

DOI: 10.11766/trxb201507140242

# 重金属镉对三种潮虫的毒性效应及其回避行为研究\*

李梦雯 牛晓倩 李 玥 安建梅<sup>†</sup>

(山西师范大学生命科学院, 山西临汾 041004)

**摘 要** 选择潮虫亚目三种常见种: 普通卷甲虫 *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804), 多霜腊鼠妇 *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) 和中华蒙潮虫 *Mongoloniscus sinensis* (Dollfus, 1901) 为研究对象, 以农田自然土壤为实验土壤, 人工添加重金属镉 (Cd) 进行毒理研究。结果表明: (1) 急性毒性试验采取滤纸接触法和自然土壤法开展 Cd 对三种潮虫的急性毒性试验, 三者的半致死浓度 (LC<sub>50</sub>) 大小关系为: *A. vulgare* < *P. pruinosus* < *M. sinensis*, 说明不同潮虫对 Cd 的忍耐限度和敏感程度不同。(2) 三种潮虫对 Cd 的富集强弱关系为: *M. sinensis* > *P. pruinosus* > *A. vulgare*。说明陆生等足类能存活于一定浓度的污染土壤中, 但不同潮虫对 Cd 的富集能力不同。(3) 三种潮虫对土壤中 Cd 均表现出明显的回避行为反应, 回避能力大小关系为: *A. vulgare* > *P. pruinosus* > *M. sinensis*。与急性毒性试验的测试终点 LC<sub>50</sub> 相比, 潮虫行为测试终点对土壤中重金属镉的反应更为敏感。根据实验结果, 中华蒙潮虫体内 Cd 的富集量随着 Cd 浓度的增加呈上升趋势, 所以其富集能力和耐受性强于普通卷甲虫和多霜腊鼠妇, 在将来有望成为土壤重金属污染生物修复的首选动物类群。

**关键词** 潮虫亚目; 镉; 半致死浓度; 富集; 回避行为

**中图分类号** X174 **文献标识码** A

随着人口快速增长、工业生产规模不断扩大、城镇化的快速发展、农业生产大量施用化肥农药以及污水灌溉等, 许多有害物质进入土壤系统, 土壤污染面积逐年扩大, 土壤重金属污染程度随之加剧<sup>[1]</sup>。重金属不但会引起土壤的组成、结构和功能发生变化, 农产品质量下降, 微生物活动受到抑制, 有害物质或分解产物在土壤中逐渐积累, 而且可能间接被人体吸收, 危害人体健康<sup>[2-3]</sup>。使用物理化学方法修复重金属污染, 不仅费用高, 适用范围受限制, 而且可能再一次破坏土壤结构及其生态系统, 造成“二次污染”<sup>[4]</sup>。

利用土壤动物作为土壤环境的指示生物, 可以提供保护整个土壤动物区系的安全域值<sup>[5]</sup>。李忠武等<sup>[6]</sup>的研究表明, 土壤动物体内的重金属含量一定程度上反映了土壤中的重金属含量, 同时能够直接或间接地反映土壤环境的污染情况; 邓

继福等<sup>[7]</sup>研究揭示了土壤动物对重金属形态的转化和富集作用, 表明土壤动物具有直接富集重金属的能力, 或者可以与微生物和植物等共同作用, 改变重金属的存在形式, 使得重金属发生钝化而失去毒性<sup>[8]</sup>。陆生等足类是生活在地表凋落物层中的无脊椎土壤动物, 作为土壤有机体的重要分解者能最大限度地接触土壤中的重金属, 其生命代谢活动与土壤密切相关, 对重金属具有富集作用<sup>[9]</sup>。众多学者已经研究了等足类动物暴露于不同浓度的铜、镍、锰、镁、锌、铅、镉 (Cu, Ni, Mn, Mg, Zn, Pb, Cd) 食物中的吸收和富集效应<sup>[10-16]</sup>, 且这些研究主要集中在环节动物门的蚯蚓、软体动物门的蛞蝓、节肢动物门等足目的球鼠妇 *Porcellio scaber* 和栉水虱 *Oniscus asellus*。

本研究选择潮虫亚目三种为实验动物: 普通卷甲虫 *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804)

\* 国家自然科学基金面上项目 (31471970)、山西省研究生教学改革项目资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31471970) and the Graduate Students Teaching Reform Project of Shanxi Province

<sup>†</sup> 通讯作者 Corresponding author, E-mail: anjianmei@hotmail.com

作者简介: 李梦雯 (1992—), 女, 山西临汾人, 硕士研究生, 主要从事土壤修复研究。E-mail: 1966116852@qq.com

收稿日期: 2015-07-14; 收到修改稿日期: 2015-11-24

俗称西瓜虫，全球广泛分布，身体可以卷成球形，体浅灰色至暗褐色，一些个体体背具3纵行浅色斑纹，有些个体则不具斑纹；多霜腊鼠妇 *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) 全球广泛分布，体长呈长卵形，身体不能卷缩，体表光滑，无突起，全身颜色几乎为白色，背甲特别薄，胸节侧缘透明，从背面可看到腹面的胸肢；中华蒙潮虫 *Mongoloniscus sinensis* (Dollfus, 1901) 是中国特有种，体色多为瓦灰色，头部中叶呈钝三角形，侧叶较突出，复眼发达<sup>[17]</sup>。潮虫有向湿性、负的向光性。潮虫亚目种类是草食动物，主要以腐烂的植物为食。实验选取当今世界重金属污染中面积最广、危害最大的Cd，对三种山西省分布较为广泛的潮虫进行毒性试验以及回避行为实验，研究结果将为污染土壤毒理诊断指标以及陆生等足类敏感性的筛选提供依据，从而可以利用敏感种作为土壤环境的一种指示生物，利用耐受种对重金属的富集和活化，为治理土壤中重金属Cd污染寻求安

