

铬(VI)和菲单一及复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应研究

崔春燕¹, 沈根祥^{2*}, 胡双庆², 顾海蓉², 张洪昌², 蔡翔²

(1. 东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620; 2. 上海市环境科学研究院, 上海 200233)

摘要: 采用人工土壤试验方法, 研究了重金属铬(VI)和多环芳烃菲单一及复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应。单一暴露试验结果表明: 铬(VI)对赤子爱胜蚓 7 d 和 14 d 的 LC_{50} 分别为 $259.98 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $241.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 菲对赤子爱胜蚓 7 d 和 14 d 的 LC_{50} 分别为 $88.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $60.96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。铬(VI)和菲对赤子爱胜蚓都表现出明显的时间-浓度-效应关系, 而且铬(VI)和菲对赤子爱胜蚓均具有一定毒性, 菲的毒性大于铬(VI)。采用铬(VI)和菲等毒性单位进行复合暴露试验, 结果表明铬(VI)和菲混合物对蚯蚓 7 d- LC_{50} 中铬(VI)和菲所含浓度分别为 $151.73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $37.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 14 d- LC_{50} 中铬(VI)和菲所含浓度分别为 $137.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $34.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根据等效效应线图判定其联合作用表现为相加作用。

关键词: 铬; 菲; 复合暴露; 蚯蚓; 急性毒性

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)11-2070-06 doi:10.11654/jaes.2015.11.005

Acute Toxicity of Single and Co-Exposure of Chromium(VI) and Phenanthrene to *Eisenia Foetida*

CUI Chun-yan¹, SHEN Gen-xiang^{2*}, HU Shuang-qing², GU Hai-rong², ZHANG Hong-chang², CAI Xiang²

(1. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China)

Abstract: In recent years, there has been serious combined pollution of heavy metals and PAHs in soils, causing widespread concerns. The acute toxicity effects of single and co-exposure of chromium(VI) and phenanthrene on *Eisenia foetida* were examined with artificial soil test using standard OECD 207. The single exposure test showed that 7 d- LC_{50} and 14 d- LC_{50} values of chromium(VI) to *Eisenia foetida* were $259.98 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $241.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively, and those of phenanthrene were $88.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $60.96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, correspondingly. The earthworm mortality was obviously related with time and concentrations of the chemical exposure. Phenanthrene had greater toxicity to *Eisenia foetida* than chromium(VI) did. The joint acute toxicity of chromium(VI) and phenanthrene examined under toxic equivalent ratio indicated that the 7 d- LC_{50} values in the mixture were $151.73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $37.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the 14 d- LC_{50} $137.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $34.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, for chromium(VI) and phenanthrene, respectively. The joint effect of chromium(VI) and phenanthrene on *Eisenia foetida* was additional joint action based on the isobologram of exposure concentrations and time of chromium(VI) and phenanthrene.

Keywords: chromium; phenanthrene; co-exposure; earthworms; acute toxicity

随着工业生产的快速发展, 各种污染物质通过多种途径进入环境并共存, 构成了复合污染^[1]。土壤是环境的重要组成部分, 承载着环境中大约 90% 的污染物质。重金属和多环芳烃是土壤环境中两类重要的污染物, 往往同时或先后进入土壤形成复合污染, 它们在

环境中会发生各种联合作用, 如协同作用、相加作用、拮抗作用等^[2]。长期以来, 毒理学研究多集中于单一物质的环境毒性效应, 无法反映环境中多种污染物共存时联合毒性效应的影响。因此, 研究重金属和多环芳烃在联合体系中的交互作用与毒性效应, 对于开展土壤环境治理和修复具有重要的理论和实践意义。重金属铬及其化合物是冶金、金属加工、电镀、制革等行业常用的基本原料, 生产过程中产生的含铬废水、废渣、废气的排放可导致土壤环境的污染^[3]。铬主要以 Cr(III) 和 Cr(VI) 形态存在, 其中 Cr(VI) 很少自然形成, 主要

收稿日期: 2015-06-02

基金项目: 上海市 2014 年度“科技创新行动计划”社会发展领域项目 (14231200500)

