

氯丹和灭蚁灵污染场地土壤对蚯蚓的毒性效应研究

郑丽萍^{1,2,3}, 冯艳红^{2,3}, 赵欣^{2,3}, 徐建^{2,3}, 林玉锁^{2,3}

(1.南京农业大学资源与环境科学学院,南京 210095;2.环境保护部南京环境科学研究所,南京 210042;3.国家环境保护土壤环境管理与污染控制重点实验室,南京 210042)

摘要:以赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)为供试生物,氯丹和灭蚁灵污染场地土壤为供试土壤,以蚯蚓体重及体内蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性为指标,进行了不同暴露时间(1、3、7、14 d)下场地土壤中氯丹和灭蚁灵污染胁迫对蚯蚓的毒性效应研究。结果表明,随着暴露时间的延长,蚯蚓体重在氯丹和灭蚁灵作用下受到显著抑制,蚯蚓体内蛋白质、SOD和CAT活性对氯丹和灭蚁灵响应不同,其敏感性大小为CAT>SOD>蛋白质。在一定暴露时间内,根据暴露-剂量效应关系,表明氯丹浓度为14.13 mg·kg⁻¹、灭蚁灵浓度为4.14 mg·kg⁻¹可能是使蚯蚓CAT活性达到最大值的临界浓度,同时也是SOD活性受到抑制的临界浓度,超过该临界浓度可能对蚯蚓产生生态毒性效应,这为场地风险评价和修复提供了基础数据。

关键词:氯丹;灭蚁灵;蚯蚓;体重;抗氧化酶;临界浓度

中图分类号:X503.223 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2010)10-1924-06

Toxicity Effects of Chlordane and Mirex Contaminated Soil on Earthworm(*Eisenia foetida*)

ZHENG Li-ping^{1,2,3}, FENG Yan-hong^{2,3}, ZHAO Xin^{2,3}, XU Jian^{2,3}, LIN Yu-suo^{2,3}

(1.College of Resource and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.Nanjing Institute of Environmental Science, Ministry of Environmental Protection of China, Nanjing 210042, China; 3.State Environmental Protection Key Laboratory of Soil Environmental Management and Pollution Control, Nanjing 210042, China)

Abstract: An ecotoxicity experiment had been performed by using earthworm(*Eisenia foetida*) as the test organism. Effects of a chlordane and mirex contaminated soil on body weight, activities of superoxide dismutase(SOD), Catalase(CAT) and protein of earthworm(*Eisenia foetida*) were investigated. Results showed that body weight of the earthworm had been significantly inhibited by chlordane and mirex with increase in exposure time. Levels of protein in vivo, SOD and CAT activity in response to chlordane and mirex showed different sensitivities as the following order :CAT>SOD>protein. According to a dose-response relationship in this study, chlordane at 14.13 mg·kg⁻¹ soil and mirex at 4.14 mg·kg⁻¹ soil might be critical concentrations which led to the highest activity of earthworm CAT as well as obvious inhibition of SOD activity. Ecotoxicity effects on the earthworm might occur when the critical concentrations of chlordane and mirex in the soil were exceeded. The results of this study would provide helpful data and information for risk assessment and remediation of the contaminated site soil.

Keywords: chlordane; mirex; earthworm; weight; antioxidant enzymes; critical concentration

氯丹和灭蚁灵属于持久性有机污染物(POPs), 在环境中难降解,对人体健康威胁大。尽管我国已关

闭氯丹(Chlordane)和灭蚁灵(Mirex)生产企业,但是该类生产企业污染场地的修复和风险管理问题倍受关注。由于POPs杀虫剂类污染场地多数为复合污染,场地情况较为复杂,通常采用化学分析方法能定量分析污染场地土壤中污染物的浓度。在化学检测的基础上,结合生态毒性诊断,能全面和准确判别污染土壤的污染程度和危害^[1]。因此,该方法可被应用于污染场地土壤的生物诊断。

