

Cu Cr(VI)复合污染对蚯蚓急性毒性效应的研究

贾秀英, 李喜梅, 杨亚琴, 胡凌飞, 朱越峰

(杭州师范学院生命科学院, 浙江 杭州 310036)

摘 要:以赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)为研究对象,采用滤纸急性毒性试验法研究了重金属 Cr(VI)、Cu 对蚯蚓单一与复合污染的毒性效应。单一毒性试验结果表明, Cr(VI)、Cu 对蚯蚓都具毒性, Cr(VI)的毒性大于 Cu 的毒性;Cr(VI)、Cu 48 h 的半致死浓度分别为 94. 04 mg · kg⁻¹、176. 12 mg · kg⁻¹。复合毒性试验结果表明, 低浓度的 Cu 与 Cr(VI)复合, Cu 对 Cr(VI) 毒性没有产生明显影响, Cr(VI) 对蚯蚓 48h 的半致死浓度为 94. 605 mg · kg⁻¹; 中浓度的 Cu 与 Cr(VI) 复合, Cu 的存在增强了 Cr(VI)的毒性, 且随 Cr(VI)浓度的升高而增强, Cr(VI)对蚯蚓 48 h 的半致死浓度为 76. 608 mg · kg⁻¹; 高浓度的 Cu 与 Cr(VI)复合, Cr(VI)对蚯蚓的毒性也明显增强, 但随 Cr(VI)浓度的升高而趋平缓。可见, 重金属 Cr(VI)、Cu 的复合污染对蚯蚓具有明显的协同作用, 而这种协同作用与各污染物的不同浓度组合有关。

关键词:蚯蚓; Cr(VI); Cu; 单一及复合污染; 急性毒性

中图分类号:X171. 5 **文献标识码:**A **文章编号:**1672 – 2043(2005)01 – 0031 – 04

Acute Toxicological Effects of Cr(VI) and Cu Single and Combined Pollution on Earthworm *Eisenia foetida*

JIA Xiu-ying, LI Xi-mei, YANG Ya-qin, HU Ling-fei, ZHU Yue-feng
(School of Life Science, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Earthworms play an important part in transformation of soil nutrient cycling. Combined pollution caused by heavy metals such as (Cu and Cr) is one of the important environmental pollution forms in soil. In order to determine the effects of combined pollution caused by heavy metal on earthworms, acute toxicological effects of single and combined Cr(VI) and Cu on earthworm *Eisenia foetida* was determined using filter paper . Earthworms were exposed for 48h in 20, 40, 60, 80 and 100 mg · kg⁻¹ of Cr(VI) and in 60, 120, 180, 240 and 300 mg · kg⁻¹ of Cu. The results showed that both the heavy metals had their own toxicities on the earthworm population, and the single toxic sequence of Cr(VI) and Cu was Cr(VI)> Cu. The values of their LD₅₀ were 94. 04 and 176. 12 mg · kg⁻¹, respectively. The difference may depend on the biological mechanisms of the earthworm population. Cu at low concentration had no obvious effects on the toxicity of Cr, the value of LD₅₀ was 94. 605 mg · kg⁻¹ for Cr(VI), at medium concentration, Cu could increase the toxicity of Cr(VI), and the toxicity of Cr(VI) increased with the increase of Cr(VI) concentration, with the value of LD₅₀ 76. 608 mg · kg⁻¹ for Cr(VI), at high Cu concentration, Cu could also increase the toxicity of Cr(VI), but the toxicity of Cr(VI) tended to maintain gently with the increase of Cr(VI) concentration. Therefore, the combined contamination of Cr (VI) and Cu showed the synergistic joint effect on the earthworm population that were in relation to their different concentration combinations.