作者简介: 崔春燕(1988—), 女, 河南濮阳人, 硕士研究生, 主要从事生态毒理研究。E-mail: cuichunyan2015@163.com

* 通信作者: 沈根祥 E-mail: shengx@saes.sh.cn

由人工合成,对生物具有很强的毒性,其毒性比Cr(Ⅲ)强100~1000倍^[4]。菲属于多环芳烃类污染物,是美国环保局优先控制有机污染物黑名单中16种多环芳烃的一员,由于其结构与致癌物苯并(a)芘具有相似性,被作为模式污染物广泛研究^[5-8]。

蚯蚓对土壤系统具有重要的生态作用,同时也是土壤污染重要的指示生物^[9],由于蚯蚓对环境变化较为敏感且对有机及无机污染物有富集作用^[10],将蚯蚓作为模式生物评价土壤质量和土壤污染状况已成为研究土壤生态环境的重要手段之一。鉴于蚯蚓急性毒性试验操作简单、成本低廉、易于观察、反应灵敏度高、测试终点具有生态毒理相关性等优点,其在污染土壤生态风险评价中日益受到关注^[11-15]。目前,国内外已对重金属^[3]、重金属复合污染^[16]、多环芳烃^[11]、农药^[9,12]等对蚯蚓的生态毒理效应开展了相关研究,但对重金属和多环芳烃复合污染的研究报道还较少。

因此,本文采用人工土壤法研究了铬(VI)和非单一及复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应及时间-浓度-效应关系,并通过等效线图评价了二者的联合作用类型,研究结果不仅可为评价铬(VI)和非在土壤中的污染和毒性程度提供基础数据,同时也为环境标准制定和生态风险评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试动物

赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*),购自上海永和生物科技有限公司蚓种场,并在本实验室保种繁育,试验前在与试验时相同的环境条件下驯养7 d。供试蚯蚓驯养期间,使用腐熟牛粪进行喂养,至试验开始前24 h为止。选用2月龄以上,平均体重为(0.36±0.04)g(平均值±标准偏差),环带明显,大小基本一致的健康蚯蚓供试验用。

1.1.2 试验土壤

人工土壤按OECD 207^[17]法配制,其中包含70%石英砂、20%高岭土和10%草炭,用碳酸钙将pH值调至7.0±0.5。

1.1.3 试验试剂和仪器

重铬酸钾(K₂Cr₂O₇)和非均为分析纯试剂,购自中国医药(集团)上海化学试剂公司,丙酮、高岭土、碳酸钙和工业石英砂(含50%以上0.05~0.2 mm细小颗粒)均为分析纯试剂,购自国药集团化学试剂公司。

人工气候室(杭州求是人工环境有限公司),电热

恒温鼓风干燥器(DHG-9246A,上海精宏实验设备有限公司),电子天平(YP2001N,上海精密科学仪器有限公司),pH计(S220,梅特勒-托多仪器有限公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 铬(VI)和非单一暴露的急性毒性试验

根据OECD 207方法^[17]开展铬(VI)和非单一暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性试验。在正式试验之前,先进行较大范围浓度系列的预试验。按照几何级数设置几种不同浓度组(1.0、10、100、1000 mg·kg⁻¹,人工土壤,干重,下同)。对于重铬酸钾可将其先溶于去离子水,配制成不同浓度梯度的溶液,然后加入到人工土壤中,再加入去离子水使其达到土壤干重的35%左右,充分混匀。由于菲难溶于水,可将其先溶于丙酮,配制成不同浓度梯度的测试溶液,将测试溶液加入到人工土壤中,充分混匀后放入通风橱中,待丙酮挥发完全后,用去离子水调节至土壤干重的35%左右,再混合均匀。对于每一试验,在玻璃容器中均加入750 g湿重的试验土壤和10条蚯蚓(已在人工土壤中驯化24 h)。在试验之前将蚯蚓冲洗干净,放在人工土壤表面,待其自行爬入,然后置于温度(22±2)℃,湿度75%±5%的条件下培养,并提供连续光照。整个试验周期为14 d,每个处理组和相应的对照组设置4个平行,分别在第7 d和第14 d记录蚯蚓的死亡情况。

根据预试验结果,正式试验中铬(VI)(以纯铬计,下同)的浓度梯度设置为0、140.00、168.00、201.60、241.92、290.30、348.36、418.04 mg·kg⁻¹;菲的浓度梯度设置为0、10.00、16.00、25.60、40.96、65.54、104.86、167.78 mg·kg⁻¹,并设置助溶剂对照组。有研究表明,部分污染场地土壤受到与本试验设计相近浓度范围的铬^[18]和菲^[19]污染。试验步骤与预试验相同,试验期间不给蚯蚓提供食物。

