

中华稻蝗不同体段镉与铅含量及抗氧化酶的比较

吴海花¹, 闫会平², 孙 鸽¹, 郭亚平¹, 张小民¹, 席玉英³, 马恩波¹

(1.山西大学应用生物学研究所, 山西 太原 030006; 2.山西省农产品质量与安全监测中心, 山西 太原 030006; 3.山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006)

摘要:采用现场采样及室内测试方法, 对中华稻蝗不同体段的镉与铅含量、MDA 及 H₂O₂自由基含量、GSH 含量及其相关酶(GST、GPx、GR)活性、SOD 及 CAT 活性进行了研究。结果表明, 镉与铅含量均在胸部最高, 其次为腹部和头部, 后足含量最低。胸部镉含量分别是腹部、头部和后足的 2.83、3.40 和 5.67 倍, 铅含量分别是腹部、头部和后足的 1.29、1.39 和 1.41 倍。GSH、MDA、H₂O₂含量及 SOD、CAT 活性均为后足最高, 其次为头部和腹部, 胸部最低。GST 在 4 个体段的活性无显著差异。GR 活性的顺序为头部>胸部>腹部>后足, GPx 活性的顺序为头部>腹部>胸部>后足。进入土壤中的镉与铅经食物链转运后, 在中华稻蝗体内富集, 据此可将中华稻蝗作为农业环境中镉与铅污染的指示生物。

关键词:中华稻蝗;体段;镉;铅;抗氧化系统

中图分类号:X503.223 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)03-0471-05

Comparisons of Cadmium and Lead Concentrations and Antioxidant Enzyme Activities in Different Body Segments of *Oxya chinensis*

WU Hai-hua¹, YAN Hui-ping², SUN Ge¹, GUO Ya-ping¹, ZHANG Xiao-min¹, XI Yu-ying³, MA En-bo¹

(1. Institute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Shanxi Test Center of Farm Product Quality and Safety, Taiyuan 030006, China; 3. School of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Cadmium(Cd), lead(Pb), MDA, H₂O₂, GSH concentrations and GST, GR, GPx, SOD, CAT activities in different body segments of *Oxya chinensis* were analyzed. It showed that Cd and Pb concentrations were the highest in the thorax, followed by abdomen and head, while the lowest concentrations were found in the femur. The Cd and Pb concentrations in thorax were 2.83, 3.40 and 5.67 folds and 1.29, 1.39 and 1.41 folds higher than those in abdomen, head and femur, respectively. GSH, MDA, and H₂O₂ concentrations and SOD, CAT activities were the highest in the femur, followed by head and abdomen. The lowest concentrations and activities were found in the thorax. GST activities in the four body segments showed no significant differences. The rank order of GR activities were head>thorax>abdomen>femur, whereas the rank order of GPx activities were head>abdomen>thorax>femur. The Cd and Pb concentrations in *Oxya chinensis* were biomagnified through the food chain of soil–rice–grasshopper. This suggests that, *Oxya chinensis* may be useful as the bioindicator of Cd and Pb pollution in agricultural environment.

Keywords: *Oxya chinensis*; body segments; cadmium(Cd); lead(Pb); antioxidant systems

由于矿产的开采、冶炼厂三废的排放、含重金属农业化学物质的施用,使得环境中重金属的含量不断增加,重金属污染已经成为一个全球性的环境问题^[1]。重金属污染不仅加速了生态环境的恶化,对生物多样

收稿日期:2008-04-22

基金项目:国家自然科学基金(30170612, 30470219);山西省科技厅国际合作项目(041005)

作者简介:吴海花(1976—),女,山西繁峙人,讲师,主要从事昆虫毒理学。

通讯作者:郭亚平 E-mail:guoyp1955@163.com

性构成威胁,还能通过作物的吸收在食物链间转移和积累,并对生态平衡以及机体正常的生理生化代谢和遗传发育产生影响,最终威胁着人类的身体健康。随着公众和政府对人类健康和生态环境关注程度的增加,环境中的重金属污染问题作为影响我国农业生态环境质量的重要因素,引起了人们的广泛关注^[2]。当生物体处于重金属胁迫时,细胞内产生大量的自由基,超过了抗氧化系统所能承受的范围,最终导致氧化胁迫。如果大量的自由基在细胞内积累,就会攻击蛋白

