

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2020073002

张聪, 王志新, 刘新会, 等. 河北黄壤中铅和铬(VI)对赤子爱胜蚓的毒性效应[J]. 环境化学, 2021, 40(6): 1683-1690.

ZHANG Cong, WANG Zhixin, LIU Xinhui, et al. Toxic effects of lead and chromium(VI) on the earthworm(*Eisenia fetida*) in Hebei soils[J]. Environmental Chemistry, 2021, 40(6): 1683-1690.

河北黄壤中铅和铬(VI)对赤子爱胜蚓的毒性效应*

张聪^{1**} 王志新¹ 刘新会² 袁晓娟¹

(1. 中海石油环保服务(天津)有限公司, 天津, 300452; 2. 北京师范大学环境学院, 北京, 100875)

摘要 通过向供试土壤(河北黄壤)中添加 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 模拟受污染土壤, 分别研究了 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)体内超氧化物酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(oxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的影响及赤子爱胜蚓对土壤中铅和铬的富集. 研究表明, 土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度和暴露时间均对蚯蚓体内 Pb 和 Cr 含量产生明显影响. 暴露 7 d 和 21 d 后, 蚯蚓体内 Pb 含量随土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的增加而增加; 蚯蚓体内 Pb 富集系数均小于 1, 说明赤子爱胜蚓对土壤中的 Pb 仅有吸收, 而没有富集作用; 蚯蚓体内 Cr 富集系数均远大于 1, 说明赤子爱胜蚓对土壤中的 Cr 具有很强的富集作用. 蚯蚓对 Cr 的富集量要远远大于 Pb, 这说明赤子爱胜蚓对不同重金属的富集能力是不同的, 其对重金属的富集具有一定的选择性. 在测试浓度范围内 ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$: 0—1000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$: 0—90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对赤子爱胜蚓体内 SOD、POD 和 CAT 活性均产生了显著的影响, 暴露 1 d 后, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 对蚯蚓体内 3 种抗氧化酶活性呈现激活作用, 暴露 21 d 后, 蚯蚓体内 POD 和 CAT 活性均随土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的增加而降低; 除此之外, 3 种抗氧化酶活性出现时高时低的波动, 呈现不同程度的激活或抑制作用, 表明其活性与土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的剂量-效应关系不显著.

关键词 铅, 铬, 河北黄壤, 赤子爱胜蚓, 生物富集, 超氧化物酶 SOD, 过氧化物酶 POD, 过氧化氢酶 CAT.

Toxic effects of lead and chromium(VI) on the earthworm (*Eisenia fetida*) in Hebei soils

ZHANG Cong^{1**} WANG Zhixin¹ LIU Xinhui² YUAN Xiaojuan¹

(1. China Offshore Environmental Services Co. Ltd., Tianjin, 300452, China; 2. School of Environment, Beijing Normal University, Beijing, 100875, China)

Abstract Effects of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ on activities of three antioxidative enzymes, superoxide dismutase (SOD), peroxidase(POD) and catalase (CAT) in the earthworm, *Eisenia fetida*, were investigated with Hebei soils by adding $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. The effects of earthworm accumulation of lead (Pb) and chromium (Cr) were also studied. The results showed that the heavy metal level in the soil and the exposure time both influenced the contents of Pb and Cr in the earthworm. The Pb level in the earthworm increased with increasing $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ concentration in the soil after 7-days and 21-days exposure. The bioconcentration factors of Pb in the earthworms were all lower than 1, which indicated that earthworms could only absorb part of Pb rather than accumulate them. The bioconcentration factors of Cr in the earthworms were all higher than 1 after 7-days and

2020年7月30日收稿(Received: July 30, 2020).

* 国家重点研发计划(2019YFC1804604)资助.

Supported by National Key Research and Development Program of China (2019YFC1804604).

** 通讯联系人 Corresponding author, Tel: 15201148826, E-mail: 244326285@qq.com

21-days exposure, which indicated that earthworms had strong chromium accumulation ability. The accumulation of Cr was much higher than that of Pb, suggesting that Cr could be taken up more easily by earthworms than Pb and earthworms are selective about the accumulation of heavy metals. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ both caused significant effects (activation or inhibition) on activities of three antioxidative enzymes. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ induced the activities of the three antioxidant enzymes in earthworms after 1-day exposure, and the POD and CAT activities decreased with the increase of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ concentrations in the soils after 21-day exposure. Besides, the unpredictable trends of SOD, POD and CAT activities indicating that there was no significant dose-response relationship between the activities and the concentrations of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ in the soils.