1.2.2 铬(VI)和非复合暴露的急性毒性试验

参照Lange等^[20]提出的等效线图法,研究铬(VI)和非复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应,以单一物质铬(VI)和非人工土壤法14 d-LC₅₀为一个毒性单位,按照等毒性比例(LC₅₀的1/2)以铬(VI):非=4:1[即单一试验结果中铬(VI)LC₅₀和菲LC₅₀的比值]混合,设置5个不同的试验浓度梯度,铬(VI)和非混合的浓度梯度设置为0、96.80、121.28、153.73、197.58、258.07 mg·kg⁻¹,并设置助溶剂对照组,进而开展急性毒性试验。混合物中铬(VI)和菲的单一浓度梯度设计见表1,试验方法及其LC₅₀值的计算方法同单一急性毒性试验。

表1 铬(VI)和菲复合暴露试验浓度梯度设计

Table 1 Experimental design of combined pollution of chromium(VI) and phenanthrene

试验设计	暴露浓度/mg·kg ⁻¹					
铬(VI)	0	77.44	97.02	122.98	158.06	206.46
菲	0	19.36	24.26	30.75	39.52	51.61
混合物	0	96.80	121.28	153.73	197.58	258.07

1.3 数据分析与联合作用评价方法

联合作用的评价采用等效效应线图法,以横、纵坐标分别表示铬(VI)、菲的浓度,将单一试验结果中铬(VI)和菲在对应坐标上的LC₅₀值及95%置信限的限值连成三条直线,再根据复合暴露结果中铬(VI)和菲的所含浓度分别在相应的坐标线上找到各自浓度位置,并由相应浓度点作垂线,视交点位置进行联合作用的评价。

采用软件SPSS 17.0中回归分析的Probit模块,以每个暴露浓度梯度中赤子爱胜蚓的死亡数为响应频率,每组试验中蚯蚓总数为观测值汇总,受试物暴露浓度(转换为底为10的对数)为协变量,进行Probit分析得到LC₅₀、95%置信限及回归方程;用软件Excel 2003绘制时间-浓度-效应关系图。

2 结果与讨论

2.1 铬(VI)单一暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

以铬(VI)的暴露浓度为横坐标,赤子爱胜蚓第7 d和第14 d的死亡率为纵坐标作图(图1)。从图1可见,铬(VI)对蚯蚓的急性毒性效应与暴露时间和暴露浓度有关。第14 d试验结束时,铬(VI)浓度为140.00 mg·kg⁻¹蚯蚓的平均死亡率仅为10%,当浓度增加到168.00 mg·kg⁻¹和201.60 mg·kg⁻¹时,蚯蚓平均死亡率分别上升到12.5%和22.5%,在两个高浓度暴露组(348.36 mg·kg⁻¹和418.04 mg·kg⁻¹),蚯蚓平均死亡率

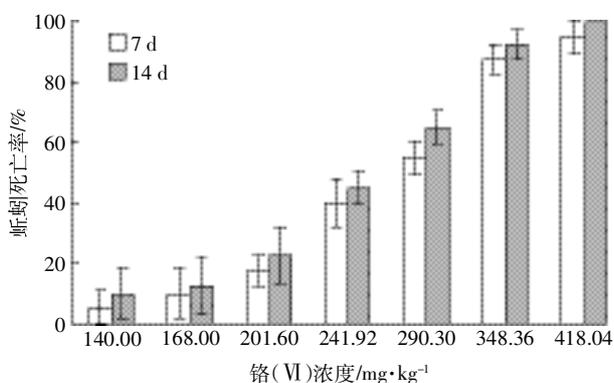


图1 铬(VI)对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

Figure 1 Acute toxicity of chromium(VI) to *Eisenia foetida*

达到了92.5%和100%。从整个暴露过程来看,蚯蚓的平均死亡率在铬(VI)暴露浓度较低时增长缓慢,在浓度高时增长迅速。此外,和第7 d的试验结果相比,发现随着暴露时间的延长各浓度处理组蚯蚓的平均死亡率都有所增加,计算得到铬(VI)对赤子爱胜蚓7 d和14 d的LC₅₀分别为259.98 mg·kg⁻¹和241.13 mg·kg⁻¹(表2)。这与王婉华等^[3]应用人工土壤法测得的铬(VI)对赤子爱胜蚓14 d-LC₅₀为245.06 mg·kg⁻¹结果相近。另外,LC₅₀值随着暴露时间延长而降低,分析原因可能是由于铬(VI)在蚯蚓体内富集引起的,有研究表明在1~15 d的暴露时间内,重金属Cr(VI)在蚯蚓体内的富集量逐渐增加^[21]。

