

蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力^{*}

高岩^{1,2} 骆永明¹

(1 中国科学院南京土壤研究所 土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

(2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 从三个方面综述了蚯蚓对土壤污染的指示作用: (1) 通过调查污染区土壤中蚯蚓种群的数量和结构反映土壤污染情况; (2) 利用蚯蚓进行生态毒理风险评价, 指示污染物对土壤生态系统可能造成的危害; (3) 利用蚯蚓监测土壤污染。并阐述了蚯蚓对重金属的主要耐性机制: (1) 脂质过氧化保护酶系统缓解氧化胁迫; (2) 分隔、固定作用; (3) 螯合解毒作用; (4) 溶酶体和细胞质粒抑制重金属活性。同时, 分析了蚯蚓强化污染土壤修复的潜力, 认为蚯蚓可以通过改善土壤理化性质、增强微生物活性、改变污染物的活性等强化污染土壤的生物修复过程。

关键词 蚯蚓; 生物标志; 风险评价; 监测; 生物修复

中图分类号 S154

文献标识码 A

蚯蚓作为一种古老的生物在自然界已经存在 6 亿年之久了^[1], 是土壤中生物量最大的动物类群之一, 在维持土壤生态系统功能中起着不可替代的作用。然而, 近年来, 随着工农业生产的迅速发展及人类对各种化学品依赖程度的不断提高, 许多有毒有害物质进入了土壤生态系统, 给蚯蚓及其他土壤动物带来了毁灭性的灾难。在污染土壤中, 一些敏感的蚯蚓种群消失了, 能够耐受污染物的种群保留下来, 从而导致了蚯蚓在密度和群落结构上发生明显的变化。这表明蚯蚓是土壤污染的敏感指示生物。有关蚯蚓指示土壤污染的研究, 主要从以下三个方面着手: (1) 通过调查污染区土壤中蚯蚓种群的数量和结构反映土壤污染情况; (2) 利用蚯蚓对污染物进行生态毒理风险评价; (3) 利用蚯蚓的分子、生物化学和生理反应(生物标志物)监测土壤污染。蚯蚓在修复退化土地中起着重要作用, 以往人们将注意力更多地投向蚯蚓对污染物的敏感性, 却忽略了蚯蚓对污染物的耐性。由于蚯蚓是改良土壤的能手, 如果将耐性高的蚯蚓引入退化的污染土壤中, 是否有利于污染土壤的修复? 蚯蚓能否与已有的生物修复技术相结合, 来强化生物修复效果? 本文将对蚯蚓指示和修复作用的研究进展情况进行了综述和分析。

1 蚯蚓在指示土壤污染中的应用

蚯蚓通常被视为土壤动物区系的代表类群而被用于指示、监测土壤污染。这主要是由于蚯蚓在降解有机物质、改善土壤物理性状、促进土壤养分循环与释放中起着举足轻重的作用^[2~4]。另外从生态学的角度来看, 蚯蚓处于食物链的底端, 与土壤中的各种污染物密切接触, 如果利用蚯蚓作为指示物监测、评价土壤污染, 可为保护整个土壤动物区系提供一个相对安全的污染物浓度阈值^[5]。目前, 利用蚯蚓指示污染物对土壤生态系统造成的影响主要通过两种方式: (1) 实地调查污染土壤中的蚯蚓种群数量及种群结构。根据调查结果获得一些参数, 如: 总丰度、种类丰度、多样性指数等, 来评价土壤生态系统的污染程度^[6, 7]; (2) 实验室条件下, 通过毒性和繁殖试验研究污染物对某单一种类的蚯蚓造成的伤害, 即蚯蚓的生态毒理学研究^[7]。前者是在群落、种群水平上来反映污染物对土壤生态系统的影响, 后者是在种群及个体水平上反映某种污染物或即将投入使用的化学物质可能对土壤动物造成的危害, 即生态风险评价, 但其结果外推到实际情况时具有不确定性^[8~10]。关于蚯蚓作为指示生物监测土壤污