蚯蚓的毒理学研究中体重变化及酶活性作为生物标志物可以较早地指示污染物对蚯蚓个体水平的

收稿日期 2010-05-06

基金项目 国家高技术研究发展计划(863计划)“有机氯农药类污染场地土壤修复技术设备研发与示范”(2009AA063103) 2008年公益性环保专项“场地污染快速诊断试验方法研究”(200809100)

作者简介 郑丽萍(1985—),女,山东莱芜人,硕士研究生,主要从事场地污染快速生物学诊断试验方法研究。

E-mail zlp09070@126.com

通讯作者 林玉锁 E-mail lyses@nies.org

影响,并作为早期预警系统对土壤污染进行监测。已有研究表明,蚯蚓受到污染物胁迫后,其体重变化是非常敏感的指标^[2-4]。近年来,生物酶活性的变化作为污染物暴露和毒性效应的早期预警指标受到广泛的关注。大量研究表明,生物体的抗氧化酶对污染物胁迫相当敏感,其活性变化可为污染物胁迫下的机体氧化应激提供敏感信息,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)属抗氧化防御系统酶。Brown 等^[5]的研究发现,可抑制蚯蚓体内 CAT 活性,Luo 等^[6]的研究表明杀虫剂可影响蚯蚓体内 SOD 的变化。

国内外有关毒物对蚯蚓生态毒理效应的研究,主要侧重于人工添加外源污染物到土壤中的毒性研究上,但针对污染场地土壤对蚯蚓的毒性效应研究还未见报道。为此,本文采用国际蚯蚓实验标准蚓种——赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*),研究氯丹和灭蚁灵作用下场地土壤中蚯蚓体重变化率及其体内 SOD、CAT 和蛋白质的活性变化,同时比较了这几种指标对场地土复合污染的敏感性,以期为全面评价氯丹和灭蚁灵的生态毒性提供基础数据,并为污染土壤的监测和生态毒理诊断提供方法,同时为场地风险评价和修复提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤的采集

供试土壤采自江苏省某氯丹和灭蚁灵生产企业厂区内 20~40 cm 深度的污染土壤。该企业氯丹和灭蚁灵的生产工艺类似,生产装置相同,因此场地土壤中同时存在两种物质^[2]。采集的土壤样品分为两部分:一部分为新鲜土样,置于冷冻箱中保存,供试验用;另一部分土壤采集后在阴凉处风干,磨细,过 10 目筛,供土壤理化性质分析和污染物测试用。供试土壤 pH 值为 6.54,有机碳含量为 12.37 g·kg⁻¹,阳离子交换量为 15.01 cmol·kg⁻¹。

1.2 氯丹和灭蚁灵的测定方法

1.2.1 土壤样品前处理^[7-9]

称取 2.0 g 混合均匀的污染土壤样品,并设 3 个重复,使用快速溶剂萃取仪 ASE300(美国 Dionex)萃取。快速溶剂萃取条件:溶剂正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V),预热平衡时间 5 min,静态萃取温度 100 °C,压力 1 500 psi,静态萃取时间 5 min,淋洗体积 60%萃取池体积,载气吹脱时间 100 s,静态萃取次数 2 次。

1.2.2 仪器条件

Agilent 7890A/5975C 气相色谱/质谱联用仪。气

相色谱柱为 DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。载气为高纯氦气,柱流量 1 mL·min⁻¹,不分流进样,进样量 1 μL。经过多次试验确定的最佳升温程序为:进样口初始温度为 250 °C,柱温 80 °C 保持 1 min,然后以 20 °C·min⁻¹ 升至 270 °C,保持 5 min。

质谱电离方式:采用 EI 电离方式,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,接口温度 280 °C,全扫描离子模式,扫描范围 50~500 m·z⁻¹,溶剂延迟时间 3.5 min。分析物质为 α-氯丹、γ-氯丹和灭蚁灵,仪器检出限分别为 5、5、3 ng·g⁻¹,可以满足检测要求。采用外标法峰面积进行定量,定量方法采用校正曲线法,本方法回收率为 90%~101%。

