

何应森,徐晓燕,高晓玲,等. 土壤 Cu 污染与蚯蚓体内 SOD 活性变化的响应关系[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):328-330.

土壤 Cu 污染与蚯蚓体内 SOD 活性变化的响应关系

何应森,徐晓燕,高晓玲,赖 麟
(成都师范学院生物系,四川成都 610041)

摘要:采用人工土壤试验法,研究了在不同 Cu 暴露环境中赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)体内超氧化物歧化酶活性变化的响应。结果表明:在短时间内随着 Cu 浓度的增大,蚯蚓体内 SOD 活性表现出下降趋势,表现对 SOD 活性有一定程度的抑制;随着 Cu 暴露时间的延长,蚯蚓体内 SOD 活性具有升高趋势,表现对 SOD 活性有一定程度的激活。延长 Cu 暴露时间,蚯蚓体内的 SOD 活性变化程度与 Cu 浓度没有明显的相关性。

关键词:蚯蚓;超氧化物歧化酶;铜
中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0328-02

蚯蚓是生态系统中的关键种,是用于对化学物质生态毒理学试验的合适陆生生物^[1-3]。作为土壤生态风险评价的模式生物,把蚯蚓体内的分子、细胞、酶和基因水平等作为生物标志物,根据在有毒环境污染对机体标志物的影响灵敏反应,以及环境污染作用于蚯蚓机体后出现的标志物生物学变化,来定量评价环境污染的程度。跟踪测量蚯蚓机体标志物生物学变化不仅可以为环境生物检测标准提供依据,而且也可以对土壤污染程度起到早期预警作用。近年来,蚯蚓在金属污染土壤中的应用开始受到重视,许多研究表明,蚓种对土壤重金属有一定的耐性,并可以通过取食、代谢等生命活动过程,提高土壤中重金属的生物有效性^[4],因此可以将蚯蚓用于土壤重金属污染的生物修复。利用蚯蚓机体内的标志物生物学变化来指示土壤污染状况,已经成为对土壤污染生态毒理诊断的一项重要指标^[5-6]。目前,国内外学者就环境污染对蚯蚓的影响特别是重金属污染对蚯蚓的影响进行了较多的研究^[7-9]。

铜是植物必需的微量元素,它在调整蛋白质构成、参与光合电子转移、线粒体的呼吸作用和细胞壁的新陈代谢等方面起着重要作用^[10],但过量的铜会对植物产生毒害作用,当土壤中的 Cu 浓度达到某一阈值时,植物的生长发育受阻,严重的可造成植物死亡。与 Cu 污染关系密切的土壤酶有脲酶、硝酸还原酶、过氧化氢酶、磷酸酶、水解酶等,Choudhary 等研究发现,当 Cu 浓度达到 200 mg/kg 土时,土壤脲酶和硝酸还原酶活性受到抑制^[11],而且 Cu 污染对土壤过氧化氢酶和磷酸酶活性都有不同程度的抑制作用^[12]。

蚯蚓在外源重金属污染过的土壤中通过食物链而富集重金属,表现有一定重金属耐性的同时,所富集的重金属可以引起蚯蚓体内酶活性发生变化,许多研究者提出可将蚯蚓体内酶活性变化作为生物标志物来指示土壤污染状况^[13-15]。当

土壤遭受污染之后,由于其生态条件改变,蚯蚓体内一些酶也会改变。许多研究表明,在不同重金属污染的土壤中,蚯蚓体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和乙酰胆碱酯酶(AChE)等活性响应不同^[16-17]。有关重金属 Cu 污染对蚯蚓的影响的研究,主要集中在 Cu 对蚯蚓的毒害作用上^[18-19],而对不同浓度外源性的 Cu 对蚯蚓体内 SOD 活性的影响的研究还不充分。本研究采用在不同外源 Cu 污染胁迫下,分析随 Cu 暴露时间不同引起的蚯蚓体内 SOD 活性变化的响应。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试土壤 土壤取自成都市西郊大邑县农场大田,样点处于成都平原到川西高原过度地带,30°25′~30°49′N,102°54′~103°54′E。采样深度 0~20 cm,经多点土壤采集后,剔除残根等杂物,混匀后随机取样,过 2 mm 筛,放冰盒中带回实验室,在 4℃冰箱内临时保存,备用。土壤的物化性质见表 1。

表 1 土壤样品的物化性质

质地	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	速效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	容重 (g/cm ³)	pH 值
轻壤黑土	57.18	2.54	20.32	267.62	1.18	6.83

