维普资讯 http://www.cqvip.com

21160,

, 第17卷第3期 1997年5月

生态学报 ACTA ECOLOGICA SINICA

Vol. 17, No. 3 May, 1997

# 重金属对蚯蚓胃肠道上皮细胞 超微结构损伤的研究

郭永灿 王振中1)/张友梅1) 赖 勤 颜享梅 邓继福2)

1 湖南师范大学生物系、资源与环境学系,长沙,410081 2 湖南省株洲市环境保护科学研究所,株洲,412000

**摘要**重金属污染区的白颈环毛蚓(Pheretime californica)胃肠道粘膜上皮细胞损伤的透视电镜观察,结果 表明,重金属的轻污染区以及中、重污染区的蚯蚓胃肠道粘膜上皮细胞均发生了不同程度的损伤,表现为 上皮细胞的核間腔扩大,甚至解体,同时可见到线粒体肿胀,凝聚及线粒体嵴消失呈空泡变,高尔基复合 体、内质网扩张,溶酶体增生,这些病变随污染程度的不同而不同,重污染区比轻污染区要严重。

起 重金属污染、白颈环毛蚓、胃肠道粘膜上皮结构损伤,上现多距离 关键词》

# EFFECTS OF HEAVY METAL POLLUTION IN SOIL ON THE MUCOSA EPITHELIA CELL ULTRASTRUCTURE INJURING OF EARTHWORM'S GASTEROINTESTINAL TRACT

Guo Yongcan Wang Zhenzhong Zhang Youmei Lai Qin Yan Hengmei (Department of Biology, Resource and Environment, Human Normal University, Changsha, 410081, Chuna)

Deng Jifu

(Institute of Environmental Protection, Zhuzhou city, Hunan Province, 412000, Chuna)

**Abstract** The ultrastructure of the mucosa epithelium cell in the gasterointestional tract of the earthworm *Pheretime califonia* in the heavy metal polluted soil with TEM were observed in this paper.

The results indicated that the ultrastructure of mucosa epithelium cell of *P. califonica* was damaged obviously in slightly and heavely polluted area. Their pathological feature showed the perinuclear space of the cell expanded, mitochodria swelled or isoagglutined, mitochondia cristae dissappeared or appeared vacudar structure, both Goli body and RER arised swelling and lysosome increased. These pathological changes of the cell were more serious in the seriouly polluted area than in the slightly polluted area.

国家自然科学基金资助项目(No. 39230070), 收稿日期: 1995-06-29,修改稿收到日期: 1996-05-15.

Key words: heavy metal pollution, earthworms, mucosa epithelium cell ultrastructure injuring.

重金属污染导致生态破坏,土壤被重金属污染后,严重地影响农业生产,危及土壤动物的生存与繁 衍,使土壤动物的种类组成、群落结构大大改变<sup>[1]</sup>。大型土壤动物——蚯蚓,是土壤污染中敏感的指示生 物<sup>[2]</sup>,受到国内外学者重视。近年来,农药污染对蚯蚓的影响有较多报道<sup>[3~7]</sup>,而重金属污染对蚯蚓影响 的报道不多。作者就重金属对蚯蚓同工酶以及对蚯蚓胃肠道粘膜进行了扫描电镜观察<sup>[3~11]</sup>。本文报道重 金属影响蚯蚓胃肠道粘膜上皮细脆的透射电镜观察结果。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物 以株洲冶炼厂为污染源,在污染源附近选择6个采样点,采集重金属污染区的优势蚯蚓 种-----白颈环毛蚓(Pheretima californica)为本研究的对象。

1.2 重金属元素测定 根据环境质量多因子综合指数公式确定重金属污染的程度,将 I 区定为重污染 区, I、 I 区定为中污染区, Ⅳ、 Ⅵ 区为轻污染区, Ⅴ 区为未污染区,也是本研究的对照区。蚯蚓体内重 金属富集量测定方法是:先将体内泥砂粪便排泄干净,烤干研磨为粉未,As 测定用硝酸-硫酸消化,二乙 基二硫化氨基钾酸银比色法,Hg 用 CG-IA 型冷原子吸收仪测定,其它重金属元素用 18080 型原子吸收分 光光度计测定。