全、经济的技术途径。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

供试动物：普通卷甲虫 *Armadillidium vulgare*，中华蒙潮虫 *Mongoloniscus sinensis* 和多霜腊鼠妇 *Porcellionides pruinosus* 均采自临汾市汾河公园，于恒温恒湿培养箱中培养（温度  $(18 \pm 2)$  °C，相对湿度100%，光照周期为16 h / 8 h（光照/黑暗）），挑选体长10~12 mm的健康潮虫用于毒理试验。

主要试剂与仪器设备：氯化镉 ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ )，分析纯。恒温恒湿培养箱，烧杯，无灰定性滤纸，玻璃槽，可调式电热板，AA-6601F型原子吸收光谱仪（日本）。

供试土壤：采自临汾市郊区农田土壤（0~15 cm），去除杂质后风干备用。供试土壤基本理化性质见表1。

表1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soils

供试土壤 Test soil	pH	有机质 Organic matter (g kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N (g kg <sup>-1</sup> )	全磷 Total P (g kg <sup>-1</sup> )	全钾 Total K (g kg <sup>-1</sup> )	速效氮 Readily available N (mg kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available P (mg kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Readily available K (mg kg <sup>-1</sup> )	全镉 Total Cd (mg kg <sup>-1</sup> )
自然土壤 Natural soil	6.73	25.7	0.56	0.92	0.02	64.6	47.8	90.4	0.32

### 1.2 镉对三种潮虫的急性毒性试验

采取滤纸接触法和自然土壤法开展Cd对三种潮虫的急性毒性试验。试验前在烧杯底部铺一层滤纸，将潮虫放在滤纸上，加少量蒸馏水以刚浸没滤纸为宜。以保鲜膜封口并用解剖针扎孔，将烧杯放入温度为  $(20 \pm 1)$  °C，湿度为75%的恒温恒湿箱中清肠24 h<sup>[18]</sup>。

滤纸接触法：在1L烧杯底部铺滤纸5张，以刚好遮住杯底且不重叠为宜。据预试验结果确定Cd<sup>2+</sup>浓度（以占滤纸表面积的质量计算）梯度为：普通卷甲虫 *A. vulgare*: 112.9、141.2、169.4、197.6、225.8、254.1  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ；中华蒙潮虫 *M. sinensis*: 409.3、437.3、465.8、494、522.3、550.5  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ；多霜腊鼠妇 *P. pruinosus*: 183.5、211.7、239.9、268.2、296.4、324.6  $\mu\text{g cm}^{-2}$ 。

分别取10 ml 各浓度Cd<sup>2+</sup>溶液于滤纸上，对照组加蒸馏水，每个浓度3次重复。将清肠后的潮虫擦拭干净放入烧杯中（每烧杯10只），在24 h和48 h各观察1次，记录死亡数及中毒症状，以潮虫对针刺无反应判断为死亡，48 h后结束试验<sup>[19]</sup>。

自然土壤法：选用1L烧杯，滤纸设置同上，加蒸馏水润湿保湿。称取50 g土（干重）加入烧杯中，根据预试验情况设置7个浓度（以在土壤干重质量计算）梯度：普通卷甲虫 *A. vulgare*: 1 600、2 000、2 400、2 800、3 200、3 600、4 000 mg kg<sup>-1</sup>；中华蒙潮虫 *M. sinensis*: 3 000、4 000、5 000、6 000、7 000、8 000、9 000 mg kg<sup>-1</sup>；多霜腊鼠妇 *P. pruinosus*: 1 800、2 200、2 600、3 000、3 400、3 800、4 200 mg kg<sup>-1</sup>。

分别均匀喷洒20 ml各浓度的Cd<sup>2+</sup>溶液于土壤

上, 对照组加蒸馏水, 每个浓度3次重复。放入潮虫(每烧杯10只)后, 为防止潮虫向外逃逸以及保持空气的通透性, 用纱布封口。分别在试验第7天和14天各观察计数1次, 记录死亡数目及中毒症状, 同样以潮虫对针刺没有反应视为死亡, 14 d后试验结束<sup>[20]</sup>。

### 1.3 三种潮虫对土壤中镉的富集作用试验

选用1L烧杯, 滤纸设置同上。按水土比1:5的比例加入各浓度溶液(Cd浓度设置为16、24、32、48 mg kg<sup>-1</sup>), 充分混匀。每个浓度设置3个重复。将清肠后的潮虫以每一处理组20只放入已处理土壤中。于3、6、9、15、21、27 d分别测定各处理组中土壤和潮虫体内的重金属含量, 27 d后结束试验<sup>[21]</sup>。

土壤Cd含量采用GB/T17140-1997KI-MIBK(全国土壤污染状况调查样品分析测试技术规定)萃取火焰原子吸收分光光度法测定。潮虫中的Cd含量采用GB/T 5009.15-2003法测定。按原子吸收光谱仪条件测定其吸光度及浓度, 以峰高定量。

### 1.4 三种潮虫对土壤中镉的回避行为试验

将一块塑料挡板插入玻璃槽内, 分成体积相等的A、B两部分。将100 g干重的对照土壤(不添加重金属Cd)和Cd污染(浓度设置16、24、32、48 mg kg<sup>-1</sup>)土壤分别加入到A和B两个分室中, 其中A为对照组, B为处理组。抽出塑料挡板并将10只潮虫放入原挡板处, 于光照周期16 L/8 D, 室温下培养, 48 h后检查试验结果<sup>[22]</sup>。检查结果时先将挡板沿中间线位置插入, 以阻断潮虫在A对照土壤和B污染土壤之间的自由迁移, 然后将土壤取出, 分别计数对照组A和污染土壤B中的潮虫数目, 若潮虫被插入的塑料挡板切为两半, 则不管该潮虫残体的长度如何, 均被分别记为0.5只。每只潮虫只用于1次实验, 每个组合试验重复5次。