表2 铬(VI)和菲单一暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性统计分析结果

Table 2 Statistical analysis of chromium(VI) and phenanthrene acute toxicity to *Eisenia foetida*

污染物	暴露时间/d	拟合方程	R ²	LC ₅₀ /mg·kg ⁻¹	95%置信限/mg·kg ⁻¹
铬(VI)	7	$y = -17.455 + 7.228x$	0.954	259.98	245.33~276.15
	14	$y = -17.578 + 7.379x$	0.959	241.13	218.35~267.07
菲	7	$y = -4.947 + 2.544x$	0.885	88.01	74.10~108.26
	14	$y = -5.025 + 2.815x$	0.896	60.96	44.10~90.58

除致死效应外,在暴露试验初期,低浓度暴露组(140.00 mg·kg⁻¹和168.00 mg·kg⁻¹)未出现任何症状,而高浓度暴露组(418.04 mg·kg⁻¹)的试验动物出现了明显的中毒症状,身体萎靡,环带肿大,有黄色液体渗出,个别蚯蚓还出现回避行为。研究表明^[22],蚯蚓对于土壤中的重金属、农药、多环芳烃及无机盐等多种污染物均具有回避反应。

2.2 菲单一暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

以菲的暴露浓度为横坐标,赤子爱胜蚓第7 d和第14 d的死亡率为纵坐标作图(图2)。由图2可见,菲对蚯蚓的急性毒性效应与暴露时间和暴露浓度也具有相关性。第14 d试验结束时,菲的蚯蚓毒性试验结果与铬(VI)的结果相类似,在10.00 mg·kg⁻¹和16.00 mg·kg⁻¹低浓度时,蚯蚓的平均死亡率相同且较低,仅为5%。随着菲浓度的升高平均死亡率也相应增加,在两个高浓度暴露组(104.86 mg·kg⁻¹和167.78 mg·kg⁻¹),蚯蚓平均死亡率分别达到了72.5%和100%。可见当暴露浓度升高到一定范围时,蚯蚓会出现较高的死亡率。分析原因可能是菲的脂溶性较强,易透过蚯蚓表皮吸收,同时蚯蚓肠道在消化污染土壤的过程中,也会吸收部分污染物,当两种作用达到一

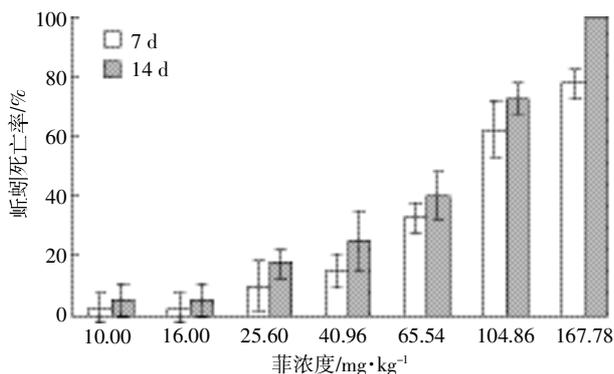


图2 菲对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

Figure 2 Acute toxicity of phenanthrene to *Eisenia foetida*

定程度后就会出现较强的毒性效应^[8]。另外,和第7 d的试验结果相比,随着暴露时间延长各浓度处理组蚯蚓的平均死亡率都有所增加,原因可能是有机污染物菲在蚯蚓体内的富集引起的^[23]。计算得到菲对赤子爱胜蚓7 d和14 d的LC₅₀分别为88.01 mg·kg⁻¹和60.96 mg·kg⁻¹(表2),LC₅₀值也是随着暴露时间的延长而降低。这与朱江^[2]研究得出的菲对赤子爱胜蚓14 d-LC₅₀为42.51 mg·kg⁻¹结果相近。