1.1.2 供试蚯蚓 赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)购于四川蚯蚓养殖有限公司。试验选取体重范围 0.4~0.5 g/条、大小相同、形态相似、发育良好的蚯蚓,试验前驯养 1 周。

1.1.3 主要药品 CuSO₄·5H₂O,磷酸二氢钾、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷、氢氧化钠等均为分析纯。

1.1.4 主要仪器 微电脑人工气候箱(SPX-300IC,上海博迅仪器公司);高速冷冻离心机(GL-20G-II,上海);722 光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂);PHS-10A 型数字式 PH/离子计(PHS-10A,上海)等。

1.2 方法

1.2.1 染毒处理预试验 蚯蚓急性毒性试验按照人工土壤法^[20]。选用 2 个塑料盆,随机选择大小一致、健康活泼的蚯蚓 25 条,置于温度 20~25℃、湿度 80% 的黑暗处染毒。试

收稿日期:2012-11-28
基金项目:四川省教育厅科研项目(编号:11ZA233)。
作者简介:何应森(1963—),男,四川成都人,副教授,主要从事生物化学研究。E-mail:heys2003@126.com。
通信作者:徐晓燕,教授,主要从事动物生态学研究。E-mail: xxy20002000@126.com。

验设置 2 个平行组,以蒸馏水为空白对照组。试验重复 2 次,采用的 Cu 浓度为 100 mg/kg 土,对蚯蚓进行染毒处理(其中 1 个为平行试验),将其处于相同环境下观察 2 周后,发现 2 个塑料盆中蚯蚓生活正常,没有死亡。

1.2.2 染毒处理试验 将预先培养好的蚯蚓洗净,冲洗干净,在黑暗处放置 24 h,放入铺有湿润滤纸的玻璃缸中,其上再覆盖 1 层润湿的滤纸,并用保鲜膜封口。清肠后,每个塑料烧杯中随机放入 20 条蚯蚓,杯口用纱布盖好,防止水分蒸发和蚯蚓逃逸。将塑料烧杯放入温度为(20±2)℃、湿度为 70% 的人工气候培养箱中培养,试验周期为 10 d。染毒液的配制:试验设置 5 个 Cu 浓度梯度,分别为 0、20、40、60、80、100 mg/kg 土。

1.2.3 SOD 粗酶液制备和活力测定 SOD 粗酶液的制备:蚯蚓经染毒 2、5、7、10 d 后,分别从每个处理组中取出 9 条蚯蚓,清肠 1 d,将蚯蚓冲洗干净,用吸水纸吸干水分,用蒸馏水洗净,加入约 3 倍体积的 pH 值 7.8 的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液匀浆,8 000 r/min,3 min,共 4 次约 40 min,然后在 0~4℃ 条件下离心 3 000 r/min,15 min,上清液即为超氧化物歧化酶的粗酶液,置于 1~4℃ 环境中备用。SOD 活性测定采用联苯三酚自氧化法^[21]。活力单位定义为:将一定条件下使 1 mL 反应液自氧化速率抑制 50% 的酶量为 1 个单位(U)。

2 结果与分析

不同浓度、不同时间 Cu 污染后蚯蚓体内 SOD 酶活性变化情况见表 2。

Cu 处理浓度 (mg/kg 土)	处理后不同时间 SOD 酶活性(U/mg)			
	2 d	5 d	7 d	10 d
0(CK)	62.34	63.16	65.63	64.75
20	41.28	52.49	61.37	63.51
40	45.36	65.17	67.25	76.42
60	47.16	71.68	74.38	82.29
80	50.27	78.93	80.41	87.64
100	43.86	74.27	76.72	95.68

当外源重金属 Cu 的胁迫浓度分别为 20、40、60、80、100 mg/kg 土时,在染毒初期(1~2 d)内,蚯蚓体内 SOD 活性均低于对照组,即土壤中的 Cu 会抑制蚯蚓体内 SOD 的活性;随着 Cu 暴露时间的延长,蚯蚓体内 SOD 活性均呈现明显的升高,这可能是由于 Cu 对蚯蚓体内 SOD 的活性具有明显的激活作用所致;在 1~10 d 内,随染毒时间的延长,蚯蚓体内的 SOD 活性随着外源重金属 Cu 胁迫浓度的增加总体上表现出升高的趋势,说明了外源重金属 Cu 对蚯蚓 SOD 活性早期有抑制作用,晚期有激活作用,但随着时间的延长,不同浓度 Cu 处理间的 SOD 活性差异不大。