* 国家杰出青年科学基金(40125005) 和国家重点基础研究规划研究发展项目(2002CB410810) 资助

- 通讯作者: ymluo@issas.ac.cn

作者简介: 高岩(1978~), 硕士研究生, 主要从事污染生态毒理、风险评价及生物修复研究

收稿日期: 2004-02-30; 收到修改稿日期: 2004-06-12

染的研究, 主要涉及到确定合适的生物标志物, 即利用分子、生物化学和生理反应(生物标志物)来指示污染情况。下面将对以上几个方面进行详细阐述。

1.1 蚯蚓群落结构与土壤污染

Burgman 等^[11]认为, 评价污染物生态学危害的一个可靠手段就是研究这些化学污染物对生物种群的影响。Paoletti^[6]指出, 农业用地、城市及工业区土壤中的蚯蚓是监测各种污染的良好指示者。在大多数情况下, 蚯蚓的种群数量、种类丰度、多样性等参数都是评价污染物环境危害的有用工具。然而, 调查一个污染区的土壤动物群落, 不仅需要的人力较多, 而且耗资、费时。同时, 科研工作者对土壤动物的研究仍未给予足够的重视, 所以国内外相关的报道还不多。王振中等^[12]从 1991 年 11 月至 1992 年 4 月对湖南株洲市某金属冶炼区附近土壤中的蚯蚓种群结构、数量进行了三次调查, 结果表明: 随着 Cd、As、Pb、Zn、Cu、Hg 污染程度的增加, 蚯蚓种类减少, 污染严重的地区优势种表现出更强的优势度, 重污染区 3 个种均为巨蚓科种类。他们还调查了湖南农药厂附近农田土壤中蚯蚓种群结构、数量进行了调查, 结果发现了与重金属污染条件下同样的变化趋势: 污染区内的土壤中蚯蚓种类较少, 随着有机氯、有机磷农药污染程度的增加, 蚯蚓的种类和数量随之减少。优势种为微小双胸蚓、壮伟环毛蚓, 在各污染区均有分布^[13]。Bengtsson 等^[14]对瑞士东南部某黄铜制造厂附近土壤中蚯蚓科(Lumbricidae)的种类、种群密度进行了调查, 得到了相同的规律: 蚯蚓的密度和数量与污染源的距离成比例, 离制造厂越近, 污染越严重, 蚯蚓的数量及种类越少。还有一些研究调查了污染土壤中蚯蚓及其他土壤动物的存在情况, 如: 李忠武等^[15]研究了 Cd 污染对土壤动物群落结构的影响; Nahmani 和 Leveled^[16]研究了重金属污染对法国北部草原中土壤动物的影响。这些研究结果都显示: 蚯蚓及整个土壤动物的种群数量、结构均与土壤污染程度有良好的对应性, 其变化情况可以在一定程度上反映土壤生态系统受污染的程度。然而, 这只是一种整体上的反映, 要确切获得某些量化信息就不容易了, 如: 在某特定污染土壤中, 究竟蚯蚓种群数量和群落结构变化到什么水平时, 土壤生态系统已开始退化(即土壤生态系统相对于土壤动物来说所能承受的最大污染程度)? 污染区污染物在多大浓度时对各个种类的蚯蚓不造成伤害? 在多大浓度时导致某一种类 50% 数量的蚯蚓死亡? 而蚯蚓的生态毒理学研究及生态毒理风险评价在一

定程度上弥补了这一缺陷。

1.2 蚯蚓在生态毒理风险评价中的应用

Moore^[17]指出, 污染物对生物体造成的影响可以通过生物体复杂的生理功能体系在不同水平上的变化表现出来。生物体受到污染胁迫时, 在分子、细胞和生理水平上都会发生明显的变化。这就会影响生物体的存活、生长和繁殖能力^[18]。正是因为生物体拥有的这些特性, 赋予了它们指示外界污染的价值, 从而被应用于污染物的生态毒理风险评价当中。对于土壤污染来说, 更多的用蚯蚓来评价污染的风险程度, 即利用蚯蚓作为载体对可能造成土壤环境污染的化学物质进行测试, 并根据这些化学物质对蚯蚓的毒害程度来评价其可能对土壤生态系统的危害程度^[5]。利用蚯蚓进行生态毒理风险评价涉及的研究内容包括: 污染物对蚯蚓的存活、生长、繁殖能力等方面的影响^[19], 这主要是通过蚯蚓的毒性试验和繁殖试验来确定的。试验中获得的结果最终服务于生态风险评价, 即利用统计手段从这些结果中获得统计指标, 并通过这些统计指标来反映污染物的生态风险。这些指标包括: 导致所检测的指标减少 $x\%$ 时的有效浓度(EC_x)、中致死浓度(LC_{50})、未观察到任何影响时的最高浓度($NOEC$)等^[20]。这些试验方法和统计方法在国际上是得到认可的, 一些国际组织也为此设定了相应的标准规范和指导方针。这些国际组织包括: 国际经合组织(OECD)和国际标准化组织(ISO)等。

生态风险评价是近 25 年才发展起来的研究领域^[21]。目前, 评价污染物对土壤生态系统的影响已成为 OECD 国家优先考虑的问题^[22]。如果在评价过程中涉及到化学物质生物毒性的研究, 也被称为生态毒理风险评价。利用蚯蚓进行生态毒理风险评价, 最常用的方法是采用单一种类的蚯蚓进行毒性试验或繁殖试验, 以污染物对这个种类蚯蚓的影响为代表, 来评价污染物对土壤中其他种类的蚯蚓甚至整个土壤动物区系所造成的影响^[21]。然而, 学者们发现这种方法存在着许多缺点, 如: 单一物种试验没有考虑不同的蚯蚓具有不同的敏感性及种类之间的交互作用, OECD 之所以选特种蚯蚓(赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida*)来进行测试, 主要是因为这种蚯蚓在试验室条件下容易饲养, 然而 *Eisenia fetida* 喜欢温暖的气候条件, 对较寒冷的北方地区来说这种蚯蚓就很少见了^[23]; 污染物通常直接加入土壤(人工土壤)中, 与自然土壤中的污染物相比具有更高的毒性^[24, 25]; 单一物种试验忽略了土壤性质, 如: 有机

质、粘粒含量、pH 等对污染物毒性的影响^[26, 27]。目前关于单一物种试验,有另外一种可供选择的方法,那就是采用土壤微宇宙系统(Microcosms)或陆地模型生态系统(Terrestrial model ecosystem)进行生物毒理风险评价^[9]。研究者们希望能通过这些方法架起从室内研究结果到田间研究结果之间的桥梁。土壤微宇宙系统或陆地模型生态系统的构建原则是:系统内必须存在几个营养级的生物,这些生物必须包括植物、土壤典型的无脊椎动物和微生物,以保证它们能影响有机质的降解、养分的循环和化学转化过程,从而保证该系统具有最基本的生态功能^[10]。基于以上方法,可以分层次评价污染物对土壤生态系统可能造成的影响:第一层次,单一物种的毒性实验或繁殖试验(标准化的试验);第二层次,构建简单的土壤微宇宙系统进行生态毒理评价;第三层次,构建复杂的陆地模型生态系统进行生态毒理评价。这就缩小了室内评价结果与田间评价结果之间的差距。