Keywords lead, chromium(VI), Hebei soils, *Eisenia fetida*, bioaccumulation, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT).

近年来,一系列工农业活动导致重金属铅和铬大量添加于土壤环境中,其对陆生动植物的潜在毒性效应已经引起人们的广泛关注.铅和铬进入土壤后,可能会对土壤生物产生一系列毒性效应,如影响土壤动植物的存活、摄食、行为和繁殖,阻碍生物正常生长,改变有关酶活性及损伤DNA等^[1-3].

蚯蚓作为土壤动物最大的常见类群之一,在陆地生态系统中发挥着十分重要的功能^[4-5];其代表了土壤生物总量的80%,对土壤生态系统的健康和肥力起着至关重要的作用^[6].此外,蚯蚓被美洲试验材料协会(ASTM)、经济合作与发展组织(OECD)以及国际标准化组织(ISO)作为陆生生态系统标准毒性测试的模式生物^[7].

目前,有关Pb和Cr等重金属对蚯蚓的生态毒理效应研究^[1-3,5]较多,但主要采用人工土壤,且基本没有考虑污染物在土壤中的老化作用.为了对2种重金属的毒性效应提供更接近实际情况的基础数据,本文研究了河北黄壤中铅和铬对赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)的毒性效应及其在蚯蚓体内的富集.

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试剂与材料

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (分析纯)和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司,纯度大于98%.

1.2 试验所用蚯蚓

试验所用蚯蚓为标准测试生物赤子爱胜蚓,购自北京坤龙养殖中心.新购置的蚯蚓以发酵腐熟的牛粪和燕麦片作为饲料,每星期喂食1次,在室温20—25℃,培养基湿度约80%—85%的自然光照条件下长期饲养并进行繁殖.试验选用具有生殖环带、体重约300—600 mg且行为活跃的健壮成蚓.试验前将蚯蚓放入与试验环境相同的条件下驯养1 d.

1.3 试验土壤

试验土壤采集自保定风帆蓄电池厂厂区附近的农田土.土壤样品采集后运回实验室,置于-20℃冰箱中保存备用.供试土壤的基本理化性质见表1.

表1 供试土壤的理化性质

Table 1 The physical and chemical properties of soils for experiments

	Pb/(mg·kg ⁻¹)	Cr/(mg·kg ⁻¹)	pH	含水率/% Moisture content
土壤	6.408	11.327	8.09	2.681

试验前从冷冻冰箱中取出土壤样品并解冻,在实验室条件下风干,剔除石头以及植物根系,研磨,过筛(<2 mm).

1.4 试验方法

根据 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对赤子爱胜蚓的21 d急性毒性测试结果,在此基础上分别设置了6个浓度组($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度分别为0、200、400、600、800、1000 mg·kg⁻¹)和4个浓度组($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度分别

为 0、30、60、90 mg·kg⁻¹) 进行酶活试验. 试验所用器皿为 1 L 的玻璃烧杯, 以塑料薄膜封口, 然后在其上钻直径约为 1 mm 的小孔若干供通风和透气.

配置试验土壤时, 先将适量的 Pb(NO₃)₂ 和 K₂Cr₂O₇ 配制(通过母液稀释)成 50 mL 的水溶液, 加入 500 g 试验土壤中, 充分混匀后, 再用蒸馏水将土壤湿度调节至 35%, 平衡 28 d 后用于试验, 每个浓度组设置 3 个平行. 试验前将蚯蚓置于湿润的滤纸上清肠 1 d.

土壤平衡 28 d 后每个浓度组放入 12 条蚯蚓, 然后将测试器皿置于人工气候箱中, 持续光照, 在光照强度为 800 lx、温度为 (20±1) °C、湿度为 79%—82% 的条件下培养, 分别于试验第 1、3、7、14、21 天后测定蚯蚓体内超氧化物酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性; 并于试验第 7、21 d 测定蚯蚓体内 Pb 和 Cr 的含量. 整个试验期间不喂食.

1.5 酶液的提取及酶活性测定

蚯蚓匀浆缓冲液的制备: 用万分之一的分析天平称取三羟甲基氨基甲烷(Tris): 6.0570 g, 二硫苏糖醇(DTT): 0.15425 g, 乙二胺四乙酸(EDTA): 0.29225 g, 蔗糖: 85.570 g, 加入适量蒸馏水溶解(约 900 mL), 然后用稀盐酸调节为 pH 7.8, 定容至 1 L. 最终所得缓冲液各组分浓度: Tris: 50 mmol·L⁻¹、DTT: 1 mmol·L⁻¹、EDTA: 1 mmol·L⁻¹、蔗糖: 250 mmol·L⁻¹. 为防止高温使酶液失活, 酶液提取操作均在 4 °C 条件下进行.

