

DOI:10.14188/j.ajsh.2021.06.013

不同浓度梯度硼酸对普通卷甲虫回避行为的影响

王 智¹, 华 南²

(1. 陕西学前师范学院 生命科学与食品工程学院, 陕西 西安 710100;
2. 安康市汉阴县安康长兴学校, 陕西 安康 725100)

摘要: 为了探究硼酸对普通卷甲虫(*Armadillidium vulgare*)回避行为的影响, 评估硼酸在其回避行为试验中的效力, 采用双控制试验法, 以动物生活区域的土壤为底物, 通过设置浓度为250、500、750、1 000、1 250、1 500 mg/kg的硼酸来探究普通卷甲虫的回避行为。结果显示: 随着土壤中硼酸浓度的增加, 普通卷甲虫的回避率不断增加, 硼酸浓度为1 500 mg/kg时, 普通卷甲虫表现出回避行为。由此可以得出, 硼酸可作为普通卷甲虫回避行为试验的参照物, 普通卷甲虫也有望作为土壤环境的替代指示物种。

关键词: 普通卷甲虫; 土壤监测; 回避行为; 硼酸
中图分类号: Q89 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-3491(2021)06-0638-05

Effects of different concentrations of boric acid on avoidance behavior of *Armadillidium vulgare*

WANG Zhi¹, HUA Nan²

(1. College of Life Sciences and Food Engineering, Shaanxi Xueqian Normal University, Xi'an 710100, Shaanxi, China;
2. Ankang Changxing School, Hanyin County, Ankang 725100, Shaanxi, China)

Abstract: The purpose of this study is to study the effect of boric acid (BA) on the avoidance behavior of *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) and evaluate the effectiveness of boric acid in the behavior test. Using the soil where the animal lives as substrate, the dual-control tests was conducted to investigate avoidance behavior of the animal by setting boric acid of different concentrations of 250, 500, 750, 1 000, 1 250, 1 500 mg/kg. The result showed that avoidance rate of the animal increased continuously with the increase of boric acid concentration in soil. The animal displayed avoidance behavior when the concentration of boric acid was 1 500 mg/kg. It can be concluded that boric acid could be used as a reference substance for avoidance behavior test of the animal, and *Armadillidium vulgare* could be used as an alternative indicator species of soil environment.

Key words: *Armadillidium vulgare*; soil monitoring; avoidance behavior; boric acid

0 引 言

土壤作为污染物的源与汇, 特别是重金属和有机物的污染对我国的土壤危害非常严重, 而土壤污染严重阻碍农业的发展。因此, 土壤污染的治理和相关研究迫在眉睫。

土壤污染的监测, 离不开对土壤动物的研究。土壤动物是土壤生态的重要组成部分, 它们在形成土壤结构、改变土壤性质上发挥着不言而喻的重要作用^[1,2]。将土壤动物的相关生物信息作为监测土壤污染另一个原因是土壤动物数量多、分布广, 易于捕捉且长期生活在土壤中, 对土壤的变化相当敏感。

收稿日期: 2021-06-17 修回日期: 2021-10-20 接受日期: 2021-12-26
作者简介: 王智(1978-), 男, 硕士, 实验师, 主要从事动物生理生态学研究。E-mail: 26031@snsy.edu.cn

引用格式: 王智, 华南. 不同浓度梯度硼酸对普通卷甲虫回避行为的影响[J]. 生物资源, 2021, 43(6): 638-642.
Wang Z, Hua N. Effects of different concentrations of boric acid on avoidance behavior of *Armadillidium vulgare* [J]. Biotic Resources, 2021, 43(6): 638-642.