1.3 蚯蚓在监测土壤污染中的应用

近年来,用蚯蚓的分子、生物化学和生理反应(生物标志物)来监测土壤污染的变化情况已越来越受到人们的关注,这主要是因为生物标志物为田间条件下指示土壤污染情况提供有效的工具^[28]。Peakall^[29]认为生物标志物的主要优势就在于它们弥补了传统环境毒理学方法的一些局限性。传统的生态毒理学研究中,通常只测量蚯蚓体内污染物的残留量或环境中化学物质的残留量。然而,随着土壤性质的变化,污染物的生物有效性(即产生毒性的能力)是不断变化的^[30],而生物暴露于污染物后产生的生理、生化方面的反应是相对稳定的。从这个角度出发,如果污染物的有效浓度超过了生物标志物所能承受的极限浓度,那么此时污染物一定会对生物个体、种群造成伤害,即死亡现象开始出现。由此不难得出这样的结论:标志物可用来指示半致死效应变得明显前污染物对蚯蚓在个体水平上所产生的影响,并作为早期预警系统对土壤污染进行监测。也就是说早期预警系统能在生态系统中的蚯蚓群体发生衰减前做出警报,这似乎比调查污染区土壤内蚯蚓的种群数量、结构更有意义。

第三届蚯蚓毒理学国际会议中,毒理学专家们提出了一些建议:采用生物标志物作为早期预警的工具,还要解决许多问题。尤其是在建立生物标志物的响应情况与蚯蚓个体、种群变化之间的关系方面,应投入更多的努力^[31]。近年来的许多研究工作也都体现了这一思想。如: Maboeta^[32]等研究了蚯

蚓溶酶体膜完整性是否能与 LC_{50} 及生物量的变化建立起良好的相关性。结果发现确实存在着良好的相关性。这就说明生物标志物作为早期预警系统对土壤污染进行监测是很有发展潜力的。Svendsen 和 Weeks^[33]研究了 Cu 污染条件下蚯蚓腔胞溶酶体膜完整性的同时,也从生态学角度研究了蚯蚓在个体、种群水平的变化。结果发现蚯蚓仅仅在 Cu 浓度超过了标志物所能承受的极限浓度时,个体、种群水平才发生变化。Maboeta 等^[34]和 Maboeta 等^[35]分别研究了在田间条件下,喷施杀真菌剂氯化铜对蚯蚓 *Microchaetus* sp. 和 *Aporrectodea caliginosa* 的生物量和种群数量的影响,同时检测了两种蚯蚓溶酶体膜的完整性,目的就是建立起细胞反应与蚯蚓在种群水平变化的关系。事实证明溶酶体膜在蚯蚓种群变化之前,已发生了变化,并能与其建立良好的指示关系。Stenersen 等^[36]研究了蚯蚓暴露于(实验室条件下)挪威南部地区两个废弃的黄铁矿土壤后溶酶体完整性的变化及蚯蚓生长、死亡情况,也得到了同样的结论:溶酶体膜的完整性是很敏感的标志物,并可用于蚯蚓的毒性评价及监测土壤污染。由以上的结论不难看出,溶酶体膜的完整性是很好的生物标志物,很多研究都表明它与污染物的剂量成良好的线性关系。其实除了溶酶体膜的完整性,还存在许多其他的生物标志物,如:酶活性、同工酶、金属硫蛋白等^[37],研究者们也不断地提出新的生物标志物,但大部分研究者忽略了研究这些标志物是否能与蚯蚓种群变化之间建立起良好指示关系,这恰恰是评判一个生物标志物是否值得研究的一个重要依据。所以此领域仍有很大的研究潜力,许多问题还值得进一步探讨。

2 蚯蚓对污染物的耐性及耐性机理

以往人们更多地利用蚯蚓对污染物的敏感性来为环境保护服务,而忽略了蚯蚓对污染物的耐性。目前,关于蚯蚓对污染物耐性的研究也主要集中在蚯蚓对重金属耐性的研究。对于蚯蚓来说,它们对金属具有耐性的最直接证据就是从污染土壤中找到蚯蚓的存在。正如前面在阐述蚯蚓种群数量、结构与土壤污染的关系时提到的,即使在污染地区也存在着某些蚯蚓的优势种,如王振中等^[12]在含 Zn 657.8 mg kg^{-1} 、Pb 670.5 mg kg^{-1} 、As 56.6 mg kg^{-1} 的重金属复合污染土壤中发现了巨蚓科种类的蚯蚓。在实验室条件下,研究者也同样发现蚯蚓对金属具

有耐性,如: Reinecke 等^[38] 在实验室内的研究发现赤子爱胜蚓 *Eisenia fetida* 长期暴露于 Cd 污染的人工土壤后,对 Cd 产生了耐性; Langdon 等^[39] 也发现,如果蚯蚓 (*Lubricious rubellas* 和 *Dendrodriilus rubidus*) 长期生活在 As 污染土壤中,对 As 会产生抗性; Kennette 等^[40] 将蚯蚓 *Lumbricus terrestris* L. 放入含有 Pb 7 100 mg kg⁻¹ 和 Zn 14 600 mg kg⁻¹ 的城区污染土壤中培养,蚯蚓仍未表现出明显的死亡现象。