质、脂质和核酸。自由基的氧化攻击必然导致这些生物分子功能的降低,进而影响细胞的能量代谢和信号通路等重要的生命活动。这些氧化损伤的积累最终启动细胞凋亡程序^[3-6]。生物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)等抗氧化酶和抗氧化剂(谷胱甘肽、半胱氨酸)等能在一定程度上清除活性氧自由基,降低细胞受害程度^[7]。

昆虫作为全球生物多样性的重要组成部分,重金属污染对其影响同样也引起了人们的关注^[8-10]。中华稻蝗(*Oxya chinensis*)是重要的农业害虫,依赖于有水的栖息环境,且飞翔能力较弱,不作远距离迁飞,以禾本科植物为食,尤喜食水稻,其次为芦苇、稗草等杂草,也取食谷子等作物^[11]。当其生存环境中重金属污染严重时,重金属会通过食物链进入中华稻蝗体内^[12]。本文对中华稻蝗不同体段镉与铅含量、还原型谷胱甘肽(GSH)含量及其相关酶[谷胱甘肽S-转移酶(GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽还原酶(GR)]活性、SOD及CAT活性、脂质过氧化物(MDA)及H₂O₂自由基的含量进行测定,为研究重金属对中华稻蝗生理生化等方面的影响提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样本采集

实验用中华稻蝗采自山西省太原市晋源区(E112°36', N37°46')。网捕法采集重(0.58±0.13)g,约10 d龄中华稻蝗成虫,将其放入-80℃冰箱中冷冻保存备用。在同一地点采土样及水稻,自然风干,测定其镉与铅含量。

1.2 样品处理

取中华稻蝗雌、雄虫各30头,随机分成3组,每组含雌、雄虫各10头。用医用镊子和剪刀将中华稻蝗解剖成头、胸、腹、后足4部分,进行样品编号,供测镉与铅含量用。另取中华稻蝗雌、雄虫各30头,随机分成3组,每组含雌、雄虫各10头。用医用镊子和剪刀在冰上将中华稻蝗解剖成头、胸、腹、后足4部分,供测酶活性用。

1.3 重金属含量测定

采用原子吸收法测定土样、水稻、水稻叶片、中华稻蝗整体及不同体段的镉与铅含量。将样品放入65℃干燥箱中烘至恒重,水稻和蝗虫样品在HNO₃与HClO₄的体系中消化,土壤样品在HCl:HNO₃=3:1及HClO₄的体系中消化,然后用带石墨炉的原子吸收分

光光度计(SOLAAR-M, Thermo Electron, American)以石墨原子吸收法对各样品进行测定。镉与铅的含量分别用各自的空心阴极灯在228.3 nm和283.3 nm波长下测定^[12],根据标准曲线计算浓度。

1.4 GSH含量及与其相关酶活性测定

GSH含量及与GPx、GR的活性按照南京建成生物工程研究所提供的说明书,用分光光度法在SpectraMax 190型酶标仪(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA, USA)上进行测定。

谷胱甘肽S-转移酶(GST)以CDNB为底物,根据朱坤炎等^[13]的方法稍加修改进行测定。即10 μL适当稀释的酶液与190 μL 200 mmol·L⁻¹谷胱甘肽和10.35 mmol·L⁻¹的CDNB混合液(GSH:CDNB=188:2)混合,用酶标仪在340 nm处每隔10 s计数1 min,记录OD值。对照组以10 μL缓冲液代替酶液。CDNB的摩尔消光系数为9.6 mmol·L⁻¹·cm⁻¹。

1.5 SOD、CAT活性及MDA、H₂O₂含量测定

SOD、CAT活性及MDA、H₂O₂含量按照南京建成生物工程研究所提供的说明书,用分光光度法在SpectraMax 190型酶标仪(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA, USA)上进行测定。

SOD:每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U)。

1.6 蛋白含量测定

蛋白含量根据Smith等^[14]的方法,用牛血清白蛋白作为标准来测定,用酶标仪在560 nm处读取OD值。

1.7 数据分析

不同体段GSH、MDA、H₂O₂含量及GST、GPx、GR、SOD、CAT活性采用SPSS10.0软件^[15]的one-way ANOVA中的DUNCAN多重比较来进行分析。