研究表明,土壤动物的物种组成和生存度与土壤污染程度有良好的对应性,其变化情况在一定程度上反映了土壤生态系统的受污染状况^[3,4]。另外,研究还发现土壤动物与土壤重金属含量、化肥农药污染呈负增长关系^[5~7],而且它们能最大限度地接触土壤中的重金属,对众多重金属一定浓度的铜(Cu)、镍(Ni)、锰(Mn)、镁(Mg)、锌(Zn)、铅(Pb)、镉(Cd)有富集效应^[8~10]。因此,土壤动物物种的组成及生存密度的改变多被用来监测环境中的污染状况。

陆生等足类动物被认为是土壤动物群落中主要的分解者,它们在落叶分解的第一步中起重要作用^[11~13]。它们主要生活在潮湿的土壤中,其食腐习性和挖掘活动能促进土壤微生物的活动,从而释放出潜伏在腐殖质中的营养物质,并通过生态系统进行循环。这种微生物活动可增加土壤质量,有助于农业生产。已有研究表明,陆生等足类动物对土壤污染物敏感,适于生态毒性试验^[14~18]。等足目(Isopoda)鼠妇科(Porcellionidae)鼠妇属(*Porcellio*)中的平甲鼠妇(*Porcellio scaber* Latreille, 1804)和多霜腊鼠妇(*Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833)由于与锌、镉、铅、铜的高亲和力已被广泛用于评估和监测金属的生物利用度相关领域研究的项目中^[19~25]。普通卷甲虫(*Armadillidium vulgare* Latreille, 1804),又名“西瓜虫”、鼠姑,与鼠妇形态相近,属等足目卷甲虫科(Armadillidiidae),为世界广布种,国外对此动物的研究多聚集于其生物学的固有特征上,如习性、发育、生殖策略等问题^[11,12,26,27],国内学者对普通卷甲虫研究较少^[28~32],对其土壤污染指示作用关注更少^[7]。

硼酸(boric acid, BA)是一种弱酸,容易获得且对人类及其环境的毒性较低,已被国际标准化组织建议作为测定土壤质量的蚯蚓回避实验及对其行为影响的阳性参照物^[33]。本研究以普通卷甲虫为研究对象,探究其在不同浓度硼酸下的回避行为,旨在评估硼酸在等足类动物回避实验中的效力,将其作为监测土壤污染试验的参考物质,并明确普通卷甲虫作为土壤污染的替代监测物种之地位。

1 材料与方法

1.1 供试材料

① 供试动物:为便利起见,普通卷甲虫采自于陕西学前师范学院校园内,所选个体为大小均匀(10~12 mm)、色泽程度相似的成熟个体,在实验室25℃左右的环境下提前饲养一周,使其适应实验室中的环境。

② 供试土壤:采自供试动物普通卷甲虫的生活区域,将所采土壤阴干后粉碎,除去小石块等杂物。将阴干后的土等量分成两部分,一部分以蒸馏水喷洒浸湿,另一部分则喷洒与蒸馏水等量的硼酸浸湿。

③ 主要试剂与试验设备:硼酸(H_3BO_3),分析纯。两室型的玻璃槽(长:35 cm,宽:15 cm,高:10 cm)以不渗水的分隔板将该玻璃槽分成体积相等的左右两室,以避免硼酸溶液横向迁移。

1.2 研究方法

① 群体试验:玻璃槽的两室内分别放置阴干后的土壤各200 g,左侧均匀喷蒸馏水(喷洒量为100 mL,以达到土壤持水量的50%);右侧均匀喷洒等量不同浓度梯度的硼酸溶液。每种浓度设三个重复,硼酸浓度设置为250、500、750、1 000、1 250、1 500 mg/kg六个浓度梯度。待一小时溶液全部渗入到土壤中后,标记玻璃箱的中间位置,取出分隔板,将提前挑选过的个头相差不大的普通卷甲虫每组各10只放入玻璃箱中间位置的土壤表面,用遮光的硬纸板盖在塑料箱上面,防止动物逃逸。48 h后,再次将分隔板插入到原来的位置,手动挑选左右两室动物并计数,以防止个别动物钻到土壤中,影响实验数据。它们移动速度相对较快,在移动测试容器进行观察时需要小心。

② 个体试验:个体试验与群体试验相类似,也选取10只普通卷甲虫,不同的是,个体试验中,每次只放置1只动物,重复与群体试验相同的实验步骤。待48 h后,记录动物所在位置。

1.3 计算回避率

用于计算群体试验中动物回避率的公式如下:

$$NR = [(C - T) / N] \times 100\% \quad [6, 14, 15]$$

此公式中,NR为净回避率;C为洁净土壤中动物的数目;T为污染土壤中的动物数目;N为加入土壤中的动物总数。个体试验中以污染侧土壤中动物数目的百分比评价动物的回避行为。