虽然很多证据都证明了蚯蚓对金属具有耐性,但其耐性机理还很不清楚,对这方面的研究也不多。目前存在着一种共识,就是生物体暴露于重金属后,就可能受到氧化胁迫的威胁。为了避免受到伤害,生物体内某些与抗氧化相关的酶的活性就会升高。蚯蚓体内也含有丰富的酶类,其中包括过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶及超氧化物歧化酶等酶类构成的脂质过氧化保护酶系统。当蚯蚓暴露于金属后,产生了氧化胁迫,激发了这些酶的活性,能缓解活性氧对生物体造成的危害^[22, 41]。当然,这是生物体普遍存在的一种反应。Morgan 等^[42] 认为分隔、固定作用或许能在某种程度上解释蚯蚓耐受重金属的机制。他们的研究表明:蚯蚓体内大部分 Cd、Pb、Zn 都分布在后消化道中,这部分组织集中了蚯蚓所累积的大部分的 Cd、Pb、Zn。细胞内的泡囊是这些金属的主要容身之所,并且它们与磷键相结合,形成难溶性的金属磷酸钙盐,从而阻止了金属向其他组织扩散。蚯蚓耐受重金属另外一个可能的机制就是:金属与小分子量、富含半胱氨酸的蛋白质或金属硫蛋白相结合,从而降低其毒性^[43]。蚯蚓还能通过体腔内腔胞的溶酶体和细胞质粒抑制重金属活性来进行解毒^[44]。蚯蚓既然有耐受重金属的基因潜力,那么我们完全有可能利用它为污染土壤的修复工作服务。

3 蚯蚓强化土壤污染修复的潜力分析

对蚯蚓具有强化污染土壤修复的潜力可作如下分析:首先,污染区土壤通常具有恶劣的物理、化学性质,而蚯蚓是改善土壤物理结构、改善土壤通气性和透水性、增强土壤肥力的能手,那么,如果将蚯蚓引入土壤中,将有利于退化的污染土壤生态系统的恢复;其次,污染土壤中的微生物数量减少,活性降低。由于蚯蚓体内能携带各种微生物^[45, 46],如果将蚯蚓引入污染土壤,随同蚯蚓一起,可以向土壤中引入各种微生物。张宝贵等^[47] 还发现蚯蚓能提高土

壤中活性微生物量。由于微生物在降解有机污染物中起着举足轻重的作用^[48],所以向污染土壤中引入蚯蚓会有助于有机污染物的降解。Luepromchai 等^[49] 研究发现,蚯蚓能提高多氯联苯 (PCBs) 降解菌的传播,促进土壤中联苯降解菌种群数量的增加;再次,蚯蚓能促进植物生长,它们的排泄物是植物的优良肥料,所以蚯蚓的引入有利于污染土壤生态系统中植被的恢复。由此可以看出蚯蚓对重建一个健康的土壤生态系统的重要性。基于以上分析,我们是否能将蚯蚓与现有的污染土壤修复技术相结合,从而提高修复效率呢?

目前,植物提取技术应用于治理重金属污染土壤越来越受到世界各国政府、企业界和科技界的关注。然而,植物提取技术在实际应用过程中也存在着一些不尽人意的的问题。首先,超积累植物的生物量小、生长速度慢;其次,土壤中的重金属有效性较低并具有隐蔽性^[50]。为此,近年来人们提出一种“螯合诱导技术”,即向土壤中加入螯合剂,如:EDTA、DTPA 等,使被土壤固定的重金属部分释放并进入水溶液,以保证植物能从土壤中提取走更多的金属。然而这可能造成土壤和地下水环境的二次污染^[51]。那么如何在保证修复效果的同时,尽量减少化学品的使用呢?蚯蚓具有解决这一矛盾的潜力。

Bonkowski 等^[52] 指出,根际土壤中动物和微生物之间复杂的交互作用对植物生长和重金属吸收有很大的影响。Lasat 认为研究土壤动物、微生物、植物之间的交互作用,对植物修复技术的进一步发展有重大意义^[53]。关于蚯蚓在促进植物生长方面起的积极作用已被大量研究证明。蚯蚓也能通过取食、排泄等生命活动影响土壤-植物系统中重金属的化学行为。Ireland^[54] 发现蚯蚓 (*Dendrobaena rubida*) 的蚓粪中水溶态 Pb 的含量比土壤中增加了 50%。Cheng 和 Wong^[55] 研究了蚯蚓对红壤、水稻土、冲积土中 Zn 分级情况的影响,结果表明在有机质较高、污染程度较低的土壤中,培养蚯蚓能提高金属的有效性。Ma 等^[56] 用 Pb、Zn 尾矿中的土壤培养蚯蚓,结果发现有效态 Pb、Zn 的含量分别升高了 48.2% 和 24.8%。蚯蚓还能影响土壤微生物存在的种类、数量、活性^[47],而微生物与重金属之间也存在着复杂的相互作用关系,影响着重金属存在的种类和有效性^[57]。泡囊-丛枝菌根是土壤中重要的根际微生物,植物根系通过它们与土壤紧密接触,大量研究表明,菌根能显著影响根际重金属形态分布以及它们的生物有效性^[58-60],从而改变植物对重金

属的吸收和转移。既然蚯蚓能传播微生物并影响微生物的活性和数量,就存在着能促进菌根侵染植物根系的可能性,从而增强植物吸收重金属的能力。这些迹象都表明蚯蚓有可能通过取食、消化和排泄等生命活动以及与微生物的相互作用提高土壤中重金属的生物有效性。同时蚯蚓在降解有机废物过程中能提高土壤中腐殖质和有机酸含量^[61],并促进植物生长^[62, 63]。植物生物量的增加能促使植物体内累积更多的重金属;腐殖质和有机酸含量的增加不仅能促进植物生长^[64],还会影响金属的移动性^[65, 66]。从以上事实可以看出:蚯蚓能通过直接或间接作用强化植物修复的效果。Ma 等^[67]研究了在种植木本豆科植物 *Leucaena leucocephala* 的同时,引入蚯蚓对恢复广东省某 Pb/Zn 尾矿土壤的影响,结果发现由于蚯蚓的存在 *Leucaena leucocephala* 的产量提高了 10%~30%,由此而导致的植物吸收金属比率的提高可达到 16%~53%。