经测定,场地土壤中氯丹的浓度为 471 mg·kg⁻¹,灭蚁灵为 138 mg·kg⁻¹。

1.3 蚯蚓生物毒性试验方法

1.3.1 供试生物

选用由南京蚯蚓养殖场提供的赤子爱胜蚓,挑选 2 月龄以上、体重为 0.3 g 左右,环带明显的健康成蚓,试验前放于人工气候箱中驯服 7 d。

1.3.2 主要仪器设备

TGL-16M 高速台式冷冻离心机(湘仪),紫外分光光度计 UV-2450(岛津);玻璃组织研磨器,PRX-450B 智能人工气候箱(赛福)。

1.3.3 蚯蚓染毒试验

由于土壤受到重度污染,预试验时在原土中培养蚯蚓 24 h 内的死亡率达到 100%。因此,采用污染土壤与清洁土壤按一定比例混合的方法进行蚯蚓染毒试验^[10]。清洁土壤为南京地区的黄棕壤,其 pH 为 5.54,有机碳含量为 25.46 g·kg⁻¹,阳离子交换量为 20.2 cmol·kg⁻¹。在预试验的基础上,确定了供试土壤的暴露浓度,试验设 1 个对照和 5 个暴露浓度。处理组编号分别为 CK、S-1、S-2、S-3、S-4、S-5,试验用土壤量均为 500 g,其中污染土壤与清洁土壤混合比例以及最终试验土壤样品中的氯丹和灭蚁灵浓度见表 1。

表 1 供试土壤浓度配置

处理组编号	氯丹/mg·kg ⁻¹	灭蚁灵/mg·kg ⁻¹	污染土壤/g	清洁土壤/g
CK	0	0	0	500
S-1	4.71	1.38	5	495
S-2	9.42	2.76	10	490
S-3	14.13	4.14	15	485
S-4	18.84	5.52	20	480
S-5	23.55	6.90	25	475

试验开始时,调节土壤含水量为最大持水量的60%,将污染场地土壤与清洁土壤混匀后放入塑料容器中。然后选择健康、环带明显、质量相近(300~500 mg)的成体蚯蚓清肠24 h后称取初始质量,放入塑料容器中,每一处理放入10条蚯蚓。用塑料薄膜封口,并用镊子扎孔。将塑料容器放入人工气候箱中培养,箱中为标准试验条件:温度为(20±1)℃,湿度为(75±7)%,光照为1333 lx(间歇光照,即12 h光照、12 h黑暗),并定期喷射少量的水以保持基质的湿度^[11-12]。分别于暴露1、3、7、14 d后将蚯蚓取出,记录存活状况后清肠1 d称重、测定酶活性,每一处理和对照各设3个重复。

1.4 生化测定

1.4.1 酶液的制备

采样时间分别为蚯蚓暴露后的第1、3、7、14 d。每一处理的3个平行样各采集1~2条活蚯蚓,称重,加入蚯蚓体重9倍的生理盐水,快速将蚯蚓剪成数段,移入匀浆器中匀浆,制成10%的组织匀浆。将匀浆液转入5 mL离心管,3000 r·min⁻¹离心15 min,提取上清液^[13]。样品提取液可立即用于测定蛋白质含量和酶的活性。

1.4.2 酶活性的测定

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和总蛋白均采用南京建成生物工程研究所生产的测试盒测定。CAT活性采用钼酸铵络合过氧化氢法,在405 nm波长处比色的方法进行测定。SOD活性采用黄嘌呤氧化酶法,在550 nm波长下比色测定。蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[14]。每个处理设3个平行,每个平行重复测定3次。

1.5 数据处理

所有数据处理均采用统计分析软件SPSS17.0。以

3个平行组数据的平均值±标准差(Means ±SD)表示。对蚯蚓体重变化率与浓度关系做相关性分析。采用单因素方差分析(ANOVA)和Duncan检验法,并以 $P > 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$ 分别表示没有影响(不显著)、差异显著和差异极显著水平。

2 结果与讨论

2.1 污染土壤对蚯蚓体重的影响

图1为6个处理组土壤样品中的蚯蚓体重变化情况。蚯蚓体重变化用体重变化率来表示:

体重变化率=($W_t - W_0$)/ $W_0 \times 100\%$, W_0 为试验开始时蚯蚓体重, W_t 为染毒 t d时蚯蚓体重^[15]。

由图1可见,随着培养时间的延长,对照组蚯蚓体重有明显增长的趋势。第1 d时,所有处理组蚯蚓体重均增长,其中S-3、S-4、S-5组蚯蚓体重增长率显著低于对照组($P < 0.05$)。第3 d时,与对照组相比,除S-1组蚯蚓体重呈略微增长趋势,其他各组蚯蚓体重均出现明显下降($P < 0.05$)。至第7 d,各处理组蚯蚓体重均明显下降,其中高浓度组S-3、S-4、S-5组与对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。蚯蚓体重变化率与浓度梯度呈强负相关(相关系数 $R = -0.965$, $P = 0.002$)。至第14 d,各处理组蚯蚓体重继续下降,各浓度组与对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。蚯蚓体重变化率与浓度梯度呈强负相关(相关系数 $R = -0.974$, $P = 0.001$)。

2.2 污染土壤对蚯蚓酶活性的影响

2.2.1 污染土壤对蚯蚓体内过氧化氢酶(CAT)的影响

图2为污染土壤对蚯蚓体内过氧化氢酶活性的变化情况。可以看出,随着暴露时间的延长,对照的CAT基本维持一定活性,变化范围为4.17~7.30 U·mg⁻¹蛋白,平均为5.84 U·mg⁻¹蛋白;而各处理蚯蚓

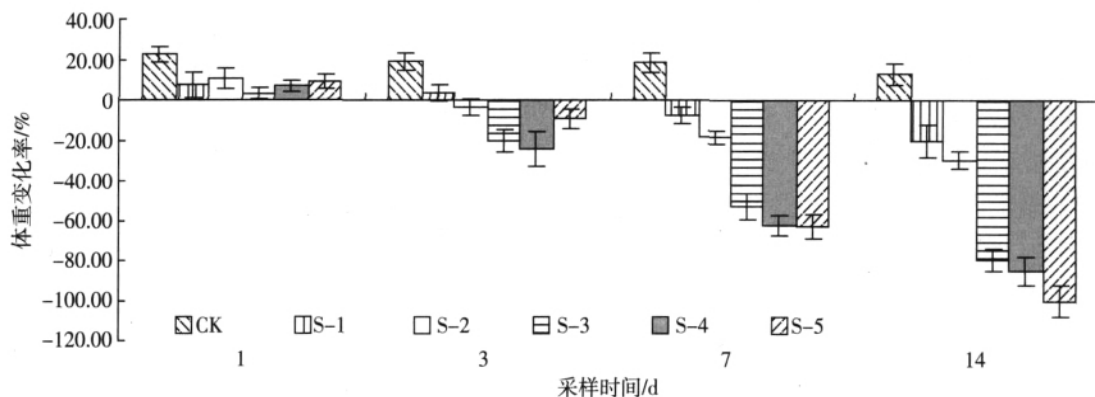


图1 氯丹、灭蚊灵复合污染作用下的蚯蚓体重变化率
Figure 1 Effects of chlordane and mirex on body weight of earthworms