2 结果与分析

2.1 群体试验

等足类动物中在土壤表面活跃的被归类为“爬行者”(如,*Haplophthalmus danicus*)、“跑者”(如多霜腊鼠妇)、“粘附者”(如平甲鼠妇)、“滚筒”(如普通卷甲虫)^[34,35],普通卷甲虫主要生活在地表和土壤中,数量丰富,行为活跃,在湿润的气候和潮湿的土壤中适合繁殖。为防止干燥,该动物生活区常富含腐烂有机物,低照度、合适的温度和相对高湿度(湿度水平可达到50%~60%)的地域是其最佳栖息地。

群体试验中普通卷甲虫的回避率随硼酸浓度的变化趋势见图1。由图1可见,随着硼酸浓度增加,普通卷甲虫的回避率逐渐增加。当硼酸浓度在250~500 mg/kg时,动物的回避率为负数(动物无死亡);硼酸浓度大于750 mg/kg时,动物的回避率为正数(动物无死亡);硼酸浓度为1 000 mg/kg时,回避率为 $(56.00 \pm 10.74)\%$ (动物无死亡);硼酸浓度为1 250 mg/kg时,回避率为 $(60.00 \pm 20.00)\%$ (动物无死亡),硼酸浓度为1 500 mg/kg时,回避率达到 $(81.00 \pm 7.38)\%$ (动物死亡1只)。根据回避率公式,以 $NR=0$ 为界限。当 NR 为正数,计算回避率。当回避率大于80%时表明具有回避反应;当 NR 为负数,表明无反应^[17]。据图1普通卷甲虫的回避率可分析得出,在硼酸浓度为250 mg/kg时,该动物的回避率均为负数,表明在此浓度时,动物没有产生回避行为。随着浓度增加至750 mg/kg时,虽然动物回避率总体呈上升趋势,但回避率低于80%,在浓度为1 500 mg/kg时,回避率基本达到了80%以上,表明此时动物出现了回避行为^[17]。

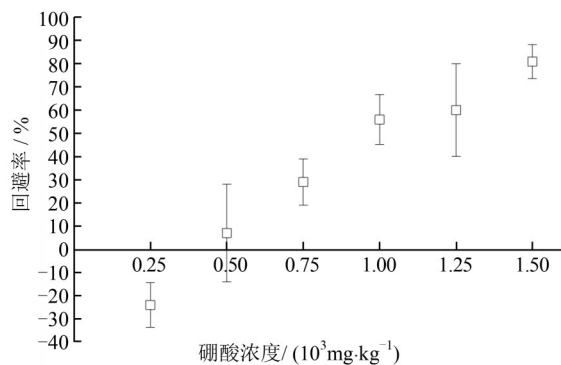


图1 群体试验中不同浓度梯度硼酸土壤中普通卷甲虫的回避率趋势图

Fig. 1 Trend of avoidance rate of *Armadillidium vulgare* in soil with different concentrations of boric acid

2.2 个体试验

个体试验中,普通卷甲虫在硼酸污染侧的数目百分比如图2所示。硼酸浓度为250~750 mg/kg时,普通卷甲虫在污染侧的数目百分比从40%降到25%,硼酸浓度为1 000 mg/kg时,动物在污染侧的数目百分比为15%,当硼酸浓度为1 500 mg/kg时,普通卷甲虫在污染侧的数目百分比为10%。通过分析个体试验数据及图2可以得出,随着硼酸浓度的逐渐增加,普通卷甲虫在污染侧的数目百分比逐渐下降,当硼酸浓度为1 500 mg/kg时,普通卷甲虫在污染侧的数目百分比仅10%,也就是说,此浓度时90%的动物迁移到对照侧土壤。由此表明,个体