目前,有机污染的原位生物修复技术越来越受到人们的青睐。对土壤中有毒有害有机污染物的生物修复,主要是利用自然环境中生息的微生物,或接种特殊驯化与构建的工程微生物,以及进行微生物强化作用,将目标污染物分解为 CO₂ 和 H₂O,或转化为无害物质。若想减少甚至避免对生态系统的扰动,采用自然的原位修复技术(不进行任何工程辅助措施),有机污染物的微生物修复过程会受到土壤环境条件的限制,如:碳源和能源、微生物代谢所需的无机营养物质、合适的可利用水分、对酸碱度的缓冲能力^[68]。那么,蚯蚓是不是也可以在一定程度上解决这一难题,强化有机污染物生物修复过程呢?可做如下分析:

(1) 土壤通气条件是制约有机污染物生物修复成功与否的一个重要因素,这主要是因为有机污染物的分解过程实质上是还原物质失去电子的氧化过程。其中当微生物利用分子氧作为末端电子受体时,污染物被降解得最彻底(分解产物为 CO₂ 和 H₂O)。以 PCBs 生物降解为例:虽然在厌氧条件下有利于 PCBs 的脱氯过程,但要彻底矿化这些有机污染物离不开一个通气良好的土壤环境条件。由于在通常情况下污染土壤的亚表层通气性较差,氧气供应不足,这样就会明显抑制 PCBs 的降解速度^[69]。研究表明蚯蚓的活动和挖掘行为能很好地改善土壤通气性^[70, 71]。

(2) 对于异型生物物质,如果污染新近发生,很少会有土著微生物能降解它们。通常需经过实验室研

究筛选出高效降解菌,然后找到降解过程的最适条件,再将菌株接种到污染土壤中。但是,接种体的传播和扩散能力较差,给微生物扩增过程带来一定的困难^[72]。研究表明蚯蚓作为土壤生态环境的一个重要组成部分,能够通过自身的生命活动,如:运动、取食、挖掘等行为,促进土壤接种菌的传播^[73~75]。

(3) 蚯蚓还能通过它们的排泄物和分泌的黏液,提高土壤微生物的活性和矿质养分的有效性^[76],从而为微生物的生命活动提供充足的无机营养盐。

(4) 还有研究表明蚯蚓能够通过取食行为,将有机污染物从土壤表面转移,并使得土壤中稳定态有机污染物增加,从而降低有机污染物向下淋溶,污染水体的风险^[77]。

以上分析结果都表明蚯蚓具有强化有机污染土壤生物修复的潜力。但是,关于蚯蚓存在条件下有机污染物降解情况的研究还不多。Singer 等^[78]研究表明在培养蚯蚓的污染土壤中,PCBs 的降解率为 55%,而在未培养蚯蚓的污染土壤中,PCBs 的降解率仅为 39%。

4 展 望

目前,欧盟国家对蚯蚓的生态毒理学、生态毒理风险评价的研究已有一定的基础。从管理角度来看,通过风险评价可以确定优先污染物和优先治理的污染场所,以及为制定环境质量标准提供依据。而我国在制定土壤环境质量时,很少从保护土壤生态系统的角度出发考虑污染物对土壤动物、土壤微生物可能造成的影响,目前的标准值更多的是与化学分析相关的标准值。或许生态毒理风险评价研究在我国的发展可为制定更合理的环境质量标准提供依据。利用蚯蚓监测田间土壤污染的变化情况,可以提供一个早期预警系统,这样管理人员就可以获得及时的信息反馈:土壤生态系统是否已经由于污染的影响开始遭到破坏。并依此及时限制污染物的输出量或提出相应的治理计划。以上这些都涉及到了蚯蚓生态毒理学的研究。在我国,虽然也有一些关于毒性试验的报道,但其中大部分研究的的目的性还不强,只是单纯地研究污染物对蚯蚓的影响。如果能将蚯蚓的生态毒理学研究与如何监测土壤污染变化、制定以保护生态系统为目的的土壤环境质量标准以及确定优先污染物、优先治理修复场所等联系起来,将会更有利于我国土壤环境保护事业的发展。

将蚯蚓应用于污染土壤生态系统的恢复, 甚至应用于强化污染土壤生态系统的修复, 具有一定的发展潜力, 在实际应用当中也有较大的可行性, 如: 现在有成熟的蚯蚓饲养技术, 饲养蚯蚓的成本也较低; 将蚯蚓引入污染点时操作简便; 还可以利用有机废物喂养蚯蚓, 不仅能资源化利用, 还可达到治理污染的目的。但是如果蚯蚓对污染物的耐性差或某污染区的污染物浓度很高, 引入的蚯蚓就会逃逸甚至死亡。这样, 蚯蚓的耐性就成为关键问题。解决这一问题最根本的途径就是提高蚯蚓对重金属、持久性有机污染物及复混污染物的耐性, 如: 选育污染耐性品种; 引入污染土壤之前, 对蚯蚓进行污染驯化(逐渐升高污染物浓度)。转基因技术的发展也将为提高蚯蚓对污染物的耐性提供强有力的支持。如果解决了这一问题, 同时又能保证生态与环境安全, 相信蚯蚓将是修复退化的污染土壤生态系统最合适的“绿色力量”。