每个浓度组取 1—2 条蚯蚓, 用蒸馏水冲洗干净, 滤纸吸干表面水分后, 称重, 然后快速将蚯蚓剪碎, 加入 9 倍匀浆缓冲液(V/W=9), 在组织研磨仪中制成 10% 的组织匀浆. 将匀浆液转入 2 mL 的离心管中, 冷冻离心 10 min(4000 r·min⁻¹, 4 °C), 取上清液, 分装于 1.5 mL 的离心管中, 在 -80 °C 的超低温冰箱中保存用以测定其酶活性.

酶活性测定时, 取出样品, 在 4 °C 条件下解冻. SOD、POD 和 CAT 的活性以及蛋白质含量的测定均按照所购买的南京建成生物工程研究所试剂盒说明书进行. SOD 和 POD 酶活性以每毫克蛋白质计, CAT 酶活性以每克蛋白质计.

1.6 蚯蚓体内重金属含量测定

每个浓度组取 2 条蚯蚓, 用蒸馏水冲洗干净后放入 50 mL 烧杯中吐泥 3 d(保鲜膜封口, 扎孔), 然后用蒸馏水冲洗干净, 于烘箱中烘至衡重(105 °C). 取出冷却后研磨, 用于测定重金属含量.

称取定量研磨后的蚯蚓, 放入 50 mL 小烧杯中, 加 20 mL 浓硝酸. 盖上培养皿过夜. 然后加入高氯酸 5 mL, 在通风橱中加热消解, 直至冒出大量白烟, 如果样品没有完全溶解, 冷却后再加入适量浓硝酸和高氯酸, 加热, 直到溶液变清为止. 然后转入 50 mL 容量瓶中, 定容, 用 ICP-MS 测定 Pb、Cr 的含量.

1.7 数据分析与处理

数据结果采用平均值±标准偏差(mean±S.D.)的形式表示, 用 SPSS20.0 软件中的单因素方差分析(one-way ANOVA)对对照组和试验组进行显著性差异分析. 其中, $P < 0.05$ 和 $P > 0.05$ 分别表示对照组和试验组之间具有显著性差异和无显著性差异. 若 $P < 0.01$, 则表示两者之间有极显著性差异.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 Pb(NO₃)₂ 和 K₂Cr₂O₇ 对蚯蚓酶活性的影响

2.1.1 Pb(NO₃)₂ 对蚯蚓酶活性的影响

整个试验过程中, 对照组和试验组均未出现蚯蚓死亡现象. 图 1 是不同 Pb(NO₃)₂ 浓度作用下蚯蚓体内 SOD、POD 和 CAD 活性测定结果.

由图 1 可知, 除个别浓度组外, 试验组 SOD 活性与对照组相比总体变化趋势不明显. 暴露第 1 天, 蚯蚓体内 SOD 活性在低浓度下(200 mg·kg⁻¹)显著升高($P < 0.05$), 与对照组相比升高了 65.8%. 暴露第 3 天, 蚯蚓体内 SOD 活性随土壤中 Pb(NO₃)₂ 浓度的升高呈逐渐下降趋势, 高浓度 1000 mg·kg⁻¹ 组蚯蚓体内 SOD 活性显著降低($P < 0.05$), 与对照组相比降低了 45.9%. 暴露第 7 天时, 各试验组蚯蚓体内 SOD 活性随土壤中 Pb(NO₃)₂ 浓度的升高呈先升高后降低趋势, 表现出低浓度下刺激高浓度下抑制的现象. 当暴露时间延长至 14 d 和 21 d 时, 各试验组蚯蚓体内 SOD 活性与对照组相比无显著性差异

($P>0.05$).

由图 1 可知,同 SOD 一样,暴露第 1 天,蚯蚓体内 POD 活性在低浓度下($200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)显著升高($P<0.05$),与对照组相比升高了 37.5%. 暴露第 3 天和第 7 天时,蚯蚓体内 POD 活性均先升高后降低,表现出低浓度下刺激高浓度下抑制的现象. 暴露第 14 天,各试验组 POD 活性与对照组无显著性差异($P>0.05$). 当暴露达到 21 d,各试验组 POD 活性与对照组相比显著降低($P<0.05$),基本均降低了 20%—30%.

