heavy metal accumulation in a fluvo-aquic soil area typical of the Huang-Huai-Hai plain (in Chinese). *Acta Pedo Sin*, 2013, 50: 684–692 [夏敏, 赵炳梓, 张佳宝. 基于GIS的黄淮海平原典型潮土区土壤重金属积累研究. 土壤学报, 2013, 50: 684–692]
- 18 Rapant S, Kordik J. An environmental risk assessment map of the Slovak Republic: application of data from geochemical atlases. *Environ Geol*, 2003, 44: 400–407

- 19 Anderson G L, Boyd W A, Williams P L. Assessment of sublethal endpoints for toxicity testing with the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Toxicol Chem*, 2001, 20: 833–838
- 20 Chen J D. Research progress in the application of *Caenorhabditis elegans* in ecotoxicology (in Chinese). *Practical Rural Technol*, 2018, (9): 34–36 [陈剑东. 秀丽隐杆线虫在生态毒理学中的应用研究进展. *农村实用技术*, 2018, (9): 34–36]
- 21 Williams P L, Dusenbery D B. Aquatic toxicity testing using the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Environ Toxicol Chem*, 1990, 9: 1285–1290
- 22 Dong J, Boyd W A, Freedman J H. Molecular characterization of two homologs of the *Caenorhabditis elegans* cadmium-responsive gene *cdr-1*: *cdr-4* and *cdr-6*. *J Mol Biol*, 2008, 376: 621–633
- 23 Barsyte D, Lovejoy D A, Lithgow G J. Longevity and heavy metal resistance in *daf-2* and *age-1* long-lived mutants of *Caenorhabditis elegans*. *FASEB j*, 2001, 15: 627–634
- 24 Roh J Y, Choi J. Ecotoxicological evaluation of chlorpyrifos exposure on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2008, 71: 483–489
- 25 Van Bellegheem F, Cuypers A, Semane B, et al. Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 2007, 173: 495–508
- 26 Sanità Di Toppi L, Vurro E, De Benedictis M, et al. A bifasic response to cadmium stress in carrot: early acclimatory mechanisms give way to root collapse further to prolonged metal exposure. *Plant Physiol Biochem*, 2012, 58: 269–279
- 27 De Benedictis M, Brunetti C, Brauer E K, et al. The *Arabidopsis thaliana* knockout mutant for phytochelatin synthase1 (*cad1-3*) is defective in callose deposition, bacterial pathogen defense and auxin content, but shows an increased stem lignification. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 9
- 28 Amin N M. Techniques for assessment of heavy metal toxicity using *Acanthamoeba* sp, a small, naked and free-living amoeba. In: Mahamane A, ed. *The Functioning of Ecosystems*. Rijeka: InTech, 2012
- 29 Yasur J, Usha Rani P. Lepidopteran insect susceptibility to silver nanoparticles and measurement of changes in their growth, development and physiology. *Chemosphere*, 2015, 124: 92–102
- 30 Vontas J G, Small G J, Hemingway J. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem J*, 2001, 357: 65–72
- 31 Cossu C, Doyotte A, Jacquin M C, et al. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1997, 38: 122–131
- 32 Egli D, Domènech J, Selvaraj A, et al. The four members of the *Drosophila* metallothionein family exhibit distinct yet overlapping roles in heavy metal homeostasis and detoxification. *Genes Cells*, 2006, 11: 647–658
- 33 Wilczek G, Babczyńska A, Augustyniak M, et al. Relations between metals (Zn, Pb, Cd and Cu) and glutathione-dependent detoxifying enzymes in spiders from a heavy metal pollution gradient. *Environ Pollut*, 2004, 132: 453–461
- 34 Janssens T K S, Roelofs D, van Straalen N M. Molecular mechanisms of heavy metal tolerance and evolution in invertebrates. *Insect Sci*, 2009, 16: 3–18
- 35 Fire A, Xu S Q, Montgomery M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, 391: 806–811
- 36 Vatamaniuk O K, Bucher E A, Ward J T, et al. A new pathway for heavy metal detoxification in animals. *J Biol Chem*, 2001, 276: 20817–20820
- 37 Günther V, Lindert U, Schaffner W. The taste of heavy metals: gene regulation by MTF-1. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res*, 2012, 1823: 1416–1425
- 38 Luo M, Finet C, Cong H, et al. The evolution of insect metallothioneins. *Proc Royal Soc B*, 2020, 287
- 39 Bahadorani S, Mukai S, Egli D, et al. Overexpression of metal-responsive transcription factor (MTF-1) in *Drosophila melanogaster* ameliorates life-span reductions associated with oxidative stress and metal toxicity. *Neurobiol Aging*, 2010, 31: 1215–1226
- 40 Purać J, Nikolić T V, Kojić D, et al. Identification of a metallothionein gene in honey bee *Apis mellifera* and its expression profile in response to Cd, Cu and Pb exposure. *Mol Ecol*, 2019, 28: 731–745
- 41 Gao M, Chen M, Li C, et al. Long non-coding RNA MT1DP shunts the cellular defense to cytotoxicity through crosstalk with MT1H and RhoC in cadmium stress. *Cell Discov*, 2018, 4: 5
- 42 Yatsunenko T, Rey F E, Manary M J, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 2012, 486: 222–227
- 43 Schmidt T S B, Raes J, Bork P. The human gut microbiome: from association to modulation. *Cell*, 2018, 172: 1198–1215