参 考 文 献

- [1] 邱江平. 蚯蚓及其在环境保护中的应用 I. 蚯蚓及其在自然生态系统中的作用. 上海农学院学报, 1999, 17(3): 227~232. Qiu J P. Earthworms and their application in environmental protection IV. Earthworms and their function in ecosystem (In Chinese). Journal of Shanghai Agricultural College, 1999, 17(3): 227~232
- [2] 尹文英. 土壤动物学研究的回顾与展望. 生物学通报, 2001, 36(8): 1~3. Yin W Y. Review of soil zoology and its prospect (In Chinese). Bulletin of Biology, 2001, 36(8): 1~3
- [3] 尹文英等著. 中国土壤动物. 北京: 科学出版社, 2002. 1~4. Yin W Y, et al. Soil Animal of China (In Chinese). Beijing: Science Press, 2002. 1~4
- [4] Robinson C H, Ineson P, Pearce T G, et al. Effects of earthworms on cation and phosphate mobilisation in limed peat soils under *Picea sitchensis*. Forest Ecology and Management, 1996, 86(1~3): 253~258
- [5] 邱江平. 蚯蚓及其在环境保护上的应用 II. 蚯蚓生态毒理学. 上海农学院学报, 1999, 17(4): 301~308. Qiu J P. Earthworms and their application in environmental protection ②. Ecotoxicology of earthworms (In Chinese). Journal of Shanghai Agricultural College, 1999, 17(4): 301~308
- [6] Paoletti G M. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1999, 74(1~3): 137~155
- [7] Fent K. Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. Toxicology Letters, 2003, 140/141: 353~365
- [8] Tanaka Y. Ecological risk assessment of pollutant chemicals: Extinction risk based on population-level effects. Chemosphere, 2003, 53(4): 421~425
- [9] Edwards C A. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. European Journal of Soil Biology, 2002, 38(3/4): 225~231
- [10] Burrows L A, Edwards C A. The use of integrated soil microcosms to predict effects of pesticides on soil ecosystems. European Journal of Soil Biology, 2002, 38(3/4): 245~249
- [11] Burgman M A, Ferson S, Akcakaya H R. Risk Assessment in Conservation Biology. London: Chapman & Hall, 1993
- [12] 王振中, 郭永灿, 邓继福, 等. 土壤重金属污染对蚯蚓 (*Opisthospira*) 影响的研究. 环境科学学报, 1994, 14(2): 236~243. Wang Z Z, Guo Y C, Deng J F, et al. Effect of heavy metals in soil on earthworms (*Opisthospira*) (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 1994, 14(2): 236~243
- [13] 郭永灿, 王振中, 张友梅, 等. 农药污染对蚯蚓的群落结构与超微结构的研究. 中国环境科学, 1997, 17(1): 67~71. Guo Y C, Wang Z Z, Zhang Y M, et al. Effects of pesticide pollution on community structure and cell ultrastructure of earthworm (In Chinese). China Environmental Science, 1997, 17(1): 67~71
- [14] Bengtsson G. Population density and tissue metal concentration of lumbricids in forest soils near a brass mill. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological, 1983, 30(2): 87~108
- [15] 李忠武, 王振中, 张友梅, 等. Cd 对土壤动物群落结构的影响. 应用生态学报, 2000, 11(6): 931~934. Li Z W, Wang Z Z, Zhang Y M, et al. Effect of cadmium on soil animal community structure (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2000, 11(6): 931~934
- [16] Nahmani J, Leveled P. Effects of heavy metal pollution on soil macrofauna in a grassland of Northern France. European Journal of Soil Biology, 2002, 38(3/4): 297~300
- [17] Moore M N. Cellular responses to pollutants. Marine Pollution Bulletin, 1985, 16(4): 134~139
- [18] Crommentuijn T, Doodeman C J A M, Doornekamp A, et al. Sublethal sensitivity index as an ecotoxicity parameter measuring energy allocation under toxicant stress: Application to cadmium in soil arthropods. Ecotoxicol. Environ. Saf., 1995, 31(3): 192~200
- [19] Chapman P M. Integrating toxicology and ecology: Putting the “eco” into ecotoxicology. Marine Pollution Bulletin, 2002, 44(1): 7~15
- [20] Isnard P, Flammarion P, Roman G, et al. Statistical analysis of regulatory of ecotoxicity tests. Chemosphere, 2001, 45(4/5): 659~669
- [21] Solomon K R, Sibley P. New concepts in ecological risk assessment: Where do we go from here? Marine Pollution Bulletin, 2002, 44(4): 279~285
- [22] Saint-Denis M, Narbonne J F, Arnaud C, et al. Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil: Effects of lead acetate. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33(7/8): 395~404
- [23] Davies N A, Hodson M E, Black S. Is the OECD acute worm toxicity test environmentally relevant? The effect of mineral form on calculated lead toxicity. Environ. Pollut., 2003, 121(1): 49~54
- [24] Davies N A, Hodson M E, Black S, et al. The influence of time on lead toxicity and bioaccumulation determined by the OECD earthworm