试验中普通卷甲虫的回避行为与群体试验中回避率的变化方向基本一致。综上,随着硼酸浓度的升高,普通卷甲虫回避率也在不断增加。

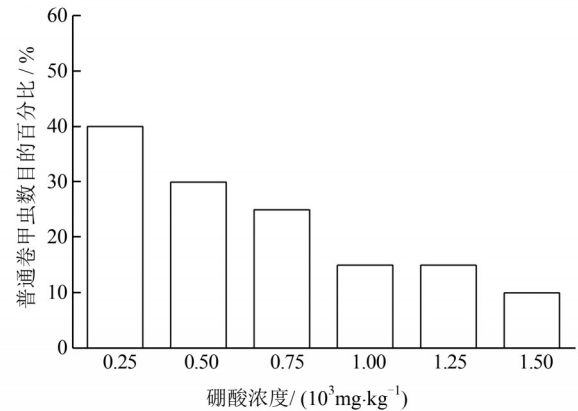


图2 个体试验中污染侧土壤中普通卷甲虫的百分比

Fig. 2 The percentage of *Armadillidium vulgare* in contaminated soil with boric acid in individual tests

3 结论与讨论

回避行为是动物遇到不利环境的逃避反应,它是一个生态相关的测量结点,通过消耗能量以探测和逃离危险区及减少在污染区的取食活动而影响动物的能量预算。已有蚯蚓、弹尾目昆虫、等足目动物等多种动物使用回避行为作为评估毒性效应的反应结点^[36]。蚯蚓的回避行为试验已被视为一种筛查和评价土壤污染的有价值工具^[18,37,38],并已开发出标准化试验程序^[33]。

等足类动物由于栖息在土壤上层,通过土壤和食物经常接触各种污染物(如杀虫剂和各种重金属),将其作为土壤生态毒理学的试验物种测试已超过30年^[17,39,40],有些方法已应用到相关的研究中。普通卷甲虫的群居生活方式使得它们无论取食、休息、迁移等行为都以群体为单位,彼此间相互关照,相互协助。在试验过程中,群体动物的表现可能会通过通讯等方式影响个体行为的改变。因此,为了使试验结果更加准确,在群体试验之后还进行了10次的个体试验,以验证普通卷甲虫群体试验的个体是否会因为通讯原因受到影响。此外,普通卷甲虫的回避行为还可能受到土壤理化性质的影响,本次试验中未考虑普通卷甲虫的性别、年龄等因素,这些都会导致试验结果的差异。

综上,普通卷甲虫的回避行为试验是对现有的一系列土壤无脊椎动物(包括其他等足类动物)毒性试验的重要补充,因其分布的广泛性,若能优化实验室培养条件,作为土壤环境的替代指示物种是完全