1.3 土壤和蚯蚓体内重金属含量相关性测定土壤和蚯蚓富集量的秩相关系数(元)可用以下公式计算:

$$r_i = 1 - \frac{\sum_{i=1-ld_i^2}^n}{n^3 - n}$$

公式中: r, 秩相关系数

n 样本对数目

di 秩差=単个样本-样本平均值

1.4 透射电镜制片 取排泄干净的蚯蚓消化道解剖,用 pH 1.4,0.1 mol 磷酸缓冲液冲洗,将砂囊以下 的胃肠道组织切成小块,置 2.5%戊二醛溶液中固定,再用 1%锇酸溶液行后固定,丙酮梯度脱水,Epon 812 包埋,LKB型超薄切片机切片,厚度为 500~700人,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染色,在H-600型透射 电镜下观察及照像记录。

#### 2 结果

2.1 蚯蚓体内重金属富集与土壤中重金属含量

经多次对株洲冶炼厂附近土壤与蚯蚓进行采样分析,结果列于表 1,经 Spearman 秩相关分析加以验 证表明,土壤与蚯蚓体内所含的重金属 Cd、Pb、As、Zn、Hg、Cu 的 r<sub>s</sub>>0.66~0.77。相关性达显著水平, 可见测定蚯蚓体内重金属含量能在一定程度上反映其所栖息土壤受污染的程度。

2.2 超微结构变化

2.2.1 蚯蚓胃粘膜上皮细胞的超微结构变化 正常蚯蚓的胃粘膜上皮细胞,在透射电镜下观察为单层柱 状上皮细胞,其游离面密布短小的微绒毛,近游离面胞质中分布许多线粒体,细胞核呈椭圆形位于细胞 基底,其周围布满大量粗面内质网(RER)。V区为未污染区,胃粘膜上皮细胞无任何病变。而 N、 VI区为 轻污染区胃粘膜上皮细胞微绒毛正常,线粒体丰富,但胞质中出现大量溶酶体增生(图 1-1),并有不少髓 样小体及由单位膜包围几个膜性结构的细胞器而形成泡状物,胞质中有大量游离的核糖体颗粒(图 1-2), 在中 Table 1 Comparison content between beavy metal in soil and in caribwarm in

表1 各样区土壤中重金属与蚯蚓体内重金属含量 (µg/kg)

采样区 Sampling place	Cd		Çu		As		Zn		Hg		Pb	
	A	В	А	в	A	в	A	В	A	в	A	В
1	9.80	47.30	76.40	5.58	56.60	16.32	657.80	67.00	0.94	0, 50	670.50	35.20
Ι	3.80	15, 80	67.30	3.10	57.80	14.97	367.80	53.00	0.39	0.77	325.20	18.70
	6.30	15.40	51.20	2. 00	51.8	6.30	479.00	80.00	0.72	0.36	459.00	13.50
IV	1.90	1.90	25.00	3.06	28.60	1.41	159.30	35.00	0.30	0.21	204, 80	20, 80
v	0.50	15.80	25.60	2.00	23.60	1.29	91.10	47.00	0.26	0.05	<b>55. 0</b> 0	2.46
И	0.50	2.10	48.60	2, 28	24.60	1.72	220. 80	41.00	0.74	0.41	61.10	0.81
r.		0.71		0.67		0.77		0.77		0.67		0.71

\* A 代表土壤(soil)、B 代表蚯蚓(earthworm)。

污染区(Ⅰ、Ⅱ区)胃粘膜上皮细胞出现 RER 扩张、并形成大量 RER 大泡,还有核糖体颗粒脱离 RER 现象。另可见线粒体内外膜膜间隙呈肿胀,整个线粒体肿胀可比正常线粒体的体积增大 2~4 倍、线粒体嵴减少,在线粒体基质中出现絮状物或高电子密度的黑色沉淀物(图 1-3)。重污染区(1 区)胃粘膜上皮细胞的胞质中充满肿胀线粒体,大部分呈空泡变性;还有呈凝聚状线粒体(图 1-4)。同时也可发现细胞核的核 周腔也发生扩张,核仁增大或核仁消失;核膜也出现断裂状,核质溢出或消失;线粒体也大量解体,胞质内出现大面积自溶的空白区(图 1-5)。