### 1.5 数据分析与处理

半致死浓度(LC<sub>50</sub>)的计算: 概率单位法<sup>[23]</sup>计算半数致死浓度LC<sub>50</sub>。

富集系数的计算: 富集系数(BCF)=潮虫体内重金属Cd的含量/对应土壤中重金属Cd的含量<sup>[24]</sup>。

土壤动物回避率计算公式:  $NR = [(C - T) / N] \times 100\%$

式中, NR为净回避率; C为洁净土壤中潮虫的数目; T为污染土壤中潮虫的数目; N为加入土壤中的潮虫总数。以回避率NR=0为界限, 当NR为正

数, 计算回避率。当回避率大于80%, 则表明具有回避反应; 当NR为负数, 表明无反应。

使用SPSS17.0和Excel 2003进行数据处理, 应用SigmaPlot 10.0软件对图形进行处理。

## 2 结 果

### 2.1 滤纸接触法镉对三种潮虫的急性毒性效应

滤纸接触法毒性试验的结果见图1。可以看出, Cd对潮虫的急性毒性作用与染毒时间和染毒浓度相关。

普通卷甲虫染毒24 h后, 112.9 μg cm<sup>-2</sup>处理组的*A. vulgare*有少量黄色体液渗出, 暴露48 h后, 112.9 μg cm<sup>-2</sup>组中毒性症状加重, 死亡率显著增大(图1a)。141.2、169.4、197.6 μg cm<sup>-2</sup>处理组的*A. vulgare*渗出较多的黄色体液; 而225.8、254.1 μg cm<sup>-2</sup>处理组则出现明显的中毒症状, 渗出大量的黄色液体, 自行断裂。

中华蒙潮虫形态学变化显示染毒24 h后, 409.3、437.3、465.8 μg cm<sup>-2</sup>处理组的*M. sinensis*有黄色体液渗出; 而494、522.3、550.5 μg cm<sup>-2</sup>组则出现明显的中毒症状, 体液渗出较多, 自行断裂。暴露48 h后, 409.3 μg cm<sup>-2</sup>组中毒性症状加重, *M. sinensis*死亡率显著增大(图1b)。

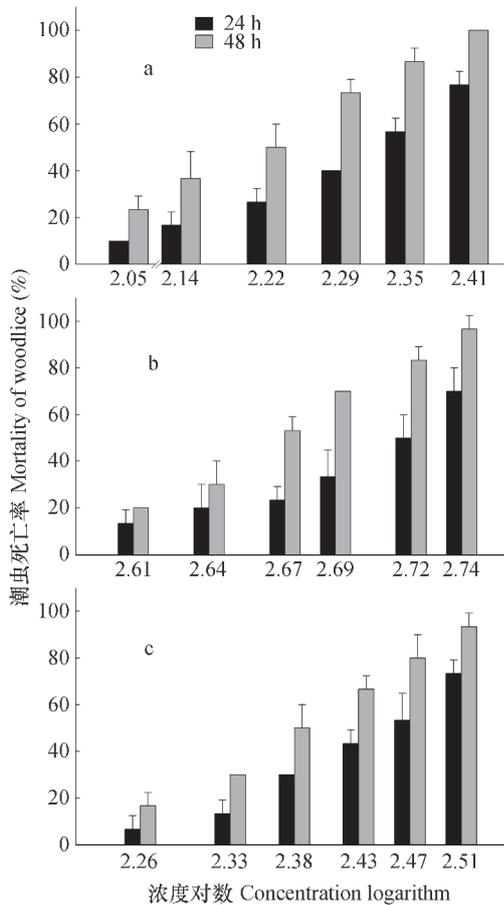
多霜腊鼠妇形态学变化显示, 183.5 μg cm<sup>-2</sup>染毒组未出现任何病症, 而高浓度324.6 μg cm<sup>-2</sup>组中*P. pruinosis*与Cd接触后就开始有逃窜异常活跃等反应, 染毒24 h后, 211.7、239.9 μg cm<sup>-2</sup>组有少量黄色体液渗出; 而268.2、296.4、324.6 μg cm<sup>-2</sup>组则出现明显的中毒症状, 体液渗出较多, 自行断裂。暴露48 h后, 183.5 μg cm<sup>-2</sup>染毒组*P. pruinosis*中毒性症状加重, 死亡率显著增大(图1c)。

应用SPSS软件中的Probit模块, 求得Cd对三种潮虫的急性毒性半致死浓度LC<sub>50</sub>值及置信区间(表2)。实验数据统计分析表明, 随着暴露时间和暴露浓度的增加, 潮虫死亡率显著上升, 暴露时间、暴露浓度与潮虫死亡率显著相关( $p < 0.05$ )。滤纸接触法通过皮肤染毒, 所以三种潮虫均表现症状出现很快, 但死亡很慢。

### 2.2 自然土壤法镉对三种潮虫的急性毒性效应

自然土壤法毒性试验的结果见图2。

图2a表明, 染毒7 d后1 600 mg kg<sup>-1</sup>处理组的*A. vulgare*开始出现死亡现象, 至最大浓度4 000



a, 普通卷甲虫 *A. vulgare*; b, 中华蒙潮虫 *M. sinensis*;  
c, 多霜腊鼠妇 *P. pruinus*

图1 滤纸接触法Cd对潮虫的急性毒性效应

Fig. 1 Acute toxicity effect of Cd on woodlice using the filter paper contact method

表2 滤纸接触法Cd对潮虫的毒性方程 (48 h)

Table 2 Equation for calculating Cd toxicity on woodlice in the filter paper contact test (48 h)

种类 Specie	回归方程 Regression equation	LC <sub>50</sub> (μg cm <sup>-2</sup> )	95%置信限度 95% Confidence interval
<i>A. vulgare</i>	$y=9.05x-19.9$ ( $R^2=0.960$ )	158	142 ~ 175
<i>M. sinensis</i>	$y=9.05x-23.9$ ( $R^2=0.972$ )	448	407 ~ 488
<i>P. pruinus</i>	$y=9.05x-21.5$ ( $R^2=0.984$ )	238	215 ~ 260