- 44 Kundu P, Blacher E, Elinav E, et al. Our gut microbiome: the evolving inner self. *Cell*, 2017, 171: 1481–1493
- 45 Liu W, Sun Z, Ma C, et al. Exposure to soil environments during earlier life stages is distinguishable in the gut microbiome of adult mice. *Gut Microbes*, 2021, 13: 1830699
- 46 Shapira M. Host-microbiota interactions in *Caenorhabditis elegans* and their significance. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 38: 142–147
- 47 Scott T A, Quintaneiro L M, Norvaisas P, et al. Host-microbe co-metabolism dictates cancer drug efficacy in *C. elegans*. *Cell*, 2017, 169: 442–456.e18
- 48 Zhu D, Zheng F, Chen Q L, et al. Exposure of a soil collembolan to Ag nanoparticles and AgNO₃ disturbs its associated microbiota and lowers the incidence of antibiotic resistance genes in the gut. *Environ Sci Technol*, 2018, 52: 12748–12756
- 49 Wang Y F, Qiao M, Wang H T, et al. Species-specific effects of arsenic on the soil collembolan gut microbiota. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 183: 109538
- 50 van den Brule S, Ambroise J, Lecloux H, et al. Dietary silver nanoparticles can disturb the gut microbiota in mice. *Part Fibre Toxicol*, 2016, 13: 38
- 51 Wang H T, Zhu D, Li G, et al. Effects of arsenic on gut microbiota and its biotransformation genes in earthworm *Metaphire sieboldi*. *Environ Sci Technol*, 2019, 53: 3841–3849
- 52 Wu N, Wang X, Yan Z, et al. Transformation of pig manure by passage through the gut of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*): metal speciation, potential pathogens and metal-related functional profiling. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 211: 111925
- 53 Duan H, Yu L, Tian F, et al. Gut microbiota: a target for heavy metal toxicity and a probiotic protective strategy. *Sci Total Environ*, 2020, 742: 140429
- 54 Fong J C, De Guzman B E, Lamborg C H, et al. The Mercury-tolerant microbiota of the zooplankton *Daphnia* aids in host survival and maintains fecundity under mercury stress. *Environ Sci Technol*, 2019, 53: 14688–14699
- 55 Lee S, Kim Y, Choi J. Effect of soil microbial feeding on gut microbiome and cadmium toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 187: 109777
- 56 Zhou G W, Yang X R, Zheng F, et al. Arsenic transformation mediated by gut microbiota affects the fecundity of *Caenorhabditis elegans*. *Environ Pollut*, 2020, 260: 113991
- 57 Zheng F, Bi Q F, Giles M, et al. Fates of antibiotic resistance genes in the gut microbiome from different soil fauna under long-term fertilization. *Environ Sci Technol*, 2021, 55: 423–432
- 58 Giongo A, Dos Anjos Borges L G, Marconatto L, et al. Adaption of microbial communities to the hostile environment in the Doce River after the collapse of two iron ore tailing dams. *Heliyon*, 2020, 6: e04778
- 59 Briskine R V, Paape T, Shimizu-Inatsugi R, et al. Genome assembly and annotation of *Arabidopsis halleri*, a model for heavy metal hyperaccumulation and evolutionary ecology. *Mol Ecol Resour*, 2017, 17: 1025–1036
- 60 Liu J, Guo L, Li Z, et al. Genomic analyses reveal evolutionary and geologic context for the plateau fungus *Ophiocordyceps sinensis*. *Chin Med*, 2020, 15: 107
- 61 Anderson C, Cunha L, Sechi P, et al. Genetic variation in populations of the earthworm, *Lumbricus rubellus*, across contaminated mine sites. *BMC Genet*, 2017, 18: 97
- 62 Bernstein M R, Zdraljevic S, Andersen E C, et al. Tightly linked antagonistic-effect loci underlie polygenic phenotypic variation in *C. elegans*. *Evol Lett*, 2019, 3: 462–473
- 63 Sahu S N, Lewis J, Patel I, et al. Genomic analysis of stress response against arsenic in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE*, 2013, 8: e66431
- 64 Cui Y, McBride S J, Boyd W A, et al. Toxicogenomic analysis of *Caenorhabditis elegans* reveals novel genes and pathways involved in the resistance to cadmium toxicity. *Genome Biol*, 2007, 8: R122
- 65 Novillo A, Won S J, Li C, et al. Changes in nuclear receptor and vitellogenin gene expression in response to steroids and heavy metal in *Caenorhabditis elegans*. *Integr Comp Biol*, 2005, 45: 61–71
- 66 Shomer N, Kadhim A Z, Grants J M, et al. Mediator subunit MDT-15/MED15 and nuclear receptor HIZR-1/HNF4 cooperate to regulate toxic metal stress responses in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*, 2019, 15
- 67 Bruinsma J J, Schneider D L, Davis D E, et al. Identification of mutations in *Caenorhabditis elegans* that cause resistance to high levels of dietary zinc and analysis using a genomewide map of single nucleotide polymorphisms scored by pyrosequencing. *Genetics*, 2008, 179: 811–828
- 68 Xu L, Yang J, Xu M, et al. Speciation and adaptive evolution reshape antioxidant enzymatic system diversity across the phylum Nematoda. *BMC*