可能的,考虑到硼酸对人类的低毒性和后续处理的便利性可考虑将其作为普通卷甲虫回避行为试验的参照物。

参考文献

- [1] 徐甦,周玲珠,潘辰苑,等. 蚯蚓对多菌灵污染土壤回避行为的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2): 810-812.
Xu S, Zhou L Z, Pan C Y, *et al.* Avoidance behaviour of earthworm (*Eisenia andrei*) to carbendazim polluted soil [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(2): 810-812.
- [2] 苏越,邹天媛,张雪萍. 我国土壤动物环境指示功能研究进展[J]. 国土与自然资源研究, 2011(6): 64-67.
Su Y, Wu T Y, Zhang X P. Research advances in the indicative function soil fauna to environment in China [J]. Territority & Natural Resources Study, 2011(6): 64-67.
- [3] 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[J]. 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 [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(1): 215-220.
- [4] 王一华. 农药污染对土壤动物群落影响的定量研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2004: 48-56.
Wang Y H. Simulating toxicity tests of phoxim and beta-cypermethrin pesticides to soil animal [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2004: 48-56.
- [5] 高超,李霁,刘征涛,等. 土壤铅镉铬暴露下赤子爱胜蚯蚓的回避行为和急性毒性[J]. 环境科学研究, 2015, 28(10): 1596-1601.
Gao C, Li J, Liu Z T, *et al.* Avoidance behavior and acute toxicity of *Eisenia fetida* under exposure to lead, cadmium and chromium in soil [J]. Research of Environmental Sciences, 2015, 28(10): 1596-1601.
- [6] 李梦雯,牛晓倩,李玥,等. 重金属镉对三种潮虫的毒性效应及其回避行为研究[J]. 土壤学报, 2016, 53(3): 703-712.
Li M W, Niu X Q, Li Y, *et al.* Toxicological effects of Cd pollution on three species of woodlouse(Crustacea: Isopoda)and their avoidance behaviors [J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, 53(3): 703-712.
- [7] 牛晓倩. 等足目三种潮虫(甲壳动物亚门: 等足目: 潮虫亚目)对土壤重金属镉的毒性效应与回避行为研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2015: 3-7.
Niu X Q. Toxicological effects and avoidance behavior of soil heavy metal cadmium on three woodlice (Crustacea: Isopoda: Oniscidae) [D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2015: 3-7.
- [8] Blanus M, Mrković-Milić R, Durbešić P. Lead and cadmium in soil and Isopoda woodlice in Croatia [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2002, 52(3): 198-202.
- [9] Zidar P, Drobne D, Štrus J, *et al.* Intake and assimilation of zinc, copper, and cadmium in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda) [J]. B Environ Contam Tox, 2003, 70(5): 1028-1035.
- [10] 王航洁,俞伟东,陆生无脊椎动物监测土壤重金属污染[J]. 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 [J]. Northern Environment, 2011, 23(5): 119-120.
- [11] Beauché F, Richard F J. The best timing of mate search in *Armadillidium vulgare* (Isopoda, Oniscidea) [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e57737.
- [12] Dias N, Hassall M, Waite T. The influence of microclimate on foraging and sheltering behaviours of terrestrial isopods: Implications for soil carbon dynamics under climate change [J]. Pedobiologia, 2012, 55(3): 137-144.
- [13] Saska P. Granivory in terrestrial isopods [J]. Ecol Entomol 2008, 33(6): 742-747.
- [14] Daam M A, Leitão S, Cerejeira M J, *et al.* Comparing the sensitivity of soil invertebrates to pesticides with that of *Eisenia fetida* [J]. Chemosphere, 2011, 85(6): 1040-1047.
- [15] Da Silva-Júnior F M R, Silva P F, Guimarães F S, *et al.* Ecotoxicological tools for landfarming soil evaluation in a petrochemical complex area [J]. Pedosphere, 2014, 24(2): 280-284.
- [16] Sousa J P, Vingada J V, Loureiro S, *et al.* Effects of introduced exotic tree species on growth, consumption and assimilation rates of the soil detritivore *Porcellio dilatatus* (Crustacea: Isopoda) [J]. Appl Soil Ecol, 1998, 9(1/2/3): 399-403.
- [17] Drobne D. Terrestrial isopods —a good choice for toxicity testing of pollutants in the terrestrial environment [J]. Environ Toxicol Chem, 1997, 16(6): 1159-1164.
- [18] Loureiro S, Soares A M V M, Nogueira A J A. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination [J]. Environ Pollut, 2005, 138(1): 121-131.
- [19] Knigge T, Köhler H R. Lead impact on nutrition, energy reserves, respiration and stress protein (Hsp 70) level in *Porcellio scaber* (Isopoda) populations differently pre-conditioned in their habitats [J]. Environ Pollut, 2000, 108(2): 209-217.
- [20] Hopkin S P, Hardisty G N, Martin M H. The woodlouse *Porcellio scaber* as a 'biological indicator' of zinc,