同铬(VI)暴露试验过程中蚯蚓的症状变化相似,在菲暴露试验初期,低浓度暴露组(10.00 mg·kg⁻¹和16.00 mg·kg⁻¹)未出现任何症状,而高浓度暴露组(167.78 mg·kg⁻¹)的试验动物出现了明显的中毒症状,身体萎靡,环带肿大,有黄色液体渗出,个别蚯蚓还出现回避行为。这与何巧力等^[11]观察到部分蚯蚓在接触较高浓度污染土壤的早期,已能感受到土壤中苯的存在并作出回避反应的结果一致。

2.3 铬(VI)和菲复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

在单一暴露试验基础上,开展铬(VI)和菲复合暴露对蚯蚓的急性毒性试验,试验结果如表3。试验第7 d时,混合物低浓度暴露组[铬(VI)浓度77.44 mg·kg⁻¹、菲浓度19.36 mg·kg⁻¹],蚯蚓的平均死亡率为5%,而中浓度暴露组[铬(VI)浓度122.98 mg·kg⁻¹、菲浓度30.75 mg·kg⁻¹],蚯蚓的平均死亡率增至35%,死亡率增加较大;在最高浓度暴露组[铬(VI)浓度206.46 mg·kg⁻¹、菲浓度51.61 mg·kg⁻¹],蚯蚓的平均死亡率上升到67.5%。第14 d试验结束时,各对应浓度暴露组的死亡率相对第7 d都有所增加,最高暴露浓度组的死亡率为75%,并未达到100%致死率。采用SPSS 17.0软件中的Probit模块,同时参照混合物LC₅₀的表述方式^[24-26],分析计算得到铬(VI)和菲混合物对蚯蚓7 d-LC₅₀中铬(VI)和菲所含浓度分别为151.73 mg·kg⁻¹和

37.93 mg·kg⁻¹;14 d-LC₅₀中铬(VI)和菲所含浓度分别为137.69 mg·kg⁻¹和34.42 mg·kg⁻¹(表4)。

根据铬(VI)和菲单一及复合暴露毒性试验结果绘制联合毒性作用等效线图(图3、图4)。从图3和图4可知,铬(VI)和菲LC₅₀浓度的交点落在其95%可信限的上下两条连线之间,因而判定铬(VI)和菲对蚯蚓的联合作用表现为相加作用。产生相加作用的原因可

表3 铬(VI)和菲复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性效应

Table 3 Joint acute toxicity of chromium(VI) and phenanthrene to *Eisenia foetida*

暴露类型	污染物浓度/mg·kg ⁻¹		蚯蚓死亡率/%	
	铬(VI)	菲	第7 d	第14 d
复合	0	0	0±0.00	0±0.00
	77.44	19.36	5±5.77	7.5±5.00
	97.02	24.26	30±14.14	35±10.00
	122.98	30.75	35±5.77	42.5±5.00
	158.06	39.52	55±12.91	60±8.16
	206.46	51.61	67.5±5.00	75±5.77

注:第7 d和第14 d的蚯蚓死亡率为平均值±标准差。

表4 铬(VI)和菲复合暴露对赤子爱胜蚓的急性毒性统计分析结果

Table 4 Statistical analysis of chromium(VI) and phenanthrene joint acute toxicity to *Eisenia foetida*

暴露类型	暴露时间/d	LC ₅₀ /mg·kg ⁻¹	
		铬(VI)	菲
复合	7	151.73	37.93
	14	137.69	34.42

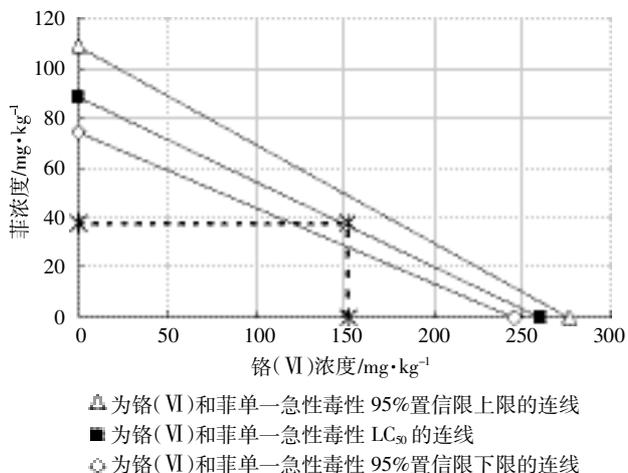


图3 铬(VI)和菲混合物的联合作用等效线图(7 d)