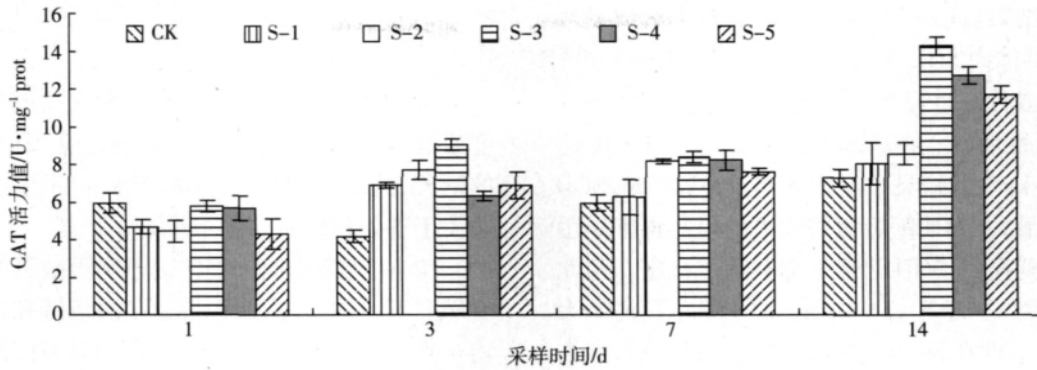


图 2 污染土壤对蚯蚓体内 CAT 活性的影响

Figure 2 Effects of chlordane and mirex on CAT in earthworms

CAT 活性随着暴露时间的延长逐渐升高。在暴露的第 1 d,各试验组与对照组相比较差别不明显($P>0.05$);第 3 d 低浓度(S-1、S-2、S-3)组 CAT 活性受到显著诱导($P<0.05$),在 S-3 组,即当氯丹浓度达到 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,CAT 活性达到最大,高浓度组 CAT 活性与 S-3 组相比有所降低,但仍然高于对照组的 CAT 活力值;暴露的第 7 d,各处理组 (S-1 组除外)CAT 活性与对照组相比继续显著增高($P<0.05$),暴露的第 14 d 时,与对照组相比 S-3、S-4、S-5 组 CAT 活性受到极显著诱导($P<0.01$),在 S-3 组,即当氯丹浓度达到 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,诱导程度达到最大,高浓度组 CAT 活性表现为强诱导响应,但响应程度低于 S-3 组。

CAT 可有效清除生物体内过量的过氧化氢,维持细胞内过氧化氢平衡,生物体内一种重要的抗氧化防御性功能酶,其活性成分或含量可受污染的胁迫而发生改变。本研究表明,在氯丹和灭蚁灵低浓度处理时,蚯蚓体组织的 CAT 活性显著增加,表明蚯蚓通过提高 CAT 的活性来清除机体因污染胁迫而产生的自由

基,以适应环境变化,保持体内平衡^[16]。随着处理浓度的增加,CAT 活性出现了不同程度的升高,在第 14 d 时,S-3 组 CAT 活性诱导程度达到最大,高浓度组 CAT 活性仍表现为强诱导响应,但响应程度低于 S-3 组,这可能与污染因素随着暴露时间的延长强烈诱导 CAT 活性,直至某一临界浓度使其 CAT 活性达到最大值有关^[17-18]。本研究表明,氯丹浓度为 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可能是诱导蚯蚓 CAT 活性达到最大值的临界浓度。

2.2.2 氯丹、灭蚁灵对蚯蚓体内超氧化物歧化酶(SOD)的影响

图 3 为氯丹和灭蚁灵作用下蚯蚓体内超氧化物歧化酶活性的变化情况。在氯丹和灭蚁灵胁迫下第 1 d 蚯蚓 SOD 活性与对照组相比无显著差异($P<0.05$);第 3 d 表现出对 SOD 极显著的诱导效应($P<0.01$),在 S-3 组,即当氯丹浓度达到 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,SOD 诱导程度达到最大,高浓度组 SOD 活性有所降低,但仍然高于对照组 SOD 活性值;在第 7 d 和第 14 d,各处理组蚯蚓 SOD 活性显著低于对照($P<0.05$)。