2 结果与分析

2.1 土壤、水稻、水稻叶片及中华稻蝗的镉与铅含量(mg·kg⁻¹干重)

表1 土壤、水稻、水稻叶片及中华稻蝗的镉与铅含量
(mg·kg⁻¹干重)

Table 1 Cadmium and lead concentrations in soil, rice, rice leaf and *Oxya chinensis* (mg·kg⁻¹DW)

重金属	土壤	水稻	水稻叶片	中华稻蝗
镉	0.05±0.01	0.12±0.01	0.04±0.01	0.10±0.01
铅	2.26±0.04	3.25±0.28	0.82±0.02	1.59±0.08

表1列出了中华稻蝗生态系统各营养级的镉与铅含量。从结果可以看出,水稻中的镉与铅含量分别是土壤的2.40和1.44倍。中华稻蝗个体的镉与铅含量分别是水稻叶片的2.50和1.94倍。

2.2 中华稻蝗不同体段镉与铅的含量

表2列出了中华稻蝗不同体段镉与铅的含量。从表中结果可以看出,镉与铅的含量均为胸部最高,其次是腹部,后足含量最低。统计分析表明,胸部的镉与铅含量显著高于其他体段($F=26.13, P<0.05, n=4$ 和 $F=7.25, P<0.05, n=4$)。胸部镉含量分别是腹部、头部和后足的2.83、3.40和5.67倍,铅含量分别是腹部、头部和后足的1.29、1.39和1.41倍。

表2 中华稻蝗不同体段镉与铅的含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干重)

Table 2 Cadmium and lead concentrations in different body parts of *Oxya chinensis* ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DW)

重金属	头部	胸部	腹部	后足
镉	$0.05 \pm 0.01\text{b}$	$0.17 \pm 0.01\text{a}$	$0.06 \pm 0.01\text{b}$	$0.03 \pm 0.01\text{b}$
铅	$1.35 \pm 0.01\text{b}$	$1.87 \pm 0.11\text{a}$	$1.44 \pm 0.27\text{b}$	$1.33 \pm 0.11\text{b}$

注:结果为3次重复的平均值,记为平均值±标准差,下同。同一行内标记相同字母的平均值之间没有显著差异($P>0.05$)。

Results are the means±SD of three replicates($n=3$). The same as below. Means within rows followed by the same letter are not significantly different ($P>0.05$)

2.3 中华稻蝗不同体段GSH含量及与其相关酶的活性

图1显示中华稻蝗不同体段GSH含量及其相关酶的活性。从图中看出,后足的GSH含量显著高于其他体段($F=122.80, P<0.05, n=4$),其次是头部和腹部,胸部的含量最低。后足的GSH含量分别是头部、腹部和胸部的3.14、4.12和5.79倍。GST在4个体段均有分布,且活性无显著差异($F=0.05, P>0.05, n=4$)。头部

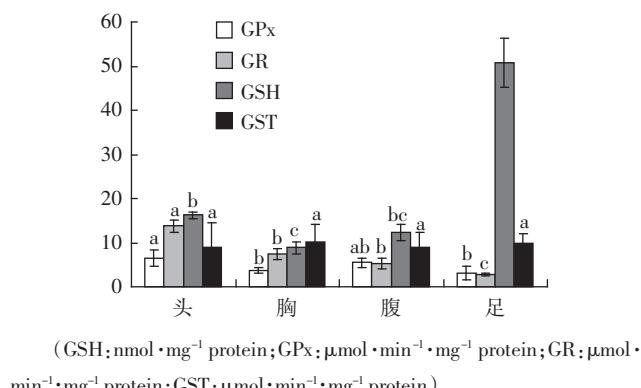


图1 中华稻蝗不同体段GSH含量及GST、GR、GPx活性
Figure 1 GSH concentrations and GST, GR, and GPx activities in different body parts of *Oxya chinensis*

的GR活性显著高于其他体段($F=122.80, P<0.05, n=4$),其次是胸部和腹部,后足的活性最低。头部的GR活性是胸部、腹部和后足的1.88、2.60和4.96倍。头部的GPx活性最高,显著高于胸部与后足($F=4.86, P<0.05, n=3$),与腹部无显著差异($F=0.73, P>0.05, n=2$)。头部的GPx活性是腹部、胸部和后足的1.19、1.75和2.10倍。