Figure 3 Isobologram of chromium and phenanthrene on mixture on day 7

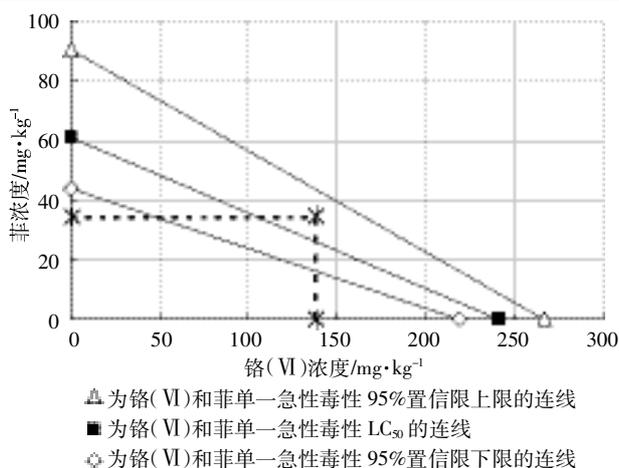


图4 铬(VI)和菲混合物的联合作用等效线图(14 d)

Figure 4 Isobologram of chromium and phenanthrene on mixture on day 14

能是具有相似化学结构或相同官能团的化合物,或者在致毒作用靶位点相同且作用模式和机制相似^[27]。但是,如何定量界定这种作用模式或机制的相似性或差异性仍是当今毒理学界的一个待解的难题^[28]。参考已有的重金属与有机污染物复合污染的研究结果,可知重金属与有机污染物联合作用的复杂性。联合作用的类型会随混合物各组分剂量的大小、比例、暴露的时间、途径、次序及受试生物的不同而改变,同时化合物引起的往往不仅仅是一种毒性效应。如徐冬梅等^[26]通过铜-毒死蜱对蚯蚓的联合毒性试验发现当采用浓度比 1:1 进行人工土壤法试验时,铜-毒死蜱的联合毒性近似于相加作用;而当采用铜和毒死蜱单一毒性 LC_{50} 值为一个毒性单位进行试验时,对蚯蚓的联合作用类型表现为拮抗作用。另外,Gogolev 等^[29]采用琼脂平板技术,研究了 Zn、Cd、Cu 和荧蒽对土壤微生物的相互作用,认为荧蒽可以改变细胞膜的通透性,提高重金属对微生物的毒性,对于低剂量荧蒽和重金属,当它们单一污染时对微生物无影响,而复合污染时毒性明显增加。Maliszewska-Kordybach^[30]研究发现,在微生物和植物生长前期,重金属 Zn、Pb、Cd 和多环芳烃芘、蒽、芘复合污染效应明显大于两者单一污染的效应,复合污染效应与土壤理化性质、复合污染时间以及多环芳烃的浓度有关。鉴于重金属和多环芳烃联合作用的复杂性,有待进一步研究铬(VI)和菲混合污染物在蚯蚓体内的致毒靶位点及其作用机理。

3 结论

(1)铬(VI)和菲单一暴露对蚯蚓的急性毒性效应相似,主要体现在赤子爱胜蚓对二者都具有一定的生物富

集特征,随暴露时间的延长各浓度处理组的蚯蚓死亡率都有所增加;另外,在暴露试验初期,二者高浓度暴露组的蚯蚓都出现了明显的中毒症状和回避行为。

(2)铬(VI)单一暴露对赤子爱胜蚓的 7 d 和 14 d 的 LC_{50} 分别为 $259.98 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $241.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,菲单一暴露对赤子爱胜蚓的 7 d 和 14 d 的 LC_{50} 分别为 $88.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $60.96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,二者均表现出明显的时间-浓度-效应关系,且菲的蚯蚓急性毒性效应大于铬(VI)。

(3)铬(VI)和菲复合暴露混合物对赤子爱胜蚓 7 d- LC_{50} 中铬(VI)和菲所含浓度分别为 $151.73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $37.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;14 d- LC_{50} 中铬(VI)和菲所含浓度分别为 $137.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $34.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。根据混合物的联合作用等效线图分析,铬(VI)和菲对蚯蚓的联合作用表现为相加作用。