表3 自然土壤法Cd对潮虫的毒性方程 (14 d)

Table 3 Equation for calculating Cd toxicity on woodlice in the natural soil test (14 d)

种类 Specie	回归方程 Regression equation	LC <sub>50</sub> (μg cm <sup>-2</sup> )	95%置信限度 95% Confidence interval
<i>A. vulgare</i>	$y=5.8x-19.7$ ( $R^2=0.962$ )	2 489	2 165 ~ 2 837
<i>M. sinensis</i>	$y=5.8x-21.5$ ( $R^2=0.968$ )	5 048	4 362 ~ 5 776
<i>P. pruinus</i>	$y=5.8x-19.8$ ( $R^2=0.991$ )	2 617	2 270 ~ 2 982

mg kg<sup>-1</sup>时, 死亡率达73.33%; 14 d后相同浓度处理组的死亡率均较7 d时有所增加, 其中最高浓度4 000 mg kg<sup>-1</sup>染毒组中7 d、14 d的死亡率分别达73.33%和93.33%。最低浓度1 600 mg kg<sup>-1</sup>染毒组7 d、14 d的死亡率分别为10%和16.67%, 随着Cd浓度的增加, *A. vulgare*死亡率显著增大。

由图2b可见染毒7 d后, 3 000 mg kg<sup>-1</sup>处理组的 *M. sinensis*出现死亡现象, 至最大染毒浓度9 000 mg kg<sup>-1</sup>时, 死亡率达76.67%; 14 d后相同浓度处理组死亡率均较7 d时高, 其中最低浓度3 000 mg kg<sup>-1</sup>染毒组中7 d、14 d的死亡率分别为13.33%和20%, 此后, 随着Cd浓度的增加, *M. sinensis*的死亡率显著增大, 最高浓度9 000 mg kg<sup>-1</sup>染毒组7 d、14 d死亡率分别达76.67%和100%。

图2c可见染毒7 d后, 1 800 mg kg<sup>-1</sup>处理组的 *P. pruinus*开始出现死亡现象, 至最大4 200 mg kg<sup>-1</sup>时, 死亡率达80%; 14 d后相同浓度处理组死亡率较7 d稍有增大, 其中最低染毒浓度1 800 mg kg<sup>-1</sup>处理组7 d、14 d死亡率分别为6.67%和13.33%, 此后, 随着Cd浓度的增加, *P. pruinus*死亡率显著增大, 最高染毒浓度组4 200 mg kg<sup>-1</sup>中7 d、14 d死亡率分别达80%和100%。

Cd对三种潮虫的急性毒性的半数致死浓度LC<sub>50</sub>值及置信区间见表3。统计分析实验数据表明, 土壤Cd浓度与三种潮虫的死亡率呈显著相关。Cd作用下的自然土壤对三种潮虫所表现出的症状较滤纸

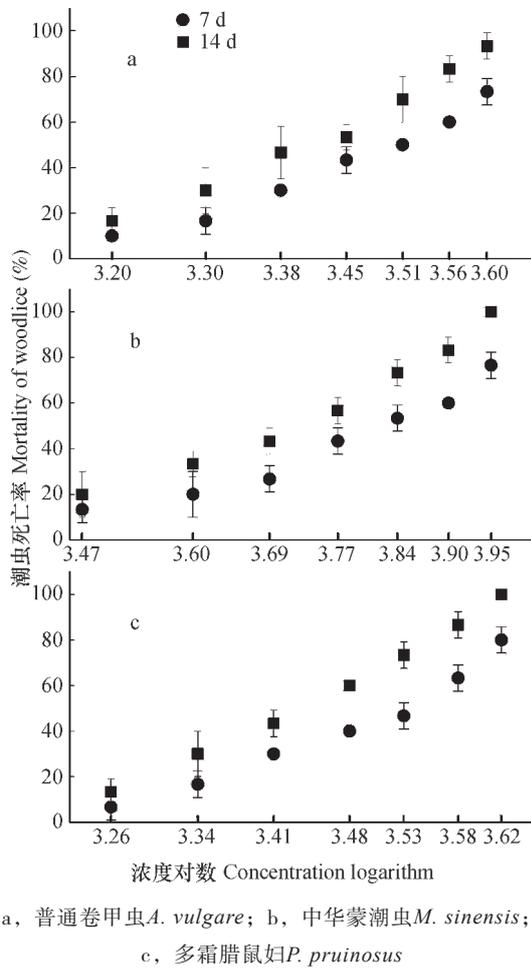


图2 自然土壤法Cd对潮虫的急性毒性效应  
Fig. 2 Acute toxicity effect of Cd on woodlice using the natural soil method

接触法稍有不同, 表现为身体萎缩, 蜷曲; 有蜕皮现象。未死者出现部分症状, 蠕动能明显减弱。自然土壤法通过消化道染毒, 中毒症状出现快, 死亡也快。

### 2.3 三种潮虫对土壤中镉的富集作用

图3为三种潮虫的富集实验结果。

图3a主要表明在实验初始时, 对照组和处理组中的 *A. vulgare* 就开始对Cd富集。处理组到第15天, 富集量达到  $0.9 \text{ mg kg}^{-1}$ 。15 d后, *A. vulgare* 对Cd的富集量显著下降, 有严重的波折, 说明对其产生了抵制作用。第21、27天 *A. vulgare* 对Cd的毒性产生了适应, 富集量开始回升。总体趋势为: 先增加, 后减少, 再增加。

图3b主要表明在对照组中, 实验初始时, *M. sinensis* 对Cd几乎不富集。而处理组对Cd的耐受性较强, 逐渐地对其进行富集。9 d以后开始显著

升高。随着时间的增加, 体内Cd的富集量增多。总体表现为 *M. sinensis* 体内Cd的富集系数与富集时间正相关, 各个处理组 *M. sinensis* 对Cd的富集系数随着时间的延长而不断增加。