2.4 中华稻蝗不同体段SOD、CAT活性及MDA、H₂O₂含量

从图2可以看出,SOD、CAT活性及MDA、H₂O₂含量均为后足最高,其次为头部和腹部,胸部最低。后足的MDA含量显著高于其他体段($F=70.49, P<0.05, n=4$),分别是头部、腹部和胸部的2.02、2.54和2.74倍。后足H₂O₂含量显著高于胸部($F=12.02, P<0.05, n=2$),与头部及腹部含量无显著差异($F=1.87, P>0.05, n=3$),其含量分别是头部、腹部和胸部的1.12、1.29和1.39倍。后足的SOD活性显著高于其他体段($F=60.80, P<0.05, n=4$),胸部和腹部无显著差异($F=17.04, P>0.05, n=4$),后足的SOD活性分别是头部、腹部和胸部的2.59、5.11和7.29倍。后足的CAT活性显著高于腹部和胸部($F=38.00, P<0.05, n=3$),与头部无显著差异($F=0.01, P>0.05, n=3$)。后足的CAT活性分别是头部、腹部和胸部的1.01、1.48和1.94倍。

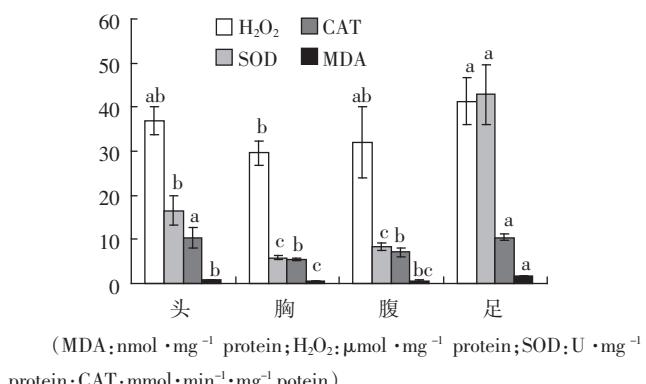


图2 中华稻蝗不同体段MDA、H₂O₂含量及SOD、CAT活性
Figure 2 MDA and H₂O₂ concentrations and SOD and CAT activities in different body parts of *Oxya chinensis*

3 讨论

环境中的重金属可通过昆虫的呼吸、表皮和取食等途径进入昆虫体内,影响其生长发育^[16]。通过取食方式进入昆虫体内的重金属可在不同的组织器官中分布。由于不同组织器官结构、功能与代谢能力的差异,以及重金属对组织器官的亲和性不同,致使重金

属在不同组织器官内的蓄积存在差异^[17]。本研究结果表明,中华稻蝗不同体段均含有重金属镉与铅,但各体段的含量不同。镉与铅含量最高的体段均为胸部,含量最低的均为后足。这与李丽君等^[12]的研究结果相一致。而 Tylko 等^[8]对家蝇的研究却发现镉与铅等重金属主要在其腹部积累。研究表明,昆虫的消化道、脂肪体及体壁都具有储存过量重金属的功能^[16]。尽管消化道及脂肪体在中华稻蝗成虫胸部和腹部均有分布,但本文在对头、胸、腹、后足解剖时发现,胸部包含整个前肠和大部分中肠及脂肪体,由于其贮存排泄和解毒代谢等生理功能使得重金属镉与铅主要在中华稻蝗的胸部积累。另外,本研究解剖胸部时没有剪去中华稻蝗的两对翅,有研究表明,昆虫翅对重金属也有较强的富集能力^[18],这也可能是引起镉与铅主要富积在中华稻蝗胸部的一个原因。后足主要为肌肉组织,肌肉对重金属的蓄积能力较弱^[19~20]。由此可以看出,组织器官在各体段的分布不同是造成镉与铅在蝗虫各体段含量存在差异的主要原因。本文只对中华稻蝗不同体段的重金属含量进行了研究,更深入地研究重金属在中华稻蝗不同组织器官中的分布,需要将这些组织器官单独进行解剖,这将是下一步的研究内容。