Keywords: earthworm; Cr(VI); Cu; single and combined pollution; acute toxicity

随着工农业生产的发展,大量重金属污染物通过各种途径进入环境并共存,构成了复合污染,因此复合污染研究逐渐成为环境科学发展的重要方向之

一。土壤是环境的重要组成部分,承担着环境中大约 90% 来自各方面的污染物质,因此,土壤重金属复合污染问题已引起人们的广泛关注^[1~3]。

蚯蚓是生态系统中的一个重要组成部分,是陆生生物与土壤生物之间传递污染物的桥梁,是农田生态系统中土壤物质生物小循环中的重要一环^[4~6]。众多研究表明^[7~9],当土壤被各种污染物污染后,必将对

蚯蚓的生存、生长、繁殖等产生不利的影响,从而导致土壤生态系统正常结构和功能遭到破坏,产生各种不良的生态效应。因此,利用蚯蚓指示土壤污染状况,已被作为土壤污染生态毒理诊断的一个重要指标。目前,国内外关于土壤重金属污染对蚯蚓的毒性及影响的研究较多^[3, 8~10],但有关重金属 Cu、Cr(VI)复合污染对蚯蚓毒性的影响研究尚未见报道。本研究选择赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)为供试蚯蚓,研究了重金属 Cu、Cr(VI)单一及复合污染情况下对蚯蚓毒性影响的变化规律,为土壤毒理诊断提供试验依据,并为土壤重金属污染防治提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试污染物

重金属 Cu,为分析纯 CuSO₄·5H₂O 试剂;重金属 Cr(VI),为分析纯 K₂CrO₄ 试剂。

1.1.2 供试蚯蚓

赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*),购自杭州某蚯蚓养殖场。试验前进行预培养,试验选择体重为 250~300 mg,环带明显,大小基本一致的健康成蚓。

1.1.3 污染物试验浓度设计

正式试验前进行浓度范围选择试验,根据文献确定预期毒性中值,以该值为中间剂量组,以 3 倍之差上、下各推一个剂量组做预试验,每一浓度放入 10 条蚯蚓,观察 24 h,找出重金属 Cu、Cr(VI)的最大致死浓度 LD₁₀₀和最小致死浓度 MLD。根据预备试验结果在 MLD 和 LD₁₀₀区间内设置各污染物水溶液的正式单一毒性试验浓度序列:重金属 Cu(以纯 Cu 计算):60、120、180、240、300 mg·kg⁻¹;重金属 Cr(VI)(以纯 Cr 计算):20、40、60、80、100 mg·kg⁻¹。复合毒性试验的浓度设计是根据单一毒性试验确定的,由单一的各 Cr(VI)浓度分别加入 60、120、180 mg·kg⁻¹ 重金属 Cu,另设置对照组。为减少误差,每一处理重复 3 次。

1.2 主要仪器设备

受控环境生长箱,硬质玻璃培养器皿,无灰定性滤纸。

1.3 试验方法

将预培养后的蚯蚓洗净后放入烧杯中,加适量水,用塑料薄膜封口,并用解剖针在塑料薄膜上扎孔,置于(22±1)℃的生化培养箱中培养,清肠 1 昼夜^[11]。将 8 mL CuSO₄、K₂CrO₄ 溶液按试验设计浓度倒入垫有 5 张滤纸的培养皿中,使滤纸全部浸湿;再将清肠后的

蚯蚓冲洗干净,用滤纸吸去多余水分后,随机将 10 条蚯蚓放入一个培养皿中,并用塑料薄膜封口扎紧,避免蚯蚓逃逸,再置于(22±1)℃的生化培养箱中无光照培养 48 h^[12]。于培养后 24 h、48 h 各记录蚯蚓的存活情况,以前尾部对机械刺激无反应视为死亡,将试验数据输入计算机,进行统计学处理。