- toxicity test. Environ. Pollut., 2003, 121(1): 55~ 61
- [25] Lock K C, Janssen C R. Influence of ageing on zinc bioavailability in soils. Environ. Pollut., 2003, 126(3): 371~ 374
- [26] Lock K C, Colin R J. Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*. Chemosphere, 2001, 44(8): 1 669~ 1 672
- [27] Lanno R, Wells J, Conder J, *et al.*. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57(1): 39~ 47
- [28] Vasseur P, Cossu-Leguille C. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. Environment International, 2003, 28(8): 711~ 717
- [29] Peakall D B. The role of biomarkers in environmental assessment. 1. Introduction. Ecotoxicology, 1994, 3: 157~ 160
- [30] Corp N, Morgan A J. Accumulation of heavy metals from polluted soils by the earthworm, *Lumbricus rubellus*: Can laboratory exposure of "control" worms reduce biomonitoring problems. Environ. Pollut., 1991, 74(1): 39~ 52
- [31] van Gestel C A M, Weeks J M. Recommendations of the 3rd International Workshop on Earthworm Ecotoxicology, Aarhus, Denmark, August 2001. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57(1): 100~ 105
- [32] Maboeta M S, Reinecke S A, Reinecke A J. The relationship between lysosomal biomarker and organismal responses in an acute toxicity test with *Eisenia fetida* (Oligochaeta) exposed to the fungicide copper oxychloride. Environmental Research, 2004, 96(1): 95~ 101
- [33] Svendsen C, Weeks J M. Relevance and applicability of a simple earthworm biomarker of copper exposure I. Links to ecological effects in a laboratory study with *Eisenia andrei*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1997, 36(1): 72~ 79
- [34] Maboeta M S, *et al.* The relation between Lysosomal biomarker and population responses in a field population of *Microchaetus* sp. (Oligochaeta) exposed to the fungicide copper oxychloride. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2002, 52(3): 280~ 287
- [35] Maboeta M S, Reinecke S A, Reinecke A J. Linking lysosomal biomarker and population responses in a field population of *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta) exposed to the fungicide copper oxychloride. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, 56(3): 411~ 418
- [36] Stenersen J, *et al.* Lysosomal fragility in earthworms (*Eisenia veneta*) exposed to heavy metal contaminated soils from two abandoned pyrite ore mines in Southern Norway. Water, Air, and Soil Pollution, 2003, 142(1~ 4): 27~ 37
- [37] 钱芸, 刘广良, 戴树桂. 土壤生态毒理风险评估中的陆地无脊椎生物标志物. 土壤与环境, 2002, 11(1): 70~ 74. Qian Y, Liu G L, Dai S G. Terrestrial invertebrate biomarkers used for soil ecotoxicological risk assessment (In Chinese). Soil and Environmental Sciences, 2002, 11(1): 70~ 74
- [38] Reinecke S A, Prinsloo M W, Reinecke A J. Resistance of *Eisenia fetida* (Oligochaeta) to cadmium after long-term exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1999, 42(1): 75~ 80
- [39] Langdon C J, Pearce T G, Meharg A A, *et al.* Interactions between earthworms and arsenic in the soil environment: A review. Environmental Pollution, 2003, 124(3): 361~ 373
- [40] Kennette D, Hendriks W, Tomlin A, *et al.* Uptake of trace metals by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils. Applied Soil Ecology, 2002, 19(2): 191~ 198
- [41] 林少琴, 兰瑞芳. 金属离子对蚯蚓 CAT、GSH-Px 及 SOD 酶活性的影响. 海峡药学, 2001, 13(2): 23~ 25. Lin S Q, Lan R F. Effect of metal ions on activities of CAT, GSH-Px and SOD from earthworms, *Eisenia foelide* (In Chinese). Strait Pharmaceutical Journal, 2001, 13(2): 23~ 25
- [42] Morgan J E, Morgan A J. The distribution and intracellular compartmentation of metals in the endogeic earthworm *Aporrectodea caliginosa* sampled from an unpolluted and a metal contaminated site. Environmental Pollution, 1998, 99(2): 167~ 175
- [43] Stenzenbaum S R, Kille P, Morgan A J. The identification, cloning and characterization of earthworm metallothionein. FEBS Letters, 1998, 431(3): 437~ 442
- [44] Morgan J E, Norey C G, Morgan A J, *et al.* A comparison of the cadmium-binding proteins isolated from the posterior alimentary canal of the earthworms *Dendrodrilus rubidus* and *Lumbricus rubellus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology and Toxicology, 1989, 92(1): 15~ 21
- [45] 张宝贵. 蚯蚓与微生物的相互作用. 生态学报, 1997, 17(5): 556~ 560. Zhang B G. Interaction between earthworms and microorganisms (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 1997, 17(5): 556~ 560
- [46] Fischer O A, Matlova L, Batl J, *et al.* Earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) and mycobacteria. Veterinary Microbiology, 2003, 91(4): 325~ 338
- [47] 张宝贵, 李贵桐, 申天寿. 威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响. 生态学报, 2000, 20(1): 168~ 172. Zhang B G, Li G T, Shen T S. Influence of the earthworm *Pheretima guillelmi* on soil microbial biomass and activity (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2000, 20(1): 168~ 172
- [48] Singer A C, Jury W, Luepromchai E, *et al.* Contribution of earthworms to PCB bioremediation. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(6): 765~ 776
- [49] Luepromchai E, Singer A C, Yang C H, *et al.* Interactions of earthworms with indigenous and bioaugmented PCB-degrading bacteria. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 41(3): 191~ 197
- [50] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复. 土壤, 1999, 31(5): 261~ 265. Luo Y M. Phytoremediation on metal polluted soil (In Chinese). Soils, 1999, 31(5): 261~ 265
- [51] 骆永明. 强化植物修复的整合诱导技术及其环境风险. 土壤, 2000, 32(2): 57~ 61. Luo Y M. Chelate-enhanced phytoremediation and its environmental risk (In Chinese). Soils, 2000, 32(2): 57~ 61
- [52] Bonkowski M, Cheng W X, Griffiths B S, *et al.* Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. European Journal of Soil Biology, 2000, 36(3): 135~ 147
- [53] Lasat M M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. J. Environ. Qual., 2002, 31(1): 109~ 120