本文还对中华稻蝗不同体段的抗氧化剂及抗氧化酶进行了研究,结果表明,不同体段的抗氧化剂含量及抗氧化酶活性表现出与重金属含量不一致的趋势。如后足 GSH 含量、CAT、SOD 等酶的活性均最高,而后足两种重金属的含量均最低,相反胸部 GSH 含量、CAT、SOD 等酶的活性均最低,而两种重金属的含量均最高。这可能与不同体段内组织器官的结构及生理功能有关。如后足主要为肌肉组织,肌肉中含有大量的三磷酸腺苷酶(ATPase)以产生能量供应机体运动的需要,能量产生过程中伴随着糖的氧化和氧化磷酸化,在此过程中通过呼吸链将产生大量的活性氧,需要较强的抗氧化系统发挥作用以清除过多的自由基^[21]。另外,也可能与重金属对生物体的作用机理及抗氧化系统对重金属的反应密切相关。从本文研究结果可以看出,对不同体段而言,两种重金属的含量与抗氧化剂含量或抗氧化酶活性并非呈现简单的正相关或负相关关系,而存在比较复杂的关系。这与其他人的研究结果相一致。如李丽君等^[12]用不同浓度镉处理中华稻蝗后,其体内的 SOD、CAT 及 GPx 酶活性并没有呈现出随着镉浓度增加酶活性随之增加的趋势,而是呈现出先增加后降低再增加的复杂趋势。重金属

对生物体的毒性作用及生物体抗氧化系统对重金属胁迫的应激性均是一个较为复杂的系统,要深入地研究每一组分在其中发挥的作用,必须排除其他因素进行相关的单因素分析。此外,重金属并非一进入生物体内就会对其造成氧化胁迫,而是有一个阈值,因此,确定生物体内这两种重金属对中华稻蝗造成氧化胁迫的阈值也是我们下一步研究的内容。

重金属的污染可在植物中累积并通过食物链的转运在植食性昆虫体内积累,影响其生长发育^[23~25]。中华稻蝗是植食性昆虫,主要取食水稻叶片,其体内的重金属主要通过取食方式进入。本研究对中华稻蝗所栖息的生态系统内镉与铅含量进行了分析,结果表明,进入土壤中的重金属镉与铅经水稻吸收后,在水稻中富集。取食水稻叶片后,中华稻蝗体内的镉与铅含量大于水稻叶片中的含量。由此可见,经过食物链的转运,土壤中的重金属在中华稻蝗体内富集。由于中华稻蝗可富集镉与铅,可将其作为环境指示生物,用以监测农田环境中重金属镉与铅的污染状况,为防止镉、铅污染对人体健康产生危害提供理论依据。

参考文献:

- [1] Warchałowska-Śliwa E, Niklińska M, Görlich A, et al. Heavy metal accumulation, heat shock protein expression and cytogenetic changes in *Tetrix teruicornis* (L.) (Tetrigidae, Orthoptera) from polluted areas[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133:373~381.
- [2] 王宏镔, 束文圣, 蓝崇钰. 重金属污染生态学研究现状与展望[J]. 生态学报, 2005, 25(3):596~605.
WANG Hong-bin, SHU Wen-sheng, LAN Chong-yu. Ecology for heavy metal pollution: recent advances and future prospects[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(3):596~605.
- [3] Halliwell B, Gutteridge J M C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease[J]. *Biochemical Journal*, 1984, 219:1~14.
- [4] Halliwell B, Gutteridge J M C. Free radicals in Biology and Medicine[M]. Oxford: Oxford University Press, 1999.
- [5] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1991, 100C:173~176.
- [6] Xu L, Zheng G J, Lam P K S, et al. Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA adducts in green-lipped mussels (*Perna viridis*) [J]. *Ecotoxicology*, 1998(8):73~82.
- [7] Rudenva I I. Antioxidant system of Black Sea animals in early development[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1999, 112C:265~271.
- [8] Tylko G, Banach Z, Borowska J, et al. Elemental changes in the brain, muscle, and gut cells of the housefly, *Musca domestica*, exposed to heavy metals[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2005, 66:239~247.
- [9] Stone D, Jepson P, Laskowski R. Trends in detoxification enzymes and