2.2.2 蚯蚓肠道粘膜上皮细胞超微结构变化 正常蚯蚓肠道粘膜上皮细胞在透射电镜下现察可见呈单 层柱状细胞,其游离面布满微绒毛及纤毛,近游离端胞质中分布丰富的线粒体,细胞核位于近基膜处。在 轻污染区(IV、VI区)可见肠道粘膜上皮细胞有大量溶酶体增生,高尔基复合体分布其周围。同时还有的 高尔基复合体扩张呈大泡状;在中污染区(I、I)区可发现 RER 上核糖体颗粒有脱粒现象,还可见 RER 也扩张呈大小不同的大泡(图 1-6);此区还可发现滑面内质(SER)有增生,大小不同的脂滴沉着(图 1-7),在中污染区可见线粒体出现肿胀、与正常线粒体比较,其可增 大 1~3 倍。在重污染区(I区),可见吸收 细胞的微绒毛紊乱或呈萎缩状,其线粒体呈凝聚状;纤毛细胞上纤毛端部呈现肿胀状;线粒体有的嵴消 失,甚至出现大量线粒体空泡变;有的线粒体基质中有电子致密颗粒(图 1-8、图 1-9)。还可发现细胞核膜 间隙扩张,甚至核膜断裂;有的核仁呈碎解状。

以上病变说明,随着重金属污染程度的加深、超微结构损伤就愈严重,最后导致细胞坏死。

### 3 讨论与分析

3.1 土壤重金属含量与蚯蚓体内重金属富集的相关性

重金属被生物体富集后,很难在体内降解,其富集量是随污染程度的增加而上升,各种有毒元素在 蚯蚓体内大量富集后,致使某些耐污能力差的种类难以生存和繁衍。但对重金属耐污力强的种类——白 颈环毛蚓却适应下来了成为污染区优势种。本研究的重污染区土壤 Cd 含量为 9.80 µg·kg<sup>-1</sup>,而蚓体内 富集量可达 47.30 µg·kg<sup>-1</sup>,为土壤含量的 5 倍左右,这与 Van Hook 和 Gish<sup>[12,4]</sup>对蚯蚓富集重金属的测 定相似。一般认为,土壤中有毒物质愈高、该环境中的生物体内有毒物质的残留量水平相应较高。这种关 系在一定范围内往往呈线性正相关。利用 Spearman 秩相关分析方法对土壤环境污染监测具有一定实践意 义。

#### 3.2 重金属对线粒体的影响

线粒体是细胞的能源中心、动力站,是细胞中最敏感的细胞器之一,而受环境不良因素影响而发生 各种不同形态变化。本研究观察结果表明、胃肠道粘膜上皮细胞的超微结构损伤情况是随土壤污染程度 而定。在中、重污染区可发现线粒体肿胀或凝聚,嵴消失而呈空泡变,甚至线粒体基质中出现高电子致密 颗粒或絮状不透明区。作者参照 F. L, Ginn 等<sup>[11]</sup>将鱼类肾小管上皮细胞对损伤反应所划分的 5 个时期标 准来衡量蚯蚓胃肠道上皮细胞受损伤程度,轻污染区为第Ⅰ、Ⅱ期损伤、为不可逆损伤,而中、重污染区 的报伤则进行第Ⅳ、Ⅴ期为---种不可逆损伤变化。用电镜观察线粒体的损伤变化来分析重金属污染程度 是一项准确的生物监测方法。

3.3 重金属对其它细胞器的影响

溶酶体是重要细胞器之一,它含有多种酸性水解酶,具有消灭外来异质,参与代谢和解毒作用,为胞 内消化系统。本研究中轻污染区在电镜下可见到胃肠上皮细胞出现溶酶体增生,这说明有毒物质被消化 道吸收扩散后,使细胞产生一种应急防御反应——溶酶体增生,将有毒物进一步浓缩行解毒作用。但大量 有毒物也能抑制酶活性,或使溶酶体膜的稳定性破坏,水解酶释放出来使细胞坏死。在扫描电镜下观察 到穿孔现象,也许为溶酶体的水解酶所致<sup>[11]</sup>。被损伤的细胞器与初级溶酶结合后,未消化的物质积累多 了,产生髓样小体,经外排作用把残体或残余酶排至胞间隙,则产生局部坏死。同时,在各污染区发现高 尔基复合体、ER 扩张,甚至发生核糖体颗粒脱落现象,滑面内质网增生,这些病变与乙醇急性中毒的病 变相似<sup>[16]</sup>。这表明重金属中毒后,可使粘膜上皮细胞发生各种形态学变化,病变大小与污染程度呈正相 关。