图3c主要表明在对照组中, 仅吸收土壤中原有的Cd。四个处理组在实验开始后, *P. pruinusos* 开始逐渐富集, 至第15天达到最大值  $5.5 \text{ mg kg}^{-1}$ 。 *P. pruinusos* 体内Cd的富集系数和土壤中重金属Cd的含量负相关。总体表现出先增加后减少的趋势。

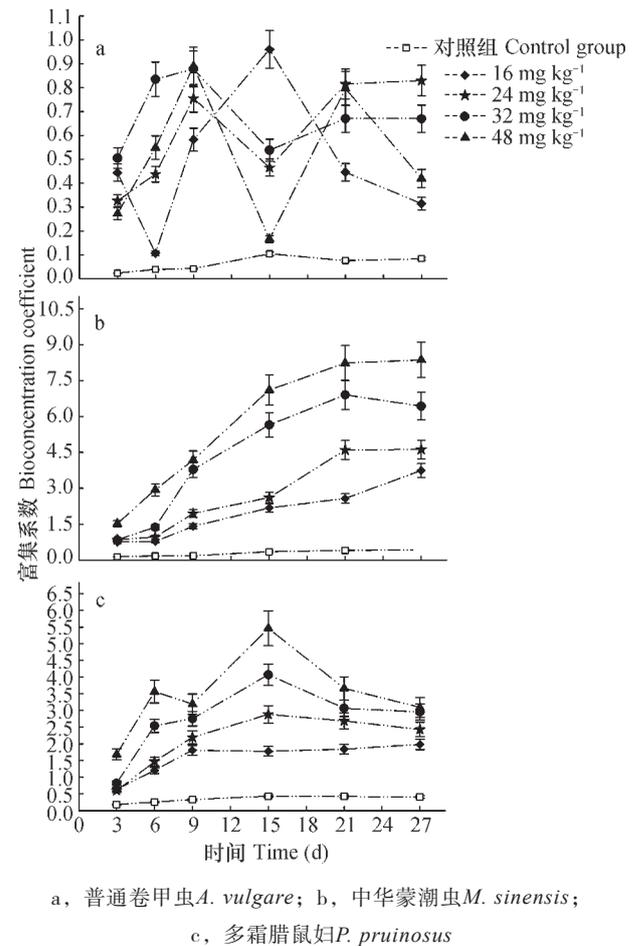
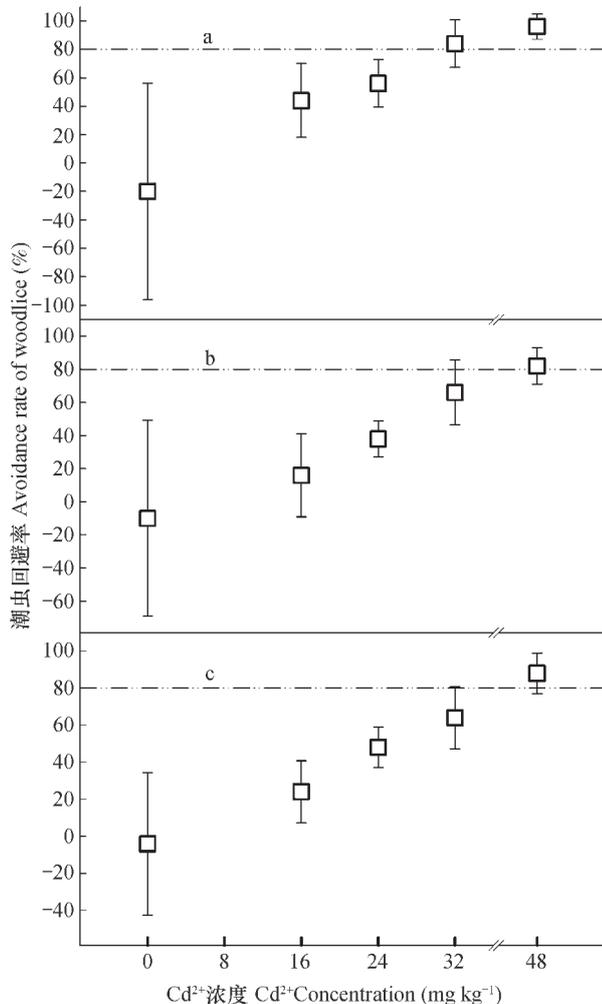


图3 三种潮虫的富集系数随时间的变化  
Fig. 3 Time-dependent bioconcentration coefficients of the three species of woodlice

### 2.4 三种潮虫对土壤中镉的回避行为

图4为三种潮虫在Cd污染自然土壤中的回避行为试验结果。试验48 h内, 未观察到三种潮虫的死亡和逃逸现象。由图4a可见, Cd<sup>2+</sup>作用48 h后, 除对照组回避率为负数外, 所有处理组浓度的潮虫回避率均为正数, 且随Cd<sup>2+</sup>浓度增加潮虫回避率逐渐增大, *A. vulgare* 于  $32 \text{ mg kg}^{-1}$  处理组时,

回避率为84%。由图4b和图4c可见, *M. sinensis*和*P. pruinus*于最大浓度48 mg kg<sup>-1</sup>处理组时, 回避率大于80%, 分别为82%和88%。表明在此浓度下潮虫表现出明显的回避反应。三种潮虫对土壤中Cd均在最大浓度处理组中表现出明显的回避行为, 但是在同浓度下的回避率却不同。回避能力大小关系为: *A. vulgare* > *P. pruinus* > *M. sinensis*。



a, 普通卷甲虫*A. vulgare*; b, 中华蒙潮虫*M. sinensis*;  
c, 多霜腊鼠妇*P. pruinus*

图4 Cd<sup>2+</sup>作用下潮虫的回避行为

Fig. 4 Avoidance behavior of woodlice in response to Cd<sup>2+</sup>

### 3 讨论

潮虫的急性毒性试验研究表明, Cd对三种潮虫的急性毒性作用与染毒时间和染毒浓度相关, 并且重金属浓度的大小与陆生等足类的死亡率呈显著正相关。陆生等足类的LC<sub>50</sub>大小关系为: *A. vulgare* < *P. pruinus* < *M. sinensis*, 表明不同陆生等足类