- heavy metal accumulation in ground beetles(Coleoptera; Carabidae) inhabiting a gradient of pollution[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2002, 132C:105–112.
- [10] Nursita A I, Singh B, Lees E. The effects of cadmium, copper, lead, and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60: 306–314.
- [11] 郑哲民. 蝗虫分类学[M]. 西安:陕西师范大学出版社, 1993.
- ZHENG Zhe-min. Locust Taxlology[M]. Xi'an:Shaanxi Normal University Press, 1993.
- [12] Li L J, Liu X M, Duan Y H, et al. Accumulation of cadmium and copper by female *Oxya chinensis* (Orthoptera; Acridoidea) in soil–plant–insect system[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2006, 18(2):341–346.
- [13] Zhu K Y, Gao J R, Starkey S K. Organophosphate resistance mediated by alterations of acetylcholinesterase in resistant clone of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera:Aphiditae)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2000, 68:138–147.
- [14] Smith P K, Krohn R I, Hermanson G T, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid[J]. *Analytical Biochemistry*, 1985, 150:76–85.
- [15] SPSS Incorporation. SPSS 10. 0 brief guide for Macintosh[M]. Chicago, IL, USA:SPSS Incorporation, 2000.
- [16] 孙虹霞, 刘颖, 张吉忍. 重金属污染对昆虫生长发育的影响[J]. 昆虫学报, 2007, 50(2):178–185.
- SUN Hong-xia, LIU Ying, ZHANG Ji-ren. Effects of heavy metal pollution on insects[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(2):178–185.
- [17] 李彦伟. 鲫鱼肝脏及肌肉组织对重金属铅富集情况的比较[J]. 中国高新技术企业, 2007(12):72–73, 77.
- Li Yan-wei. Comparison of lead accumulation in liver and muscle of *Carassius auratus* [J]. *China High Technology Enterprises*, 2007(12):72–73, 77.
- [18] Schmidt G H, Ibrahim N M M. Heavy metal content (Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) in various body parts; its impact on cholinesterase activity and binding glycoproteins in the grasshopper *Aiolopus thalassinus* adults[J]. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 1994, 29(2):148–164.
- [19] 方展强, 杨丽华. 重金属在鲫幼鱼组织中的积累与分布[J]. 水利渔业, 2004, 24(6):23–26.
- FANG Zhan-qiang, YANG Li-hua. Accumulation and distribution of heavy metal in tissues of young *Carassi auratus*[J]. *Reservoir Fisheries*, 2004, 24(6):23–26.
- [20] 席玉英, 王兰, 杨秀青. 汞在中华绒蟹主要组织器官中的积累[J]. 动物学报, 2001, 47(专刊):92–95.
- XI Yu-ying, WANG Lan, YANG Xiu-qing. The accumulation of Hg^{2+} in major tissues and organs of *Eriocheir siensises*[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2001, 47(S1):92–95.
- [21] 孔祥会, 王桂忠, 艾春香, 等. 锯缘青蟹不同器官组织中总抗氧化能力和SOD活性的比较研究[J]. 台湾海峡, 2003, 22(4):469–474.
- KONG Xiang-hui, WANG Gui-zhong, AI Chun-xiang, et al. Comparative study on total antioxidative capability and SOD activity in different organs and tissues of mud crab *Scylla serrata*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2003, 22(4):469–474.
- [22] Li L J, Liu X M, Guo Y P, et al. Activity of the enzymes of the antioxidative system in cadmium–treated *Oxya chinensis* (Orthoptera : Acridoidea)[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2005, 20: 412–416.
- [23] Brackman B, Racs H, van Hoye D. Heavy–metal toxicity in an insect cell line:Effects of cadmium chloride, mercuric chloride and methylmercuric chloride on cell viability and proliferation in *Aedes albopictus* cells[J]. *Cell Biology and Toxicology*, 1997, 13:389–397.
- [24] Sarkar S, Duttagupta A K, Mal T K. Effects of heavy metals on population growth and metallothionein gene expression in the mosquito *Culex quinquefasciatus*, from Calcutta, India[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 127:183–193.
- [25] Scheirs J, Vandevyvere I, Wollaert K, et al. Plant–mediated effects of heavy metal pollution on host choice of a grass miner[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143:138–145.