参考文献:

- [1] 孙铁珩,周启星. 污染生态学研究的回顾与展望[J]. 应用生态学报, 2002, 13(2):221-223.
SUN Tie-heng, ZHOU Qi-xing. Retrospect and prospect of pollution ecology[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(2):221-223.
- [2] 朱江. 镉-菲复合污染对安德爱胜蚓和白线蚓的生态毒理效应研究[D]. 上海:上海交通大学, 2008.
ZHU Jiang. Study on ecotoxicological effects of combined pollution between cadmium and phenanthrene on earthworm (*Eisenia andrei*) and (*Feidericia bulbosa*)[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2008.
- [3] 王婉华,陈丽红,方征,等. 土壤铬(VI)对赤子爱胜蚓的生态毒性效应[J]. 环境科学研究, 2013, 26(6):653-657.
WANG Wan-hua, CHEN Li-hong, FANG Zheng, et al. Ecotoxicity of chromium(VI) to *Eisenia fetida* in soil[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2013, 26(6):653-657.
- [4] Grabarczyk M, Korolczuk M, Tyszczyk K. Extraction and determination of hexavalent chromium in soil samples[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 386(2):357-362.
- [5] 张静,马丽丽,焦加国,等. 菲、芘在单一和复合污染条件下不同老化阶段的提取率及其生物有效性[J]. 土壤, 2010, 42(3):385-389.
ZHANG Jing, MA Li-Li, JIAO Jia-guo, et al. Effects of aging on extractability and bioavailability of phenanthrene and pyrene under single and co-contaminant conditions[J]. *Soils*, 2010, 42(3):385-389.
- [6] Shu Y Y, Lao Robert C, Chiu and Chung H, et al. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment reference materials by microwave-assisted extraction[J]. *Chemosphere*, 2000, 41:1709-1716.
- [7] 宋玉芳,周启星,宋雪英,等. 菲和芘对土壤中植物根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 生态学杂志, 2003, 22(5):6-9.
SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, SONG Xue-ying, et al. Eco-toxicological effects of phenanthrene, pyrene and 1, 2, 4-trichlorobenzene in soils on the inhibition of root elongation of higher plants[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2003, 22(5):6-9.