由图 1 可知,暴露第 1 天,蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的升高而逐渐升高, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度为 $800 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组显著高于对照组($P<0.05$),与对照组相比分别升高了 55.0% 和 68.6%. 暴露第 3 天,蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的升高而显著降低($P<0.05$),各试验组与对照组相比基本均降低了 50.0%. 暴露第 7 天和第 14 天,试验组蚯蚓体内 CAT 活性与对照组相比无显著性差异($P>0.05$). 当暴露时间延长至 21 d 时,各试验组蚯蚓体内 CAT 活性与对照组相比极显著降低($P<0.01$),基本降低了 50.0%.

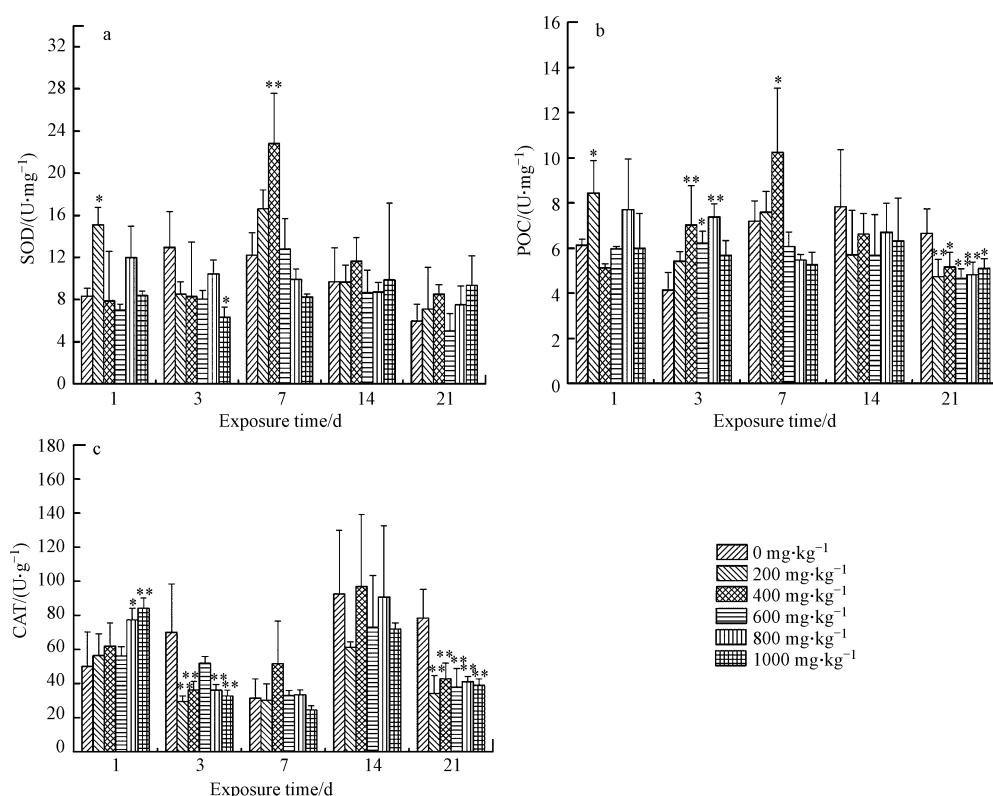


图 1 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 对蚯蚓体内 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Fig.1 The effects of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ on SOD、POD and CAT activity of earthworms

2.1.2 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对蚯蚓酶活性的影响

图 2 是不同 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度作用下蚯蚓体内 SOD、POD 和 CAT 活性测定结果. 由图 2 可知,暴露第 1 天和第 3 天时,各试验组 SOD 活性与对照组相比无显著性差异($P>0.05$). 暴露第 7 天时,蚯蚓体内 CAT 活性先升高后降低,表现出低浓度下刺激高浓度下抑制的现象. 暴露第 14 天时,蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的升高而逐渐降低; $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度为 $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $90 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组与对照相比显著降低($P<0.05$),分别下降了 34.5% 和 33.9%. 当暴露时间延长到 21 d 时,蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的升高呈上升趋势,其中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度为 $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组显著高于对照组($P<0.05$),与对照组相比升高了 51.5%.