- [54] Ireland M P. The effect of the earthworm *Dendrobaena rubida* on solubility of lead, zinc and calcium in heavy metal contaminated soil in Wales. *Journal of Soil Science*, 1975, 26(3): 313~ 318
- [55] Cheng J M, Wong M H. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(1): 72~ 78
- [56] 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. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(1): 79~ 86
- [57] Gadd G M. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*, 2000, 11(3): 271~ 279
- [58] Díaz G, Azcón-Aguilar C, Honrubia M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant and Soil*, 1996, 180(2): 241~ 249
- [59] Weissenhorn I, Mench M, Leyval C. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage-sludge-amended sandy soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(3): 287~ 296
- [60] 黄艺, 陈有键, 陶澍. 菌根植物根际环境对污染土壤中 Cu、Zn、Pb、Cd 形态的影响. *应用生态学报*, 2000, 11(3): 431~ 434. Huang Y, Chen Y J, Tao S. Effect of rhizospheric environment of VA mycorrhizal plants on forms of Cu, Zn, Pb, Cd in polluted soil (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(3): 431~ 434
- [61] Senesi N, Saiz Jimenez C, Miano T M. Spectroscopic characterization of metal-humic acid-like complexes of earthworm-composted organic wastes. *The Science of The Total Environment*, 1992, 117/118: 111~ 120
- [62] Spain A V, Lavelle P, Mariotti A. Stimulation of plant growth by tropical earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*, 1992, 24(12): 1629~ 1633
- [63] Welke S E, Parkinson D. Effect of *Aporrectodea trapzoides* activity on seedling growth of *Pseudotsuga menziesii*, nutrient dynamics and microbial activity in different forest soils. *Forest Ecology and Management*, 2003, 173(1~ 3): 169~ 186
- [64] Atiyeh R M, Lee S, Edwards C A, et al. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, 2002, 84(1): 7~ 14
- [65] Piccolo A. Reactivity of added humic substances towards plant available heavy metals in soils. *The Science of The Total Environment*, 1989, 81/82: 607~ 614
- [66] Halim M, Conte P, Piccolo A. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances. *Chemosphere*, 2003, 52(1): 265~ 275
- [67] Ma Y, Dickinson N M, Wong M H. Interactions between earthworms, trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(10): 1369~ 1379
- [68] 安淼, 周琪, 李晖. 土壤污染生物修复的影响因素. *土壤与环境*, 2002, 11(4): 397~ 400. An M, Zhou Q, Li H. Affecting factors in bioremediation of contaminated soils (In Chinese). *Soil and Environmental Sciences*, 2002, 11(4): 397~ 400
- [69] McDermott J B, Unterman R, Brennan M J, et al. Two strategies for PCB soil remediation: Biodegradation and surfactant extraction. *Environmental Progress*, 1989, 8(1): 46~ 51
- [70] Kretzschmar A. Soil partitioning effect of an earthworm burrow system. *Biology and Fertility of Soils*, 1987, 3(1/2): 121~ 124
- [71] Schack-Kirchner H, Hildebrand E E. Changes in soil structure and aeration due to limiting and acid irrigation. *Plant and Soil*, 1998, 199(1): 167~ 176
- [72] Elsas J D V, Heijnen C E. Methods for the introduction of bacteria in to soil: A review. *Biology and Fertility of Soils*, 1990, 10(2): 127~ 133
- [73] Daane L L, Molina J A E, Sadowsky M J. Plasmid transfer between spatially separated donor and recipient bacteria in earthworm-containing soil microcosm. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(2): 679~ 686
- [74] Doube B M, Ryder M H, Davoren C W, et al. Enhanced root nodulation of subterranean clover (*Trifolium subterraneum*) by *Rhizobium leguminosarium* biovar. *trifolii* in the presence of the earthworm *Aporrectodea trapzoids* (Lumbricidae). *Biology and Fertility of Soils*, 1994, 18(3): 169~ 174
- [75] Thorpe I S, Prosser J I, Glover L A, et al. The role of the earthworm *Lumbricus terrestris* in the transport of bacterial inocula through soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 23(2): 132~ 139
- [76] Wolters V. Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 31(1): 1~ 19
- [77] Fahrenhorst A, Topp E, Bowman B T, et al. Earthworm burrowing and feeding activity and the potential for Bowman transport by preferential flow. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(4): 479~ 488
- [78] Singer A C, Jury W, Luepromchaisa E, et al. Contribution of earthworms to PCB bioremediation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(6): 765~ 776

Earthworms As Bioindicators of Soil Pollution And Their Potential for Remediation of Contaminated Soils

Gao Yan^{1,2} Luo Yongming¹

(1 *Soil and Environment Bioremediation Research Center, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

(2 *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China*)

Abstract The ways in which earthworms perform as bioindicators of soil pollution are reviewed as follows: (1) Earthworm population in contaminated sites reflects the degree of soil pollution as a whole; (2) For ecotoxicological risk assessment, earthworms serve as an important indicator for potential pollutants damaging the soil ecosystem; (3) Earthworms act as an early warning system in monitoring changes in soil pollution. The main mechanisms of earthworms' resistance to metal pollutants are also elaborated: (1) its lipid antioxidative enzyme system helps relieve the stress of oxidation; (2) Compartment and immobilization of metals; (3) Process of chelating and detoxification; (4) Lysosome and cellular plasmid are activated to restrain activity of heavy metals. Meanwhile, the potential of earthworms to enhance soil bioremediation is discussed and it is believed that earthworms do so by improving physical and chemical characteristics, activating microbes, changing bioavailability of pollutants in soil.

Key words Earthworm; Biomarker; Ecotoxicological risk assessment; Monitoring; Bioremediation