- [8] 冯 嫣, 吕永龙, 焦文涛, 等. 北京市某废弃焦化厂不同车间土壤中多环芳烃(PAHs)的分布特征及风险评价[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3):399-407.
FENG Yan, LÜ Yong-long, JIAO Wen-tao, et al. Distribution and risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from different workshops of an abandoned coking factory in Beijing[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(3):399-407.
- [9] 王彦华, 俞卫华, 杨立之, 等. 22种常用除草剂对蚯蚓(*Eisenia fetida*)的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3):317-325.
WANG Yan-hua, YU Wei-hua, YANG Li-zhi, et al. Acute toxicity of twenty-two commonly used herbicides to earthworm(*Eisenia fetida*)[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(3):317-325.
- [10] Pelosi C, Barot S, Capowiez Y, et al. Pesticides and earthworms[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34(1):199-228.
- [11] 何巧力, 颜增光, 汪群慧, 等. 利用蚯蚓回避试验方法评价萘污染土壤的生态风险[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2):538-543.
HE Qiao-li, YAN Zeng-guang, WANG Qun-hui, et al. The application of earthworm avoidance test in ecological risk assessment of naphthalene contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2):538-543.
- [12] 李银生, 曾振灵, 陈杖榴, 等. 三种兽药对蚯蚓的急性毒性试验[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(6):1065-1069.
LI Yin-sheng, ZENG Zhen-ling, CHEN Zhang-liu, et al. The acute toxicity of three veterinary pharmaceuticals to earthworms[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(6):1065-1069.
- [13] Navarro S, Vela N, Navarro G. Review: An overview on the environmental behavior of pesticide residues in soils[J]. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2013, 5(3):357-375.
- [14] Blouin M, Hodson M E, Delgado E A, et al. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services[J]. *European Journal of Soil Science*, 2013, 64(2):161-182.
- [15] 王飞菲, 郑梦梦, 刘树海, 等. 两种除草剂对蚯蚓的急性毒性及氧化胁迫效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6):1210-1218.
WANG Fei-fei, ZHENG Meng-meng, LIU Shu-hai, et al. Acute toxicity and oxidative stress of two herbicides on earthworm *Eisenia fetida* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(6):1210-1218.
- [16] 贾秀英, 李喜梅, 杨亚琴, 等. Cu、Cr(VI)复合污染对蚯蚓急性毒性效应的研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(1):31-34.
JIA Xiu-ying, LI Xi-mei, YANG Ya-qin, et al. Acute toxicological effects of Cr(VI) and Cu single and combined pollution on earthworm *Eisenia foetia*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(1):31-34.
- [17] Organization for Economic Cooperation and Development. OECD 207, Earthworm, acute toxicity test[S]. Paris: OECD, 1984.
- [18] 陈志良, 周建民, 蒋晓璐, 等. 典型电镀污染场地重金属污染特征与环境风险评价[J]. 环境工程技术学报, 2014, 4(1):80-84.
CHEN Zhi-liang, ZHOU Jian-min, JIANG Xiao-lu, et al. Pollution characteristics and environmental risk assessment of heavy metals in typical electroplating contaminated site[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2014, 4(1):80-84.
- [19] Irha I, Slet J, Peterseu V. Effect of heavy metals and PAH on soils assessed via dehydrogenase assay[J]. *Environment International*, 2003, 28(8):779-782.
- [20] Lange J H, Thomulka K W. Use of the vibrio harvey toxicity test for evaluating mixture interactions of nitrobenzene and dinitrobenzene[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 38(1):2-12.
- [21] 邢宇攀, 李云乐, 辛乐阳, 等. 蚯蚓对有机肥(牛粪)中铬镉铅金属富集作用的研究[J]. 北京农学院学报, 2015, 30(1):55-63.
XING Yu-hui, LI Yun-le, XIN Le-yang, et al. Bioaccumulation of chromium, cadmium, and lead in earthworms from organic fertilizer (dairy manure)[J]. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2015, 30(1):55-63.
- [22] Schaefer M. Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology evaluation of different test systems in soil toxicity assessment[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2003, 3(2):79-84.
- [23] Matscheko N, Lundsted S, Svensson L, et al. Accumulation and elimination of 16 polycyclic aromatic compounds in the earthworm(*Eisenia fetida*)[J]. *Environment Toxicol Chemistry*, 2002, 21(8):1724-1729.
- [24] 陈建华, 阎斌伦, 李盈蕾, 等. 石油烃和镉对毛蚶的急性毒性与联合毒性效应研究[J]. 水生态学杂志, 2010, 3(3):85-89.
CHEN Jian-hua, YAN Bin-lun, LI Ying-lei, et al. Acute and joint toxicity of petroleum hydrocarbons and cadmium on *Scapharca subcrenata*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(3):85-89.
- [25] 王桂燕, 胡筱敏, 周启星, 等. 对二氯苯和镉对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的联合毒性效应研究[J]. 环境科学, 2007, 28(1):156-159.
WANG Gui-yan, HU Xiao-min, ZHOU Qi-xing, et al. Joint toxicity of 1,4-dichlorobenzene and cadmium on *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(1):156-159.
- [26] 徐冬梅, 王彦华, 王楠, 等. 铜、毒死蜱单一与复合暴露对蚯蚓的毒性作用[J]. 环境科学, 2015, 36(1):280-285.
XU Dong-mei, WANG Yan-hua, WANG Nan, et al. Effects of single and co-exposure of Cu and chlorpyrifos on the toxicity of earthworm[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(1):280-285.
- [27] Faust M, Altenburger R, Boedeker W, et al. Algal toxicity of binary combinations of pesticides[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity*, 1994, 53(1):134-141.
- [28] Broderius S J, Kahi M D, Hoglund M D. Use of joint toxic response to define the primary mode of toxic action for diverse industrial organic chemicals[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1995, 14(9):1591-1605.
- [29] Gogolev A, Wilke B M. Combination effects of heavy metals and fluoranthene on soil bacterial[J]. *Soil Fertil Soils*, 1997, 25(3):274-278.
- [30] Maliszewska-Kordybach B. Habitat functions of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination[J]. *Environment International*, 2003, 28(8):719-728.