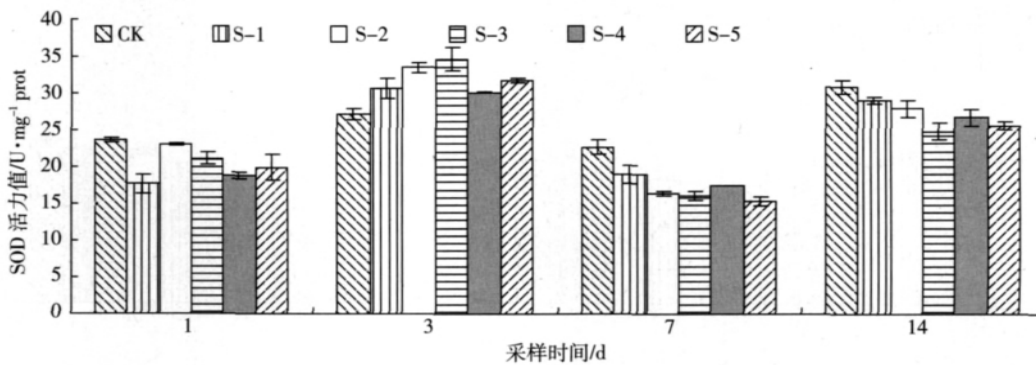


图 3 氯丹和灭蚁灵对蚯蚓体内 SOD 活性的影响

Figure 3 Effects of chlordane and mirex on SOD in earthworms

本试验结果显示,污染场地土壤氯丹和灭蚁灵暴露3 d后蚯蚓体内SOD活性显著升高,说明氯丹和灭蚁灵的胁迫或代谢过程产生了超氧阴离子^[19],从而诱发了SOD活性增加。在暴露的第3 d,当氯丹浓度达到 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,SOD的诱导效应最大。然而随着氯丹和灭蚁灵的毒害作用蚯蚓细胞受到损伤,SOD活性下降并趋于稳定。与此相似,冯涛等^[20]发现B[a]P($30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)胁迫下大弹涂鱼肝脏SOD活性在第3 d显著升高,随后降至对照水平。另外,在本试验中处理组蚯蚓SOD活性与对照组相比产生了“抑制-诱导-抑制-抑制”的动态响应。这可能因为暴露初期氯丹和灭蚁灵生物有效性较大,其急性胁迫使SOD受到诱导,在暴露短时间内SOD活性显著升高,在毒性缓解后,氯丹和灭蚁灵代谢产物的积累抑制了SOD酶活性,SOD活性下降并趋于稳定。王重刚等^[21]发现B[a]和芘暴露($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)使梭鱼肝脏SOD活性主要表现为先抑制后诱导效应, $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理组在暴露7 d后SOD未表现出诱导,而是抑制效应。这与本试验结果相似。

2.2.3 氯丹、灭蚁灵对蚯蚓体内蛋白质含量的影响

图4为氯丹和灭蚁灵作用下蚯蚓体内蛋白质活性的变化情况。由蚯蚓体内蛋白质对氯丹和灭蚁灵暴露的动态响应可见,试验的第1 d和第3 d,各处理组蛋白质含量虽有变化但不显著($P>0.05$),在第7 d和第14 d时,与对照组相比处理组蛋白质含量显著增高($P<0.05$)。在第7 d蛋白质含量与浓度呈强正相关(相关系数 $R=0.933$ $P=0.000$)。第14 d蛋白质含量与浓度也呈现强正相关(相关系数 $R=0.900$ $P=0.000$)。由图4可见,蛋白质只在试验后期对氯丹和灭蚁灵出现响应,具有延时性(即第7 d开始响应)和阶段性(即第7 d前无明显响应)。