Biol, 2020, 18: 181

- 69 Handayani N D, Esquibet M, Montarry J, et al. Distribution, DNA barcoding and genetic diversity of potato cyst nematodes in Indonesia. *Eur J Plant Pathol*, 2020, 158: 363–380

Risk assessments and health impacts of heavy metal pollution

ZHENG Fei, GUO Xin, GUO BoYang, HUANG XianLiang & CHEN Bing

School of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China

Heavy metal pollution is a serious global environmental issue, posing huge risks to food security and human health. As a typical biomarker of heavy metals, soil nematodes develop complex defenses in response to heavy metal exposures. Meanwhile, their gut microbiomes assist host resistance to heavy metals. Here we review the pollution status and assessment methods of heavy metals at home and abroad and summarize their effects on the behavior, physiology, and biochemistry of soil nematodes. Additionally, defense mechanisms of organisms against heavy metals are reviewed, including barrier functions of the cell wall and membrane, changes in active substances, metallothionein overexpression, and noncoding RNA regulation. We propose that the diversity and composition of the nematode gut microbiome can be used as a new indicator of heavy metal toxicity. Furthermore, long-term heavy metal exposure could lead to adaptive evolution, such as the emergence and enrichment of heavy metal hyperaccumulation, resistance, and detoxification genes. Additionally, we can map genetic changes, such as resistance mutations in genes and synergies of resistance, by quantifying the genome-level response of genetic variation under environmental stresses. Finally, we provide a prospect on the ecotoxicology of heavy metals and indicate that future research should focus on the current ecological environment and human health, explore the ecological role of soil fauna gut microbiome, and further understand the potential mechanism of occurrence and development of heavy metal toxicity and biological detoxification.

heavy metal, biotoxicity, detoxification mechanisms, nematode, gut microbiome, adaptive evolution

doi: [10.1360/SSV-2021-0318](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0318)