3.4 重金属对上皮细胞损伤的机理

株洲冶炼厂附近土壤受到重金属污染,以 Cd 污染最严重, Pb 为重度污染,Zn 为中度污染,As、Cu 为轻度污染,土壤重金属浓度与污染源距离呈指数负相关<sup>[17]</sup>。本研究的样区是通过气型飘移尘埃至土壤,重金属过量地累积在土壤中,使土壤动物深受其害。Barka 等<sup>[15]</sup>认为,重金属能抑制酶系的活性,重金属与蛋白质相互作用有2种类型,I)与特异性配合基如咪唑基、羧基和巯基的相互作用;2)与氨基酸残基的特殊结构相互作用,核酸的磷酰基也能与金属阳离子形成螯合物。Hege<sup>[10]</sup>认为,细胞损伤的机理主要是有毒物质与膜蛋白相互作用改变膜的通透性,如 Pb 中毒是由于 Pb 抑制了细胞膜上 ATP 酶的活性,影响了受 ATP 酶控制的 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>离子的分布而造成膜通透性改变,致使细胞出现一系列超微结构的变化。Cd 与膜上硫蛋白结合,导致质膜通透性改变,K<sup>+</sup>渗出 Na<sup>+</sup>渗入、高浓度 Na<sup>+</sup>能抑制线粒体的呼吸作用<sup>[10]</sup>。毒物引起细胞坏死与细胞内 Ca<sup>(+</sup>稳态紊乱有关<sup>[10]</sup>。毒物进入机体后,一方面在酶的催化下,进行代谢转化,另一方面也导致体内酶活性的改变。作者<sup>[8-9]</sup>曾发现重金属对蚯蚓过氧化物酶同工酶有激活作用,对酯酶同工酶却有抑制作用。毒物对酶的抑制若为不可逆性抑制,可造成生物化学损伤导致细胞死亡<sup>[16]</sup>。本研究中证明,土壤中重金属污染程度与上皮细胞超微结构病变大小呈正相关,其机理是否如上所述,值得今后进一步探索。

#### 参考文献

- 1 王振中,张友梅等.土壤污染对土壤动物群落结构的影响.湖南师范大学自然科学学报,1987,10(1);90~96
- 2 王振中,张友梅,郭永灿等。土壤重金属对蚯蚓影响的研究。环境科学学报,1994,14(2):336~343
- 3 Thomason A B. Effect of nine insectides on the numbers and biomass of earthworms in pasture. Ball. Env Cont. Toricol. 1971, 5(6): 577~586
- 4 Gish C D. Organochloride insectuide residues in soil and soil in rertebrates from argricultural land pest. Mon. F. 1970, 3 (4), 244 ~ 250
- 5 Erno Eischer and laszlo Molnar. Environmetal aspects of the chloragogenous tissue of earthworms. Soil. Biol. Biochem. 1992, 24(12): 1723~1727
- 6 Senapati B K& Biswal J. Ecotoxicological effects of malathon on earthworms. 1992. 24(12): 1719-1722
- 7 Jari Haimi & Janne Salminen et al. Bioaccumulation of organochlorine compounds in earthworms 1992, 24: (12): 1699~ 1704
- 8 郭永灿、顿 勤, 王振中等, 重金属 Cd、Pb 对蚯蚓同工酶的影响, 生态学报, 1994, 14(增刊), 144~149
- 9 郭永灿,王振中,张友梅等,株洲工业区土壤重金属污染与蚯蚓同工酶的研究,应用生态学报,1995,6(3),317~ 322
- 10 郭永灿、赖 勤,王振中等.蚯蚓的体表及食道、砂囊、胃、肠道粘膜的扫描电镜观察.湖南师范大学自然科学学

维普资讯 http://www.cqvip.com

.

.

.