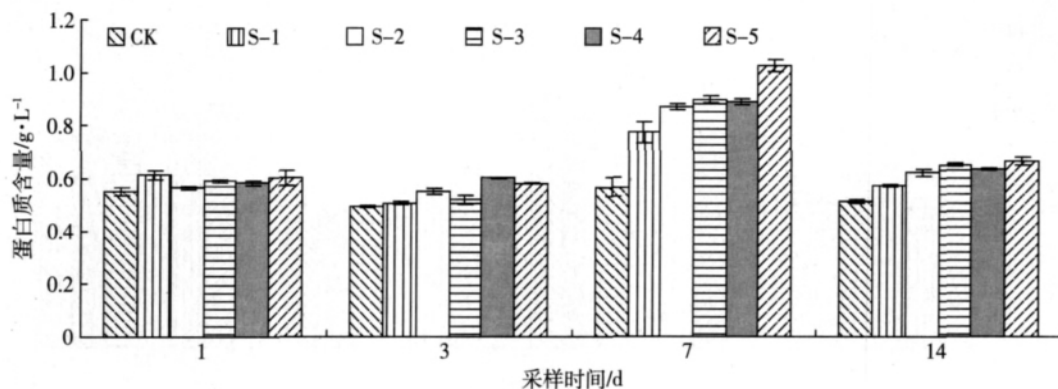


图4 氯丹和灭蚁灵对蚯蚓体内蛋白质含量的影响

Figure 4 Effects of chlordane and mirex on protein content in earthworms

3 结论

(1)在污染场地土壤中氯丹和灭蚁灵的亚致死浓度暴露下,蚯蚓的生物量产生了响应,随着处理时间的延长,蚯蚓的鲜重呈下降趋势,对照组蚯蚓重量显著大于各处理组蚯蚓的重量。

(2)在污染场地土壤中氯丹和灭蚁灵的亚致死浓度暴露下,蚯蚓体内两种抗氧化酶活性和蛋白质含量均对其产生了不同程度的响应。但是不同酶对毒性效应响应的域值不同,其敏感性总体大小依次为 $\text{CAT}>\text{SOD}>\text{蛋白质}$ 。

(3)在一定暴露时间内,当氯丹浓度达到 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,CAT和SOD均出现最大程度的诱导效应,之后随着暴露浓度的增大,CAT诱导程度有所降低,而SOD活性则受到抑制,表明氯丹浓度为 $14.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、灭蚁灵浓度为 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可能是诱导蚯蚓CAT活性达到最大值的临界浓度,同时也是SOD活性受到抑制的临界浓度,超过该临界浓度可能对蚯蚓产生生态毒性效应,为场地风险评价和修复提供了基础数据。

参考文献:

- [1] 徐建,林玉锁,等.应用斑马鱼和凡纳对虾诊断污染场地污水的生物毒性[J].环境监测管理与技术,2008,20(5):52-55.
Xu J, Lin Y S, et al. Diagnosis of bio-toxicity of sewage from contaminated sites with Zebrafish and *Penaeus Vannamei*[J]. *The Administration Technique of Environmental Monitoring*, 2008, 20(5): 52-55.
- [2] 史雅娟,王昕,吕永龙,等.DDT和三氯杀螨醇对蚯蚓的急性和亚急性毒性影响[J].环境科学学报,2006,26(5):851-857.
Shi Y J, Wang X, LV Y L, et al. Acute and subtle toxicological effects of DDT and dicofol on earthworms(*Eisenia foetida*)[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(5): 851-857.