由图 2 可知,暴露第 1 天时,蚯蚓体内 POD 活性随土壤中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的升高表现出先降低后升高的趋势. 暴露第 3 天和第 7 天时,各试验组蚯蚓体内 POD 活性与对照组相比无显著性差异($P>0.05$). 当暴露延长至 14 d 和 21 d 时,蚯蚓体内 POD 活性随土壤中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的升高而逐渐降低;高浓度

试验组与对照组相比显著降低($P<0.05$), 分别下降了 39.6% 和 36.8%。

由图 2 可知, 暴露第 1 天时, 蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而逐渐升高, $K_2Cr_2O_7$ 浓度为 $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组 POD 活性达到最大, 与对照组相比升高了 72.6%; 暴露第 3 天时, 蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而逐渐降低, $K_2Cr_2O_7$ 浓度为 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组 POD 活性显著降低($P<0.05$), 与对照组相比降低了 46.5%。暴露第 7 天和第 14 天, 各试验组 CAT 活性与对照组相比无显著性差异($P>0.05$)。当暴露时间延长到第 21 天天时, 蚯蚓体内 CAT 活性随土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而逐渐降低, 其中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度为 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验组 POD 活性显著降低($P<0.05$), 与对照组相比分别降低了 64.8% 和 52.3%。

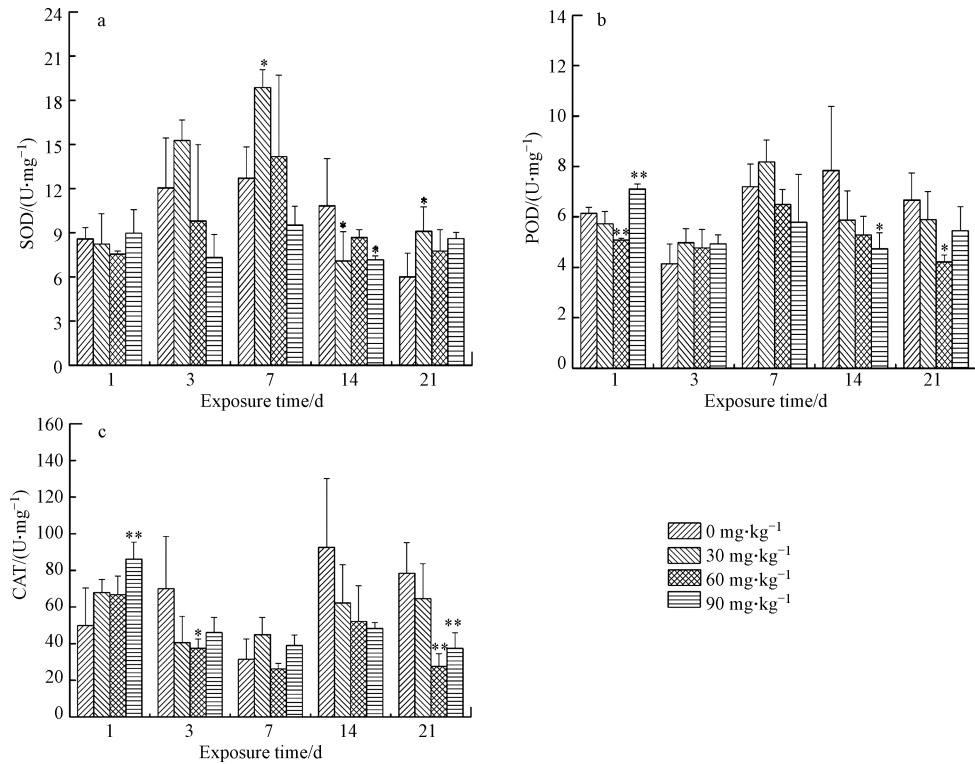


图 2 $K_2Cr_2O_7$ 对蚯蚓体内 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Fig.2 The effects of $K_2Cr_2O_7$ on SOD、POD and CAT activity of earthworms

2.2 蚯蚓对 Pb 和 Cr 的富集

2.2.1 蚯蚓对 Pb 的富集

图 3 是不同 $Pb(NO_3)_2$ 浓度作用下蚯蚓体内 Pb 含量测定结果. 由图 3 可知, 土壤中 $Pb(NO_3)_2$ 的浓度和暴露时间均对蚯蚓体内 Pb 含量产生明显影响. 蚯蚓体内 Pb 的含量在同一时间不同浓度下均随土壤中 $Pb(NO_3)_2$ 浓度的增加而增加. 在低浓度下($200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 暴露 21 d 后蚯蚓体内 Pb 的含量与 7 d 基本一致, 接近 $0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 然而在高浓度下($200\text{—}1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 暴露 21 d 后蚯蚓体内 Pb 含量均高于 7 d 时的含量, 说明随着暴露时间的延长, 蚯蚓体内 Pb 含量不断增加. 这与前人的研究结果是一致的, 朱宇恩^[8]的研究结果表明, Pb 处理土壤中蚯蚓体内 Pb 含量随着培养天数的增加而升高. 伏小勇等^[9]的研究结果表明, 蚯蚓对土壤中重金属 Pb 的富集量随着重金属浓度的增加而增加.