3 讨论

蚯蚓是生态系统土壤物质小循环中的重要一环,影响着农田生态系统中的物质循环和能量流动,在食物链中起着污染物传递的桥梁作用^[22-23]。在重金属污染土壤中,蚯蚓体内存在多种受污染物抑制或对污染物的诱导有响应的酶系,这

些酶系包括调控基础代谢与生理活动的功能酶系、对外源物质具有降解作用的解毒或水解酶系以及其他具有防御功能的酶系如抗氧化酶、溶菌酶等^[24]。因此,可以根据蚯蚓体内酶系的检测指标随土壤中重金属污染程度的变化,来反映土壤中重金属污染程度^[25]。目前,应用蚯蚓体内的一些敏感生理生化指标作为污染物暴露的标记物已成为研究的热点,这些指标可从微观分子水平反映环境介质的健康状况,因此有可能成为新的环境污染早期预警的重要手段^[26]。

通过 Cu 胁迫与赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*) SOD 酶活力在不同染毒时间响应试验,为将蚯蚓体内的抗氧化酶活性变化作为重金属污染环境的早期诊断和生态风险监测指标的可行性提供一定的依据。有关蚯蚓体内受重金属污染诱导有响应的酶系活性的变化研究,不仅要关注蚯蚓对污染物的敏感性,还要考虑到蚯蚓对污染物的耐性,如何把蚯蚓活动对土壤重金属不同形态变化和对重金属富集能力以及蚯蚓体内呈现诱导响应酶系的敏感性和耐受性结合起来进行研究还需要进一步深入。

参考文献:

[1] Cortet J, Gomot D E, Vaufler A, et al. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects[J]. Euro J Soil Bio, 1999, 35(3): 115-134.

[2] 王振中, 张直梅, 胡觉莲, 等. 土壤重金属污染对蚯蚓影响的研究[J]. 环境科学学报, 1994, 14(2): 236-243.

[3] 赵丽, 邱江平, 沈嘉林, 等. 重金属镉、铜对蚯蚓的急性毒性试验[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2005, 23(4): 366-370.

[4] MA Y, Dickinson N M, Wong M H. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability[J]. Biol Teritil Soils, 2002, 36: 79-86.

[5] 肖能文, 赵彩云, 李俊生. 用于土壤污染生态毒理诊断的蚯蚓生物标志物研究[J]. 江西农业学报, 2012, 24(1): 137-143.

[6] 高岩, 骆永明. 蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 140-145.

[7] 俞协治, 成杰民. 蚯蚓对土壤中铜、镉生物有效性的影响[J]. 生态学报, 2003(5): 922-927.

[8] 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.

[9] 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.

[10] Yrula I. Copper in plants[J]. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2005, 17: 145-156.

[11] Choudhary M, Jetley U K, Khan M A, et al. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 66: 204-209.

[12] 王秀丽, 徐建民, 谢正苗, 等. 重金属铜和锌污染对土壤环境质量生物学指标的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2002, 28(2): 190-194.

[13] 王慧, 张玉龙, 党秀丽, 等. 土壤镉、锌污染对蚯蚓纤维素酶活性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(2): 661-665.

[14] 卜元卿, 骆永明, 滕应, 等. 铜暴露对赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*) 抗氧化酶活力的影响[J]. 环境化学, 2007, 26(5): 593-597.

王爱英, 彭 健, 杨金红, 等. 奎屯绿洲盐生植物区系研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 330–332.

奎屯绿洲盐生植物区系研究

王爱英¹, 彭 健², 杨金红², 黄俊华³

(1. 新疆塔城地区师范学校, 新疆塔城 834700; 2. 伊犁师范学院, 新疆奎屯 833200;

3. 新疆农业大学林学与园艺学院, 新疆乌鲁木齐 830000)

摘要:对奎屯绿洲盐生植物进行广泛调查, 分析奎屯绿洲盐生植物的区系地理成分, 结果表明奎屯绿洲现有盐生植物 90 种, 隶属于 22 科 60 属, 其区系特征表现为单种属多, 地理成分复杂, 具有非常明显的温带性质; 温带分布科占非世界分布科的 60%, 温带分布属占非世界分布属的 43.5%, 地中海成分属占非世界分布属的 41.3%。

关键词:奎屯绿洲; 盐生植物; 植物区系

中图分类号: Q948.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)06–0330–03

盐生植物是生活在盐渍化土壤上的一类天然植物区系, 植物区系是一个地区一定时期内所有植物分类单位的总和, 它是植物界在一定自然地理环境条件下, 特别是自然历史条件综合作用下长期发展演化的结果。近年来, 我国植物区系研究在专科属和地区性区系地理研究中取得了许多成果, 发展了以植物为主的生物多样性及化学多样性的多学科综合研究, 但未见有关新疆奎屯绿洲的盐生植物的相关研究报道。本研究对奎屯绿洲盐生植物区系进行了系统深入的研究, 旨在阐明该地区盐生植物区系特征, 为植物多样性保护与利用、植被恢复、生态环境建设及植物引种驯化提供参考。