2 结果与讨论

2.1 Cu、Cr(VI)单一污染的急性毒性试验

由表 1 可见,各 Cr(VI)浓度污染暴露 24 h,对蚯蚓不产生任何致死效应。污染暴露 48 h 时,蚯蚓的死亡率随 Cr(VI)浓度的增加而升高,在试验的最高浓度时,蚯蚓的死亡率达到 56.67%。蚯蚓死亡率(*y*)与 Cr(VI)浓度(*x*)之间符合:

$$y=0.005x^2+0.0609x+0.0593$$

经测定,其关系达到极显著水平,见图 1。根据上述方程,Cr(VI)对蚯蚓 48h 的理论 LD₅₀为 94.04 mg·kg⁻¹。

当 Cu 的试验浓度为 60 mg·kg⁻¹时,污染暴露 24、48 h,对蚯蚓不产生任何致死效应;当 Cu 浓度达到 120 mg·kg⁻¹时,污染暴露 24 h,蚯蚓表现出致死毒

表 1 重金属 Cr(VI)、Cu 对赤子爱胜蚓的急性毒性

Table 1 Acute toxicity of Cr and Cu on earthworms *Eisenia foetida*

污染物	浓度 /mg·kg ⁻¹	死亡率/%	
		24 h	48 h
Cr(VI)	CK	0	0
	20	0	3.33
	40	0	10.0
	60	0	23.33
	80	0	35.0
	100	0	56.67
Cu	CK	0	0
	60	0	0
	120	6.67	13.33
	180	23.33	56.67
	240	63.33	100
	300	76.66	100

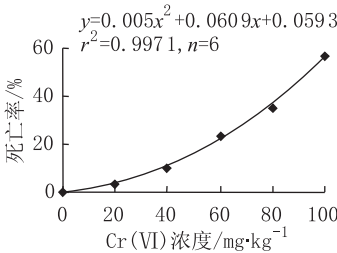


图 1 重金属 Cr(VI)对蚯蚓的 48 h 毒性效应

Figure 1 Acute toxicity of Cr on earthworms *Eisenia foetida* (48 h)

性,且随着染毒浓度的增加而升高。蚯蚓死亡率(y_1)与 Cu 浓度(x_1)之间符合:

$$y_1 = 0.0008x_1^2 + 0.0698x_1 - 10.666$$

经测定,其关系达到极显著水平,污染暴露 48 h,在 240、300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 试验浓度,蚯蚓则全部死亡,蚯蚓死亡率(y_2)与 Cu 浓度(x_2)之间符合:

$$y_2 = 0.0021x_2^2 - 0.0528x_2 - 5.835$$

经测定,其关系达到极显著水平,根据上述方程,Cu 对蚯蚓 48 h 的理论 LD_{50} 为 176.12 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,见图 2。

比较 Cr(VI)、Cu 两者的半致死浓度,可以得出 Cr(VI)的毒性比 Cu 强。这可能与不同重金属产生的毒性作用机制不同有关。

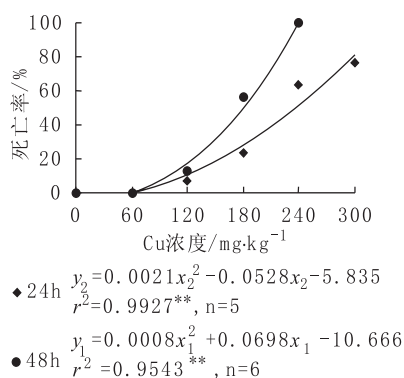


图 2 重金属 Cu 对蚯蚓的毒性效应

Figure 2 Acute toxicity of Cu on earthworms *Eisenia foelida*

2.2 Cr(VI)、Cu 复合污染的急性毒性试验

Cr(VI)与 Cu 复合,当 Cu 浓度为 60 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,污染暴露 24 h,任何 Cr(VI)浓度处理的蚯蚓均无死亡发生;污染暴露 48 h,蚯蚓死亡率(y)与 Cr 浓度(x)之间符合:

$$y = 0.0007x^2 + 0.4685x - 0.5961$$

经测定,其关系达到极显著水平,见图 3。根据上述方程,Cr(VI)对蚯蚓 48 h 的理论 LD_{50} 为 94.605 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,与单一 Cr(VI)污染 48 h 的半致死浓度基