对Cd的敏感程度有所差异<sup>[25]</sup>。在自然土壤中中华蒙潮虫所加Cd含量为9 000 mg kg<sup>-1</sup>时潮虫依然能够生存, 一种可能是土壤对Cd有较高的吸附固定能力, 降低了Cd对潮虫的有效毒害成分, 从而提高潮虫的致死浓度, 另一种可能是, 潮虫在体内肝胰腺的解毒作用下自身对Cd产生了抵抗能力。潮虫忍耐Cd的生理调节过程有待于进一步深入研究。实验中滤纸接触法是将潮虫直接暴露在一定浓度的溶液下, 很难真实反映重金属对土壤环境的影响, 只能用于初步评估重金属的固有毒性和重金属对潮虫的潜在毒性。在实际环境中, 重金属对潮虫产生的毒性不仅取决于重金属及其化合物的固有毒性, 还与重金属在真实环境中的行为及在潮虫体内的代谢动力学密切相关<sup>[26]</sup>。因此, 自然土壤法能够尽可能接近自然状况下重金属对陆生等足类的实际影响, 故以自然土壤法测得的LC<sub>50</sub>作为划分重金属毒性等级的依据较滤纸接触法更客观准确。中华蒙潮虫为我国特有种, 对土壤重金属镉的耐受力非常强, 有望开发为我国土壤重金属污染的指示动物类群。

富集实验经统计分析数据发现, 潮虫对土壤中重金属Cd的富集量随不同培养时间和重金属浓度的增加而变化。但三种潮虫对Cd的富集作用具有差异性, 富集能力强弱关系为: *M. sinensis* > *P. pruinus* > *A. vulgare*。说明陆生等足类对Cd有一定的忍耐限度和富集能力, 采用富集能力强的陆生等足类修复受Cd污染的土壤是具有应用价值的。在Cd污染自然土壤3 d时, 三种潮虫在各浓度条件下的富集变化较小, 当富集21 d后, 富集系数均有显著下降。不同时期潮虫体内富集量具有差异性可能是由于土壤对Cd的吸附固定能力, 但是当土壤中加入Cd达到32 mg kg<sup>-1</sup>以上时, 潮虫对其富集增多。在这个浓度范围内, 陆生等足类能够很好地吸收富集重金属, 主要是由于陆生等足类体内的肝胰腺具有积蓄某些重金属元素的作用<sup>[27]</sup>。当潮虫体内吸收的重金属积累到一定程度就会通过粪便和身体分泌物排出。但如果土壤中的重金属含量超过耐受范围, 就会对陆生等足类造成毒害<sup>[28]</sup>。影响体内富集重金属的主要原因可能是体内酶的作用, 重金属含量高时往往会使酶因沉淀、络合等反应而失去活性<sup>[29]</sup>。所以要选择富集能力强的耐受种(如中华蒙潮虫)作为生态环境污染的指示生物, 同时还需结合其他重金属, 研究不同重金属之间的相互作用对陆生等足类的毒理效应, 为土壤重金属

污染的生态毒理诊断提供依据。

从三种潮虫回避行为试验结果可知，Cd浓度与潮虫回避百分率之间呈现出典型的剂量—反应关系，回避能力表现为：*A. vulgare* > *P. pruinosus* > *M. sinensis*。表明潮虫可以明显感知这些土壤中Cd浓度值，并作出回避行为反应。自然土壤法三种潮虫对镉急性毒性试验14 d半致死浓度（ $LC_{50}$ ）大致相当于引起潮虫回避反应有效浓度的数十倍，甚至上百倍，表明与急性毒性试验的测试终点 $LC_{50}$ 相比，陆生等足类行为测试终点对土壤中镉的反应更为敏感<sup>[30]</sup>。