- cadmium, lead and copper pollution [J]. Environ Pollut Ser B Chem Phys, 1986, 11(4): 271-290.
- [21] Hopkin S P. Deficiency and excess of copper in terrestrial isopods[C]//Dallinger R, Rainbow P S. Ecotoxicology of Metals in Invertebrates. SETAC Special Publication Series. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993: 359-382.
- [22] Paoletti M G, Hassall M. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators [J]. Agr Ecosyst Environ, 1999, 74(1/2/3): 157-165.
- [23] Loureiro S, Santos C, Pinto G, *et al.* Toxicity assessment of two soils from jales mine (Portugal) using plants: growth and biochemical parameters [J]. Arch Environ Con Tox, 2006, 50(2): 182-190.
- [24] Ferreira N G, Morgado R, Santos M J, *et al.* Biomarkers and energy reserves in the isopod *Porcellionides pruinosus*: the effects of long-term exposure to dimethoate [J]. Sci Total Environ, 2015, 502: 91-102.
- [25] Zidar P, Božič J, Štrus J. Behavioral response in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea) offered a choice of uncontaminated and cadmium-contaminated food [J]. Ecotoxicology, 2005, 14(5): 493-502.
- [26] Ferenti S, Cupşa D, Cicort-Lucaciu A S, *et al.* Winter activity of terrestrial Isopods from thermal habitats in western Romania [J]. Arch Biol Sci, 2013, 65(2): 795-800.
- [27] Wright J C, O'Donnell M. *In vivo* ion fluxes across the eggs of *Armadillidium vulgare* (Oniscidea: Isopoda): the role of the dorsal organ [J]. Physiol Biochem Zool, 2010, 83(4): 587-596.
- [28] 张小龙, 曹娜, 张续, 等. 普通卷甲虫肠道可培养细菌的分离、鉴定及产消化酶活性[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(3): 269-273, 277.
Zhang X L, Cao N, Zhang X, *et al.* The digestive enzyme activities of culturable bacteria isolated from intestine of pill bug, *Armadillidium vulgare* [J]. Chinese Journal of Microecology, 2020, 32(3): 269-273, 277.
- [29] 张华彬, 唐伯平, 杨思谅. 普通卷甲虫的抗寒性研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(21): 9159-9162.
Zhang H B, Tang B P, Yang S L. Study on cold tolerance of *Armadillidium vulgare* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(21): 9159-9162.
- [30] 唐伯平, 王源, 张华彬, 等. 普通卷甲虫的生物学特征研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(9): 3697-3699, 3705.
Tang B P, Wang Y, Zhang H B, *et al.* Studies on the biological characteristics of *Armadillidium vulgare* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(9): 3697-3699, 3705.
- [31] 赵京芬, 王艳红, 杨柳, 等. 鼠妇与普通卷甲虫的鉴别及浸出物测定研究[J]. 中药材, 2012, 35(8): 1205-1207.
Zhao J F, Wang Y H, Yang L, *et al.* Study on differentiation and extract determination of *Porcellio scaber* and *Armadillidium vulgare* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(8): 1205-1207.
- [32] 陈宏敏, 陈海敏, 常锐锐, 等. 马陆肠道细菌对普通卷甲虫活动和取食的影响[J]. 中华卫生杀虫药械, 2020, 26(1): 56-60.
Chen H M, Chen H M, Chang R R, *et al.* Effect of *Spirobolus bungii* intestinal bacteria on the activity and feeding of *Armadillidium vulgare* [J]. Chinese Journal Hygienic Insect & Equipments, 2020, 26(1): 56-60.
- [33] International Organization For Standardization. ISO 17512-1-2008 Soil quality-avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behaviour: Part 1. Tests with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*)[S]. Geneva: International Organization for Standardization, 2008.
- [34] Sutton S L, Hassall M, Willows R, *et al.* Life histories of terrestrial isopods: a study of intra- and interspecific variation [J]. Symp Zool Soc Lond, 1984, 53: 269-294.
- [35] Schmalfuss H. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods[C]//Sutton S L, Holdich D M. The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Oxford: Clarendon Press, 1984: 49-63.
- [36] Loureiro S, Amorim M J, Campos B, *et al.* Assessing joint toxicity of chemicals in *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) and *Porcellionides pruinosus* (Isopoda) using avoidance behaviour as an endpoint [J]. Environ Pollut, 2009, 157(2): 625-636.
- [37] Hellou J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2011, 18(1): 1-11.
- [38] Lowe C N, Butt K R, Cheynier K Y. Assessment of avoidance behaviour by earthworms (*Lumbricus rubellus* and *Octolasion cyaneum*) in linear pollution gradients [J]. Ecotox Environ Safe, 2016, 124: 324-328.
- [39] Gestel C. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions [J]. Zookeys, 2012(176): 275-296.
- [40] van Gestel C A M, Loureiro S, Zidar P. Terrestrial isopods as model organisms in soil ecotoxicology: a review [J]. Zookeys, 2018, 801: 127-162.

□

(编辑: 杨晓翠)