蚯蚓体内 Pb 含量与土壤中 Pb 浓度的回归分析见表 2. 因当土壤中 $Pb(NO_3)_2$ 浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 蚯蚓对 Pb 的吸收量基本为 $0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 因此仅对高浓度下蚯蚓体内 Pb 含量与土壤中 Pb 浓度进行回归分析. 由表 2 可知, 在测试浓度范围内 (Pb 浓度为 $248.7\text{—}621.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 蚯蚓体内 Pb 含量与土壤中 Pb 污染浓度的关系可以用一元回归方程表示, 两者之间有明显的正相关关系, 相关系数(r)均大于 0.950($P<0.05$). 这与前人的研究结果保持一致, Zhang 等^[10]的研究结果表明, 蚯蚓体内 Pb 富集与土壤中 Pb 含量呈显著的正相关关系 ($R^2>0.62$). 无论在实验室还是现场实际情况下, 蚯蚓体内的重金属富集通常被称为一级动力学过程^[11-13].

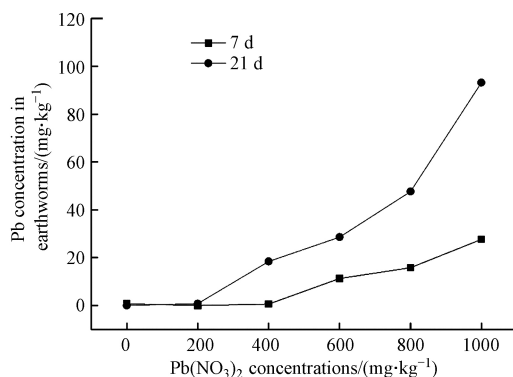


图 3 蚯蚓对 Pb 的富集

Fig.3 Accumulation of lead in earthworm body

表 2 蚯蚓体内 Pb 含量与土壤中 Pb 浓度的回归分析($n=4$)

Table 2 Regressing analysis of the lead concentration between soils and earthworms

暴露天数 Exposure time	回归方程 Regressing equation	相关系数 Correlation coefficient	显著水平 Significant level
7 d	$Y=0.069X-16.152$	0.988	<0.05
21 d	$Y=0.1956X-38.171$	0.951	<0.05

蚯蚓体内 Pb 含量与土壤 Pb 浓度的比值称为“富集系数”，可以用其来判断蚯蚓对污染土壤中 Pb 的富集能力。富集系数大于 1 说明赤子爱胜蚓对 Pb 有富集，小于 1 则说明只是一般的吸收，起不到富集的作用^[14]。不同 Pb 试验组蚯蚓体内 Pb 富集系数见表 3。由表 3 可知，暴露 7 d 和 21 d 后，蚯蚓对供试土壤中 Pb 的富集系数均小于 1，说明赤子爱胜蚓对 Pb 仅有吸收。朱宇恩^[8]的研究结果表明，赤子爱胜蚓对 3 种供试土壤褐土、潮棕壤、酸性棕壤中 Pb 的富集系数均小于 1，说明蚯蚓对 Pb 没有富集作用，只是部分吸收。

表 3 不同试验组蚯蚓 Pb 富集系数

Table 3 Bioconcentration factors of different lead treatments

暴露天数/d Exposure time	Pb/(mg·kg ⁻¹)				
	124.4	248.7	373.1	497.4	621.8
7	0.0000	0.0025	0.0303	0.0319	0.0446
21	0.0067	0.0742	0.0768	0.0958	0.1499

2.2.2 蚯蚓对铬的富集

图 4 是不同 $K_2Cr_2O_7$ 浓度作用下蚯蚓体内 Cr 含量测定结果。由图 4 可知，蚯蚓体内 Cr 含量要远远高于土壤中的 Cr 含量，说明赤子爱胜蚓对土壤中的 Cr 具有很强的富集作用。土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 的浓度和暴露时间均对蚯蚓体内 Cr 富集量产生明显影响。暴露第 7 天时，蚯蚓体内 Cr 的富集量随土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的增加表现出先升高后降低的趋势， $K_2Cr_2O_7$ 浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 试验组蚯蚓体内 Cr 的富集量要远低于对照组，可能是因为高浓度 $K_2Cr_2O_7$ 暴露下，蚯蚓的活动受到了严重的抑制，导致蚯蚓对重金属几乎不富集。然而，暴露达到 21 d 时，蚯蚓体内 Cr 的富集量随土壤中 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的增加而增加，可能是因为随着暴露时间的延长，蚯蚓对 $K_2Cr_2O_7$ 的毒性产生了适应性，所以对 Cr 的富集量又逐渐回升。