## 4 结 论

重金属Cd浓度与三种潮虫的急性死亡率呈显著正相关。富集实验中三种潮虫对Cd的富集量与Cd浓度的关系表现不一致，仅中华蒙潮虫体内Cd的富集量随着Cd浓度的增加呈上升趋势，所以其富集能力和耐受性强于普通卷甲虫和多霜腊鼠妇，在将来可以为土壤重金属污染生物修复的首选动物类群。三种潮虫对土壤中镉浓度增加的回避率均呈显著正相关，与急性毒性试验的测试终点 $LC_{50}$ 相比，潮虫行为测试终点对重金属Cd的反应更为敏感。研究表明陆生等足类同样具有环境指示作用，对其进行毒理研究有助于更加了解重金属对土壤生态环境的危害，进而为土壤重金属污染的生态毒理诊断提供依据。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 赵艳红. 土壤重金属污染的生物修复技术研究进展. 吉林农业, 2012 ( 3 ) : 225—226  
Zhao Y H. Soil heavy metal pollution of bioremediation technology development ( In Chinese ) . Jilin Agriculture, 2012 ( 3 ) : 225—226
- [ 2 ] 崔斌, 王凌, 张国印, 等. 土壤重金属污染现状与危害及修复技术研究进展. 安徽农业科学, 2012, 40 ( 1 ) : 373—375, 447  
Cui B, Wang L, Zhang G Y, et al. Status and harm of heavy metal pollution in soil and research progress in remediation technology ( In Chinese ) . Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40 ( 1 ) : 373—375, 447
- [ 3 ] 刘德新, 马建华, 孙艳丽, 等. 开封市城市土壤磁化率空间分布及对重金属污染的指示意义. 土壤学报, 2014, 51 ( 6 ) : 1242—1250  
Liu D X, Ma J H, Sun Y L, et al. Spatial distribution of urban soil magnetic susceptibility and its implication as indicator of heavy metal pollution in Kaifeng City, China ( In Chinese ) . Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 ( 6 ) : 1242—1250
- [ 4 ] 赵述华, 陈志良, 张太平, 等. 重金属污染土壤的固化/稳定化处理技术研究进展. 土壤通报, 2013, 44 ( 6 ) : 1531—1536  
Zhao S H, Chen Z L, Zhang T P, et al. Advances in solidification/stabilization technology treatment of heavy metals in contaminated soils ( In Chinese ) . Chinese Journal of Soil Science, 2013, 44 ( 6 ) : 1531—1536
- [ 5 ] 向昌国, 杨世俊, 聂琴. 土壤动物对土壤环境的生物指示作用. 中国农学通报, 2007, 23 ( 4 ) : 364—367  
Xiang C G, Yang S J, Nie Q. The biological indication of soil animals to soil environment ( In Chinese ) . Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23 ( 4 ) : 364—367
- [ 6 ] 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
- [ 7 ] 邓继福, 王振中, 张友梅, 等. 重金属污染对土壤动物群落生态影响的研究. 环境科学, 1996, 17 ( 2 ) : 1—5, 92  
Deng J F, Wang Z Z, Zhang Y M, et al. A Research on the ecological effect of the soil animals community by the heavy metal pollution ( In Chinese ) . Environmental Science, 1996, 17 ( 2 ) : 1—5, 92
- [ 8 ] Haimi J. Decomposer animals and bioremediation of soils. Environmental Pollution, 2000, 107: 233—238
- [ 9 ] 王航洁, 俞伟东. 陆生无脊椎动物监测土壤重金属污染. 北方环境, 2011, 23 ( 5 ) : 119—120  
Wang H J, Yu W D. The research progress of terrestrial invertebrates monitoring soil heavy metal pollution ( In Chinese ) . Northern Environment, 2011, 23 ( 5 ) : 119—120
- [ 10 ] Greville R W, Morgan A J. A comparison of ( Pb, Cd and Zn ) accumulation in terrestrial slugs maintained in microcosms: Evidence for metal tolerance. Environmental Pollution, 1991, 74 ( 2 ) : 115—127
- [ 11 ] Morgan J E, Morgan A J. The accumulation of metals ( Cd, Cu, Pb, Zn and Ca ) by two ecologically contrasting earthworm species ( *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* ) : Implications for ecotoxicological testing. Applied Soil Ecology, 1999, 13

- (1) : 9—20
- [ 12 ] Jones D T, Hopkin S P. Reduced survival and body size in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from a metal-polluted environment. *Environmental Pollution*, 1998, 99 ( 2 ) : 215—223
- [ 13 ] Hopkin S P, Hardisty G N, Martin M H. The woodlouse *Porcellio scaber* as a ‘biological indicator’ of zinc, cadmium, lead and copper pollution. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical*, 1986, 11 ( 4 ) : 271—290
- [ 14 ] Odendaal J P, Reinecke A J. Short-term toxicological effects of cadmium on the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, 43 ( 1 ) : 30—34
- [ 15 ] Zidar P, Drobne D, Strus J S, et al. Intake and assimilation of zinc, copper, and cadmium in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 70 ( 5 ) : 1028—1035
- [ 16 ] Drobne D, Hopkin S P. The toxicity of zinc to terrestrial isopods in a “standard” laboratory test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1995, 31 ( 1 ) : 1—6
- [ 17 ] 石慧娟. 山西省陆生等足类分类学及地理分布研究. 山西临汾: 山西师范大学, 2012
- Shi H J. Taxonomy and distribution of Oniscidea (Crustacea: Isopoda) from Shanxi Province (In Chinese). Linfen, Shanxi: Shanxi Normal University, 2012
- [ 18 ] 龚鹏博, 李健雄, 郭明昉, 等. 蚯蚓生态毒理试验现状与发展趋势. *生态学杂志*, 2007, 26 ( 8 ) : 1297—1302
- Gong P B, Li J X, Guo M F, et al. Present status and development trend of earthworm eco-toxicological test (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26 ( 8 ) : 1297—1302
- [ 19 ] 徐冬梅, 文岳中, 李立, 等. PFOS对蚯蚓急性毒性和回避行为的影响. *应用生态学报*, 2011, 22 ( 1 ) : 215—220
- Xu D M, Wen Y Z, Li L, et al. Effects of perfluorooctane sulfonate on acute lethality and avoidance behavior of earthworm (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 22 ( 1 ) : 215—220
- [ 20 ] Drobne D, Hopkin S P. Ecotoxicological laboratory test for assessing the effects of chemicals on terrestrial Isopods. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1994, 53 ( 3 ) : 390—397
- [ 21 ] Odendaal J P, Reinecke A J. The sublethal effects and accumulation of cadmium in the terrestrial isopod *Porcellio laevis* Latr. (Crustacea, Isopoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999, 36 ( 1 ) : 64—69
- [ 22 ] Loureiro S, Soares A M V M, Nogueira A J A. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*, 2005, 138 ( 1 ) : 121—131
- [ 23 ] 李翠萍, 吴民耀, 王宏元. 3种半数致死浓度计算方法之比较. *动物医学进展*, 2012, 33 ( 9 ) : 89—92
- Li C P, Wu M Y, Wang H Y. LC<sub>50</sub> caculated by Kochi, Probit Analysis and Linear Regression Methods (In Chinese). *Progress in Veterinary Medicine*, 2012, 33 ( 9 ) : 89—92
- [ 24 ] Mann R M, Matos P, Loureiro S, et al. Foundation studies for cadmium accumulation studies in terrestrial isopods— diet selection and diet contamination. *European Journal of Soil Biology*, 2005, 41 ( 3/4 ) : 153—161
- [ 25 ] Silva P V, Silva A R R, Mendó S, et al. Toxicity of tributyltin (TBT) to terrestrial organisms and its species sensitivity distribution. *Science of the Total Environment*, 2014, 466/467: 1037—1046
- [ 26 ] 胡霞. 毒斯乐对蚯蚓的急性毒性试验. *贵州农业科学*, 2008, 36 ( 6 ) : 94—95
- Hu X. Acute toxicity of Chlorpyrifos to earthworms (In Chinese). *Guizhou Agricultural Sciences*, 2008, 36 ( 6 ) : 94—95
- [ 27 ] Odendaal J P, Reinecke A J. Quantitative assessment of effects of zinc on the histological structure of the hepatopancreas of terrestrial isopods. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 53 ( 3 ) : 359—364
- [ 28 ] Loureiro S, Sampaio A, Brandão A, et al. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment*, 2006, 369 ( 1/3 ) : 119—128
- [ 29 ] Ferreira N G C, Santos M J G, Domingues I, et al. Basal levels of enzymatic biomarkers and energy reserves in *Porcellionides pruinosus*. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42 ( 12 ) : 2128—2136
- [ 30 ] Loureiro S, Amorim M J B, Campos B, et al. Assessing joint toxicity of chemicals in *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) and *Porcellionides pruinosus* (Isopoda) using avoidance behaviour as an endpoint. *Environmental Pollution*, 2009, 157 ( 2 ) : 625—636