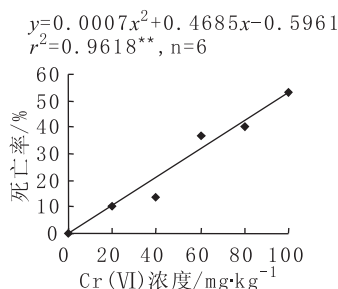


图 3 低铜环境下重金属 Cr(VI)对蚯蚓的毒性效应

Figure 3 Joint toxic effects of Cr and low Cu concentration on earthworms. (48 h)

本接近。说明低 Cu(60 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的存在没有明显影响 Cr(VI)的毒性。

当 Cu 浓度为 120 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,Cr(VI)与 Cu 复合污染暴露 24 h 和 48 h,蚯蚓的致死率随 Cr(VI)浓度增加而升高,蚯蚓死亡率(y)与 Cr(VI)浓度(x)之间分别符合:

$$y_1 = 0.0007x_1^2 + 0.2016x_1 + 6.0739$$

$$y_2 = 0.0009x_2^2 + 0.4253x_2 + 12.139$$

经测定,其关系均达到极显著水平,见图 4。根据上述方程,Cr(VI)对蚯蚓 48 h 的理论 LD_{50} 为 76.608 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,小于 Cr(VI)单一污染 48 h 的半致死浓度 94.04 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。可以证明 Cu 的存在加强了 Cr(VI)的毒性,产生了明显的协同作用。

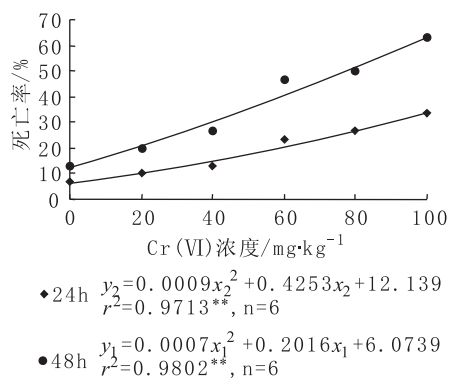


图 4 中铜环境下重金属 Cr(VI)对蚯蚓的毒性效应

Figure 4 Joint toxic effects of Cr and medium Cu concentration on earthworms

当 Cu 浓度为 180 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,污染暴露 24 h,蚯蚓死亡率(y_1)与 Cr(VI)浓度(x_1)之间符合:

$$y_1 = -0.0049x_1^2 + 0.7626x_1 + 24.878$$

经测定,其关系达到极显著水平。污染暴露 48 h,蚯蚓死亡率(y_2)与 Cr(VI)浓度(x_2)之间符合:

$$y_2 = -0.0036x_2^2 + 0.576x_2 + 57.622$$

经测定,其关系达到极显著水平,见图 5。由图 5 曲线可以看出,在高 Cu 浓度下,与单一的 Cr(VI)相比,Cu 的存在明显增强了 Cr(VI)的毒性,但这种增强效应没有随 Cr 浓度的升高而增强,在 Cr(VI)浓度为 60~100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,Cr(VI)的毒性趋向平缓,与低 Cu 和中 Cu 情况下有明显差异。造成这种差异的原因有待于进一步研究。

由上述结果可以看出,Cr(VI)和 Cu 的复合污染具有明显的协同作用,但这种协同作用及其强度与 Cr(VI)和 Cu 的不同浓度组合密切相关,说明混合物的组成及各污染物的不同浓度组合是决定混合物毒性的重要因素,这与有的研究结果基本一致^[13, 14]。