伏小勇等^[9]的研究结果表明，若蚯蚓吸收的重金属超过了蚯蚓的忍受范围，则土壤中过高的重金属含量会直接毒害蚯蚓，对其生命活性产生影响。Morgan 和 Marinussen 等^[7,15]的研究表明，锌和铜在正常生理范围内调节，但是当物种暴露于高浓度下除外。本研究表明，Cr 同样是在正常生理范围内调节，但是土壤中过高的 Cr，会对蚯蚓生命活性产生影响。

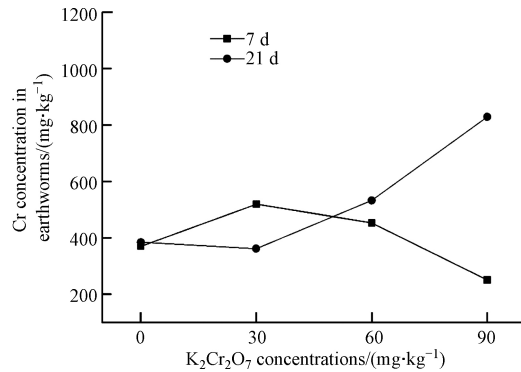


图4 蚯蚓对 Cr 的富集

Fig.4 Accumulation of chromium in earthworm body

蚯蚓体内 Cr 含量与土壤中 Cr 浓度的回归分析见表 4。由表 4 可知,在测试浓度范围内(Cr 浓度为 10.6—31.8 mg·kg⁻¹),暴露 7 d 和 21 d 后,蚯蚓体内 Cr 含量与土壤中 Cr 污染浓度之间具有一定的相关性,但相关系数没有达到显著的水平($P>0.05$),可能是由于试验浓度组较少导致的。

表 4 蚯蚓体内 Cr 含量与土壤中 Cr 浓度的回归分析($n=3$)

Table 4 Regressing analysis of the chromium concentration between soils and earthworms

暴露天数 Exposure time	回归方程 Regressing equation	相关系数 Correlation coefficient	显著水平 Significant level
7 d	$Y=-12.675X+676.38$	0.960	>0.05
21 d	$Y=22.038X+106.89$	0.988	>0.05

不同 Cr 试验组蚯蚓体内 Cr 富集系数见表 5。由表 5 可知,暴露 7 d 和 21 d 后,蚯蚓体内 Cr 富集系数均远大于 1,表明赤子爱胜蚓对 Cr 具有很强的富集能力。

表 5 不同试验组蚯蚓 Cr 富集系数

Table 5 Bioconcentration factors of different chromium treatments

暴露天数 Exposure time /d	Cr/(mg·kg ⁻¹)		
	10.6	21.2	31.8
7	49.0	21.4	7.9
21	34.1	25.1	26.1

3 结论 (Conclusions)

(1)在蚯蚓的耐受浓度范围内,土壤中 Pb(NO₃)₂ 浓度和暴露时间均对蚯蚓体内 Pb 含量产生明显影响。暴露 7 d 和 21 d 后,蚯蚓体内 Pb 含量随土壤中 Pb(NO₃)₂ 浓度的增加而增加。然而,低浓度下,赤子爱胜蚓对 Pb 基本没有吸收,可能是因为赤子爱胜蚓尽可能排除它们所摄取的重金属,或者是低浓度下 Pb 与基质中的有机质相互作用从而降低了 Pb 的生物有效性。蚯蚓体内 Pb 富集系数均小于 1,说明赤子爱胜蚓对土壤中的 Pb 仅有吸收,没有富集作用。

(2)土壤中 K₂Cr₂O₇ 的浓度和暴露时间均对蚯蚓体内 Cr 富集量产生明显影响,暴露 7 d 和 21 d 后,蚯蚓体内 Cr 富集系数都远大于 1,说明赤子爱胜蚓对土壤中的 Cr 具有很强的富集作用。用蚯蚓修复重金属 Cr 污染的土壤具有一定的应用价值。

(3)蚯蚓对 Cr 的富集量要远远大于 Pb,这说明赤子爱胜蚓对不同重金属的富集能力是不同的,其对重金属的富集具有一定的选择性。

(4)土壤中 Pb(NO₃)₂ 和 K₂Cr₂O₇ 对赤子爱胜蚓体内 SOD、POD 和 CAT 活性均产生了显著的影响,暴露 1 d 后,Pb(NO₃)₂ 对蚯蚓体内 3 种抗氧化酶活性呈现激活作用,暴露 21 d 后,蚯蚓体内 POD 和

CAT 活性均随土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的增加而降低;除此之外,3 种抗氧化酶活性出现时高时低的波动,呈现不同程度的激活或抑制作用,表明其活性与土壤中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的剂量-效应关系不显著.