1 研究区概况

奎屯市位于欧亚大陆腹地, 天山北麓, 准噶尔盆地西南缘, 海拔 450~530 m, 地理坐标为北纬 44°19′~44°49′, 东经 84°47′~85°15′; 属北温带大陆性气候, 冬夏季长, 春秋短, 四季较分明; 降水量少, 蒸发量大, 年均降水量 182 mm, 年均

蒸发量 1754.8 mm; 气温日(年)差较大, 年均气温为 7.4℃。奎屯市地处山前冲积、洪积倾斜平原的前部和部分湖积、沼泽平原之上, 地势西南高、东北低, 地表多为戈壁或厚度几十厘米至 30 m 左右的亚砂土。强烈的蒸发及降雨不足导致该地土壤盐分积累, 辖区盐碱化十分严重, 分布有大量盐生植物, 整个地貌景观较单一。

2 研究方法

以奎屯绿洲盐生植物为研究对象, 对奎屯绿洲盐生植物科、属物种多样性进行分析; 根据吴征镒和潘晓玲对植物区系及新疆种子植物种属分布区类型的系统划分, 对奎屯绿洲盐生植物的科、属地理分布状况进行统计分析^[1–2]。

3 结果与分析

3.1 奎屯绿洲盐生植物种类概况

经调查采集、分类鉴定和统计, 确定奎屯绿洲盐生植物为 22 科 60 属 90 种, 且全部为被子植物, 未见蕨类植物和裸子植物, 盐生植物中藜科、蝶形花科、菊科、柽柳科、白花丹科、禾本科等的植物种类较多^[3–4]。

3.1.1 科的多样性分析 科和属是常用的分类单位, 其中科是较为高级的分类单位, 反映物种间较为广泛的亲缘关系。研究区内盐生植物科主要有杨柳科、蓼科、藜科、裸果木科、十

收稿日期: 2012–11–12

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31260114/C030501)。

作者简介: 王爱英(1964—), 女, 河南禹州人, 硕士, 副教授, 主要从事植物生理生态研究。E-mail: wangaiying421@126.com。

通信作者: 彭 健(1964—), 男, 博士, 副教授, 从事生态学研究。

E-mail: pjkt@sohu.com。

[15] Morgan A J, Evans M, Winters C, et al. Assaying the effects of chemical ameliorants with earthworms and plants exposed to a heavily polluted metalliferous soil[J]. *European Journal Soil Biology*, 2002, 38: 323–327.

[16] 林少琴, 兰瑞芳. 金属离子对蚯蚓 CAT、GSH-Px 及 SOD 酶活性的影响[J]. *海峡药学*, 2001, 13(2): 23–25.

[17] 梁海燕, 李银生, 孙 静, 等. 铝离子污染胁迫对蚯蚓重要抗氧化酶活性的影响[J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2001, 25(6): 551–556.

[18] 刘德鸿, 刘德辉, 成杰民. 土壤 Cu、Cd 污染对两种蚯蚓种的急性毒性[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(6): 706–710.

[19] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 土壤重金属污染对蚯蚓的急性毒性效应研究[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(2): 187–190.

[20] 邱江平. 蚯蚓与环境保护[J]. *贵州科学*, 2000, 18(1): 116–133.

[21] 谢卫华, 姚菊芳, 袁勤生. 联苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性的改进[J]. *医药工业*, 1988, 19(5): 217–219.

[22] Lavelle P. Earthworm activity and the soil system[J]. *Bio Fert Soils*, 1988, 6: 237–251.

[23] Spurgeon D J, Sturzenbaum S R, Svendsen C, et al. Toxicological, cellular and gene expression in earthworm exposed to copper and cadmium[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part C*, 2004, 138: 11–21.

[24] 颜增光, 何巧力, 李发生. 蚯蚓生态毒理试验在土壤污染风险评估中的应用[J]. *环境科学研究*, 2007, 20(1): 134–142.

[25] 王 新, 周启星. 土壤重金属污染生态过程、效应及修复[J]. *生态科学*, 2004, 23(3): 278–281.

[26] 高 岩, 骆永明. 蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力[J]. *土壤学报*, 2005, 42(1): 140–145.