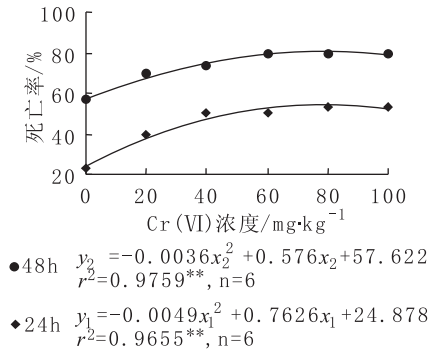


图5 高铜环境下重金属 Cr(VI)对蚯蚓的毒性效应

Figure 5 Joint toxic effects of Cr and high Cu concentration on earthworms

此外, Cr(VI) 和 Cu 复合污染对蚯蚓的试验结果可以进一步说明, 重金属复合污染的协同作用对环境安全具有更大的威胁性, 在评价化合物潜在毒性及制定重金属元素的背景值时, 利用复合污染研究成果更具有意义。

3 结论

(1) Cr(VI)、Cu 急性单一毒性试验表明, 这 2 种污染物对土壤蚯蚓都具有潜在的毒性效应, 滤纸急性毒性大小顺序为 Cr(VI) 大于 Cu; Cr(VI)、Cu 48 h 半致死浓度分别为 94.04、176.12 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。这种毒性差异可能与重金属不同的致毒机理有关。

(2) 不同浓度的 Cr(VI) 分别与 3 种浓度水平的 Cu 复合情况下, 蚯蚓的急性毒性效应表明, 低浓度水平的 Cu($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与 Cr(VI)复合, Cu 对 Cr(VI)毒性没有明显的影响; 中浓度水平的 Cu($120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与 Cr(VI)复合, 增强了 Cr(VI)对蚯蚓的毒性效应, 且随 Cr(VI) 浓度的升高而增强; 高浓度水平的 Cu($180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与 Cr(VI)复合, Cr(VI)对蚯蚓的毒性增强, 但随着 Cr(VI)浓度的升高, 毒性效应变化趋平缓。说明 Cr(VI) 和 Cu 的复合污染具有明显的协同作用, 但这种协同作用及其强度与 Cr(VI) 和 Cu 的不同浓度

组合密切相关。

参考文献:

[1] 邓继福,王振中,张友梅,等. 重金属污染对土壤动物种群的影响[J]. 环境科学, 1996, 17(2): 2-5.

[2] 周启星. 复合污染生态[M]. 北京: 环境科学出版社, 1995. 100-107.

[3] Zhou Q-X, Sun T-H. Effects of chromium (VI) on extractability and plant uptake of fluorine in agricultural soils of Zhejiang Province, China [J]. *Water Air Soil Poll*, 2002, 133(14): 145-160.

[4] Edwards. The effects of toxic chemicals on earthworms[J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1992, 125: 23-29.

[5] Arnaud C, Saint-Denis M, Narbonne J F, et al. Influences of different standardized test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida* Andrei[J]. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32: 67-73

[6] 邱江平. 蚯蚓与环境保护[J]. 贵州科学, 2000, 18(1-2): 116-133.

[7] 王振中,张友梅,胡觉莲,等. 土壤重金属对蚯蚓的影响[J]. 环境科学学报, 1994, 4(2): 236-243.

[8] Spurgeon D J, Hopkin S P. Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal contaminated ecosystems[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1999, 37: 332-337.

[9] 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.

[10] Chang L W, Meier J R, Smith M K. Application of plant and earthworm bioassays to evaluate remediation of a lead-contaminated soil[J]. *Arch Environ Toxicol*, 1997, 32: 166-171.

[11] Arnaud C, Saint-Denis M, Narbonne J F, et al. Influences of different standardized test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida* Andrei[J]. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32: 67-73.

[12] 朱鲁生,樊德方,王玉军. Toxicity and evaluation of phoxim, fenpropathrin and their mixture to earthworm [J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25(1): 77-80.

[13] 周启星,高拯民. Combined pollution and its indexes of Cd and Zn in soil-rice system[J]. 土壤学报, 1995, 32(4): 430-436.

[14] Hamilton S J, Buhl K J. Hazard evaluation of inorganics, singly and in mixtures, to flannel mouth sucker *Catostomus latipinnis* in the san Juan river, New Mexico[J]. *Ecotoxicol Environ Safe*, 1997, 38(3): 296-308.