11	税,1993,16(增刊)102~106 	اتنا عاد الم			
11	幹水叫,願手俸,土振甲等,土壤甲基金属污染灯出须外宅對胃肠道粘展预饬的扫描电镜观察,电子显 1004 11/0> B4, B0	<b>微学报</b> ,			
10	1994, 13(2); 64~69				
12	HOOK K I Van Cadmium, Lead and zinc distributions between earthworths and soils Potentiats for biological a	ecumula-			
13	Ginn F L & Shelburme J D. et al. Disorders of cell volume regulation. L. Effects of inhibition of plasma m	iembrane			
<b>.</b> .	adenosime imposphatese with outbain. Amer, J. Pathel regulation. 1958, 53: 1041~1049				
14	Hege Y. et al. Studison the post-mortem identification of pollutant in fish killed by water pollution. X I Acut	e poison-			
1.5	ing with mercury. Bull Jap. Soc. Sci. Fish. 1970, $36_1 255 \sim 230$				
15	Barka F & Damluji S F <i>et al.</i> Methercury personning in Iraq. Science, 1973, 181, 230 $\sim$ 241				
16	老福寿,同亲灿,土志远等,环境生化毒理学,沈阳:辽宁大学出版社,1986.237~266				
17	彭佩钦,廖元苓等·株洲市工业冶炼这农田土壤及水稻重金属污染的研究·农业现代化研究,1991,12(增	1刊):29			
	~34				
	出 1 说 明				
	Explanation of fig. 1				
1	轻污染区蚯蚓胃粘膜上皮细胞中出現大量溶酶体(←)	x12 k			
	The stomach epithelial cell of the earthworm in the slighty polluted area; a large number of lysosomes ( $\Leftarrow$ )				
2	轻污染区蚯蚓胃粘膜上皮细胞中出现髓样小体及多泡体结构的次生溶酶体(←)	x35 k.			
	The stomach epithelial cell of the earthworm in slighty polluted area contained medullar and vacuolar atruature				
	of secondary lyso-some ( $\Leftarrow$ ).	x35 k.			
3	中污染区蚯蚓胃粘膜上皮细胞出现线粒体肿胀,线粒体基质中并有絮状物或黑色沉淀物(+-)	x 10k.			
	The stomach mucosa epithelial cell of the earthworm in middle polluted area $_{\rm t}$ mitochondrion swelled , contained				
	black or wadding sediment ( $\Leftarrow$ ).	x10 k.			
4	重污染区蚯蚓胃粘膜上皮细胞出现线粒体嵴消失,呈空泡变(+-),有的线粒体呈凝聚状.	<b>x</b> 8 k.			
	The stomach mucosa spithelial cell of the earthworm in middle polluted area: mitochondrion swelled, contained				
	black or wadding sediment (<), or mitochondrion curdle.	x8 k.			
5	重污染区蚯蚓胃粘膜上皮细胞染色质减少,核仁消失,核膜出现断裂、解体;线粒体大量解体(+-)	x10 k.			
	The stomach mucosa epithelial cell in the seriously polluted area; chromatin losing, nucleoli disappearing,				
	nuclear envelope broke and disintegrating ( $\Leftarrow$ ) a large number mitochondrion disintegrating ( $\Leftarrow$ )	x10 k.			
6	轻污染区蚯蚓肠道粘膜上皮细胞粗面内质网出现扩张,并呈大泡变()。	x15 k.			
	The intestinal epithelial cell of the earthworm in the slighty pol-luted area: RER swelled and vesiculated ( $\Leftarrow$ ).	x15 k.			
7	中污染区蚯蚓肠道粘膜上皮细胞清面内质网出现增生,并有大量脂漓沉着.	x8 k.			
	The intestinal epithelial cell of the earthworm in middle polluted area; SER enlarged lipid deposited.	x8 k.			
8	重污染区蚯蚓肠道粘膜上皮细胞出现线粒体凝聚状或呈空泡变,同时出现纤毛呈萎缩状或顶端肿胀状(←)	<b>x</b> 15 k			
	The intestinal epithelial cell of earghworm in the seriously polluted area, mitochondrion vesiculated or				
	mitochondrion to curdle, the cilia atrophied orci cilia utmost expansion( $\Leftarrow$ ).	x15 k.			
9	重污染区蚯蚓肠道粘膜上皮细胞出现线粒体嵴消失,大量线粒体呈空泡变;纤毛呈萎缩状。	x8 k.			
	The intestinal epithelia cell of the earthworm in the seriously polluted area: mitochondrion crista disappeared.	x8 k.			
	N(細胞核),Nu(核仁),M(线粒体),RER(相面内质网),SER(滑面内质网),G(高尔基复合体),Ly(溶酶	i体),Mi			

(徽绒毛), Cı(纤毛), L(脂滴), \*(核糖体).

N(nuclear), Nu(nucleoli), M(mttochondrion),

(RER (rough endoplasmic reticulum),

 $SER(smooth\ endoplasmic\ reticulum),\ G(golgi\ complex),\ Ly(lysosome),$ 

 $Mt(mucrovillus),\ Ci(cihum),\ L(lipidoses),\ *\ (rrbosome).$ 

286

17卷



## 图 1 蚯蚓胃粘膜上皮细胞超微结构变化

Fig. 1 The changes on the mucosa epithe ha cell ultrastructure of earthworm's gasterointestinal tract Note see from page.