参考文献 (References)

- [1] 陈丽红,刘征涛,李政,等.老化土壤中铬(VI)对赤子爱胜蚓繁殖及抗氧化酶活性的影响[J].*环境化学*,2013,32(12):2364-2369.
CHEN L H, LIU Z T, LI Z, et al. Effects of Cr(VI) on the reproduction and antioxidant enzyme activities of *Eisenia fetida* with aged soils [J]. *Environmental Chemistry*, 2013, 32(12): 2364-2369(in Chinese).
- [2] 王婉华,陈丽红,刘征涛,等.重金属铬(VI)和铅对南京土壤中赤子爱胜蚓生长及繁殖的影响[J].*环境化学*,2015,34(10):1839-1844.
WANG W H, CHEN L H, LIU Z T, et al. Effects of chromium(VI) and lead on the growth and reproduction of *Eisenia Fetida* in Nanjing soils [J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(10): 1839-1844(in Chinese).
- [3] 张聪,刘征涛,王婉华,等.铅对赤子爱胜蚓抗氧化酶活性的影响[J].*环境科学研究*,2013,26(3):294-299.
ZHANG C, LIU Z T, WANG W H, et al. Effects of lead ion on activities of three antioxidant enzymes from the earthworm, *Eisenia fetida* [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2013, 26(3): 294-299(in Chinese).
- [4] 黄初龙,张雪萍.蚯蚓环境生态作用研究进展[J].*生态学杂志*,2005,24(12):1466-1470.
HUANG C L, ZHANG X P. Research progress on environmental and ecological functions of earthworm [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(12): 1466-1470(in Chinese).
- [5] 寇永纲,伏小勇,侯培强,等.蚯蚓对重金属污染土壤中铅的富集作用[J].*环境科学与管理*,2008,33(1):62-64,73.
KOU Y G, FU X Y, HOU P Q, et al. The study of lead accumulation of earthworm in lead pollution soil [J]. *Environmental Science and Management*, 2008, 33(1): 62-64, 73(in Chinese).
- [6] GOMEZ-EYLES J L, SVENDSEN C, LISTER L, et al. Measuring and modelling mixture toxicity of imidacloprid and thiacloprid on *Caenorhabditis elegans* and *Eisenia fetida* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2009, 72(1): 71-79.
- [7] MORGAN J E, MORGAN A J. Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils [J]. *Environ Pollut*, 1988, 54(2): 123-138.
- [8] 朱宇恩.蚯蚓对土壤中有毒态Pb、Zn含量的影响及其机理研究[D].济南:山东师范大学,2005.
ZHU Y E. Effects of earthworm on available pool of Pb, Zn in soils and its mechanism[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2005(in Chinese).
- [9] 伏小勇,秦赏,杨柳,等.蚯蚓对土壤中重金属的富集作用研究[J].*农业环境科学学报*,2009,28(1):78-83.
FU X Y, QIN S, YANG L, et al. Effects of earthworm accumulation of heavy metals in soil matrix [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1): 78-83(in Chinese).
- [10] ZHANG W, CHEN L, LIU K, et al. Lead accumulations and toxic effects in earthworms (*Eisenia fetida*) in the presence of decabromodiphenyl ether [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2014, 21(5): 3484-3490.
- [11] HONEYCUTT M E, ROBERTS B L, ROANE D S. Cadmium disposition in the earthworm *Eisenia fetida* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1995, 30(2): 143-150.
- [12] SPURGEON D J, HOPKIN S P. Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils [J]. *Appl Soil Ecol*, 1999, 11(2/3): 227-243.
- [13] SPURGEON D J, HOPKIN S P. The development of genetically inherited resistance to zinc in laboratory-selected generations of the earthworm *Eisenia fetida* [J]. *Environ Pollut*, 2000, 109(2): 193-201.
- [14] 李志强,王彬彬,聂俊华.铜污染对蚯蚓体重的影响与其铜富集特征[J].*生态学报*,2009,29(3):1408-1414.
LI Z Q, WANG B B, NIE J H. Effects of copper on earthworm in body weight and its copper accumulating characteristics [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(3): 1408-1414(in Chinese).
- [15] MARINUSSEN M P J C, VAN DER ZEE S E A T M, DE HAAN F A M. Cu accumulation in *Lumbricus rubellus* under laboratory conditions compared with accumulation under field conditions [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1997, 36: 17-26.