- [3] Maboeta M S, Reinecke A J, Reinecke S A. Effects of low level of lead on growth and reproduction of the Asian earthworm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta)[J]. *Ecotoxicol Environ Safety*, 1999, 44(3) :236-240.
- [4] Xiao N W, Jing B B, Ge F, et al. The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions[J]. *Chemosphere*, 2006, 62(8) :1366-1373.
- [5] Brown P J, Long S M, Spurgeon D J, et al. Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(11) :1675-1681.
- [6] Luo Y, Zang Y, Zhong Y, et al. Toxicological study of two novel pesticides on earthworm *Eisenia fetida*[J]. *Chemosphere*, 1999, 39(13) :2347-2356.
- [7] 王琪, 等. 氯丹和灭蚊灵在污染场地中的空间分布研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(5) :1630-1634.
Wang Q, et al. Spatial distribution of chlordane and mirex in typical POPs contaminated site in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(5) :1630-1634.
- [8] 丛鑫, 等. 某有机氯农药企业搬迁遗留场地表层土壤中污染物残留特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3) :850-854.
Cong X, et al. Residual characteristics of pollutants in topsoil of a former organochlorine pesticide manufacturing enterprise[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3) :850-854.
- [9] 丛鑫, 等. 有机氯农药污染场地表层土壤有机-矿质复合体中污染物的分布[J]. 环境科学, 2008, 29(9) :2586-2591.
Cong X, et al. Pollutant distribution in organo-mineral aggregates in topsoils from a site contaminated by organochlorine pesticides[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(9) :2586-2591.
- [10] 申荣艳, 骆永明, 等. 长江三角洲地区城市污泥对蚯蚓的急性毒性效应[J]. 土壤, 2008, 40(5) :738-743.
Sen R Y, Luo Y M, et al. Acute toxicity of municipal sludges on earthworms in the Yangtze River Delta Area[J]. *Soils*, 2008, 40(5) :738-743.
- [11] 胡玲, 林玉锁. 呋喃丹对蚯蚓体内蛋白含量、SOD和TChE活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(3) :3165-3167.
Hu L, Lin Y S. Effect of Carbofuran on protein content and the SOD and TChE activity of the *Eisenia Foetida* earthworm[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2006, 34(13) :3165-3167.
- [12] 郇托娅, 林玉锁, 等. 土壤中Cu和Pb单一及复合污染对蚯蚓体内蛋白含量和SOD活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(5) :1985-1990.
Tai T Y, Lin Y S, et al. Effect of Cu, Pb single and combined pollution on total soluble protein content and SOD activity of the *Eisenia Foetida* earthworm in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5) :1985-1990.
- [13] 赵作媛, 等. 镉-菲复合污染对蚯蚓的急性毒性效应及抗氧化酶的影响[D]. 上海:上海交通大学, 2007.
Zhao Z Y, et al. The effects of acute toxicity and antioxidant enzymes of cadmium-phenanthrene on earthworm[D]. Shanghai:Shanghai Jiao Tong University, 2007.
- [14] 梁海燕, 李银生, 等. 铝离子污染胁迫对蚯蚓重要抗氧化酶活性的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2007, 25(6) :551-573.
Liang H Y, Li Y S, et al. Effect of aluminum ion on activities of important antioxidant enzymes from earthworms, *Eisenia Andrei*[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2007, 25(6) :551-573.
- [15] 刘文丽, 等. 异丙甲草胺对蚯蚓体重及酶活性的影响[J]. 环境科学学报, 2007, 27(12) :2025-2031.
Liu W L, et al. Effects of metolachlor on the weight and enzyme activities of earthworms[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(12) :2025-2031.
- [16] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 土壤低剂量芘污染对蚯蚓若干生化指标的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(9) :2097-2103.
Zhang W, Song Y F, Sun T H, et al. Effects of low dosage pyrene pollution on biochemical characters of earthworm (*Eisenia fetida*) in soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(9) :2097-2103.
- [17] 刘嫦娥, 等. 丁草胺和乙草胺对蚯蚓CAT和SOD活性的影响[J]. 环境化学, 2008, 27(6) :756-761.
Liu C E, et al. Effect of butachlor and acetochlor in soil on antioxidant enzymes (SOD and CAT) in earthworms (*Eisenia Fetida*) [J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 27(6) :756-761.
- [18] 刘嫦娥, 等. 阿特拉津和绿麦隆对赤子爱胜蚓组织抗氧化酶活性的影响[J]. 环境化学, 2008, 27(4) :436-443.
Liu C E, et al. Effects of atrazine and chlorotoluron on antioxidant enzymes in earthworms (*Eisenia Fetida*) [J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 27(4) :436-443.
- [19] Vig E, Nemesok J. The effects of hypoxia and paraquat on the superoxide dismutase activity in different organs of carp *Cyprin carpio*[J]. *Fish Biol*, 1989, 35:23.
- [20] 冯涛, 郑微云, 洪万树, 等. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化酶活性影响的初步研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(3) :422-424.
Feng T, Zheng W Y, Hong W S, et al. Effect of benzo(a) pyrene on antioxidant enzyme activities in *Boleophthalmus pectinirostris* liver[J]. *Chin J Appl Ecol*, 2001, 12(3) :422-424.
- [21] 王重刚, 余群, 郁昂, 等. 苯并(a)芘和芘暴露对梭鱼肝脏超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 海洋环境科学, 2002, 21(4) :10-13.
Wang C G, Yu Q, Yu A, et al. Effect of benzo(a)pyrene and pyrene exposure on hepatic superoxide dismutase in *Mugilso-iuy*[J]. *Marine Environmental Sciences*, 2002, 21(4) :10-13.