## Toxicological Effects of Cd Pollution on Three Species of Woodlice (Crustacea: Isopoda) and Their Avoidance Behaviors

LI Mengwen NIU Xiaoqian LI Yue AN Jianmei<sup>†</sup>

(College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China)

**Abstract** Three commonly observed species of Oniscidea, i.e. *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804), *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) and *Mongoloniscus sinensis* (Dollfus, 1901) in a natural farmland soil, which was amended artificially with Cd for the purpose of exploring toxicological effects of the heavy metal on these woodlice. The exploration covered three aspects, that is, acute toxicity of Cd to woodlice, Cd enrichment in woodlice and avoidance behaviors of the woodlice. The test of acute toxicity of Cd on three woodlice was done using the filter paper contact method and natural soil method. It was found with the former, the 48 h half lethal concentration ( $LC_{50}$ ) of Cd to *A. vulgare*, *M. Sinensis*, and *P. Pruinosus* was 158, 448 and 238  $\mu\text{g cm}^{-2}$ , respectively, while with the latter. The 14 h  $LC_{50}$  of Cd to these woodlice was 2 489, 5 048 and 2 616  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectively. So in terms of  $LC_{50}$ , the three species displayed an order of *A. vulgare* < *P. pruinosus* < *M. sinensis*, which indicates that the woodlice vary with species in tolerance and sensitivity to Cd. It was also found that acute toxicity of Cd to the woodlice was closely related to duration of the exposure and concentration of Cd and mortality of the woodlice was positively related to concentration of the heavy metal in the soil, that is, morality of woodlice rises with concentration of Cd. Cd is apparently the decisive factor of the toxicological effect in the test and concentration of Cd significantly affects mortality of woodlice ( $p < 0.01$ ). The findings suggest that morality of woodlice may be used as an effective and sensitive bioindicator to determine Cd pollution in the soil environment. In terms of Cd enrichment in the woodlice, the three species displayed an order of *M. sinensis* > *P. pruinosus* > *A. vulgare*, indicating terrestrial isopods can survive in soils polluted with Cd to certain degree and they vary with species in Cd enrichment capacity. In the case of 15 d–16  $\text{mg kg}^{-1}$ , *A. vulgar* was the highest in enrichment coefficient, being up to 0.96, in the case of 7 d–48  $\text{mg kg}^{-1}$ , *M. sinensis* was, reaching 8.37 and in the case of 15 d–48  $\text{mg kg}^{-1}$ , *P. pruinosus* was, reaching 5.47. Obviously, both *M. sinensis* and *P. pruinosus* are capable of enriching Cd, while *A. vulgare* is not, but just absorbs. Statistical analysis of the enrichment test shows that Cd enrichment in the woodlice is closely related to duration of the exposure or incubation and concentration of the heavy metal. The concentration of Cd effective to cause 80% of *A. vulgare* to avoid Cd was 32.8  $\text{mg kg}^{-1}$ , with 95% confidence interval being 25.4 ~ 42.9  $\text{mg kg}^{-1}$ ; the concentration of Cd effective to cause 80% of *M. sinensis* to avoid Cd was 43.6  $\text{mg kg}^{-1}$ , with 95% confidence interval being 35.9 ~ 56.4  $\text{mg kg}^{-1}$ ; and the concentration of Cd effective to cause 80% of *P. pruinosus* to avoid Cd was 40.5  $\text{mg kg}^{-1}$ , with 95% confidence interval being 33.2 ~ 52.6  $\text{mg kg}^{-1}$ . Therefore all the three woodlice displayed obvious avoidance behavior in reaction to Cd pollution in the soil. So, in terms of avoiding ability, the three species displayed an order of *A. vulgare* > *P. pruinosus* > *M. sinensis*. Compared with the endpoint  $LC_{50}$  of the acute toxicity test, the endpoint of the avoidance behavior test was more sensitive to heavy metal Cd in the soil. All the findings in the study show that *M. sinensis* tends to enrich more Cd when Cd concentration rises in soil and hence is much

higher than *A. vulgare* and *P. pruinosus* in tolerance and enrichment capacity. It is expected that in future studies, *M. sinensis* may become the animal group of first choice for use as bioindicator of Cd pollution in soil.

**Key words** Oniscidea; Cadmium (Cd); Half lethal concentration ( $LC_{50}$ ); Bioconcentration; Avoidance behavior

(责任编辑: 卢 萍)