

砷污染环境生存下的螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis Gosse*)对砷酸钠的适应进化

范丛笑^{1,2}

¹云南师范大学地理学部, 云南 昆明

²云南省高原地理过程与环境变化重点实验室, 云南 昆明

收稿日期: 2023年1月15日; 录用日期: 2023年2月14日; 发布日期: 2023年2月22日

摘要

砷是一种有毒的环境污染物, 积累到一定浓度后不仅会对水中各种生物直接造成危害, 还会通过食物链和食物网的传播间接影响水生生物。砷污染的研究大多集中在急性毒理学实验, 但水生生物种能否在砷污染湖泊中快速适应并进化以维持物种生存仍有待研究。实验选取了没有砷污染湖泊的螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis Gosse*)作为实验生物, 设置无砷组、低砷组、高砷组三个实验环境进行为期一年的种群选择, 以验证在不同浓度的砷环境下三组实验种群是否对砷污染物产生了适应进化。结果表明, 与在无砷污染下种群相比, 无论是低砷组还是高砷组的螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis Gosse*)种群, 对有砷环境更加适应, 能耐受更高的砷浓度。在砷环境选择进化的种群, 其出生率比无砷种群高出10%~20%、死亡率低了5%~10%, 有砷环境下的种群往往通过提高种群出生率和降低种群死亡率, 来维持种群在有砷污染环境下的续存。

关键词

砷污染, 浮游动物, 螺形龟甲轮虫, 适应进化

Adaptation Evolution of Sodium Arsenate in *Keratella cochlearis Gosse* Living in Arsenic Contaminated Environments

Congxiao Fan^{1,2}

¹Faculty of Geography, Yunnan Normal University, Kunming Yunnan

²Yunnan Key Laboratory of Plateau Geographical Processes & Environmental Changes, Kunming Yunnan

Received: Jan. 15th, 2023; accepted: Feb. 14th, 2023; published: Feb. 22nd, 2023

文章引用: 范丛笑. 砷污染环境生存下的螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis Gosse*)对砷酸钠的适应进化[J]. 环境保护前沿, 2023, 13(1): 80-87. DOI: 10.12677/aep.2023.131010

Abstract

Arsenic is a toxic environmental pollutant that accumulates to a certain concentration and not only causes direct harm to various organisms in water, but also affects aquatic organisms indirectly through the transmission of food chain and food web. Most studies on arsenic contamination have focused on acute toxicological experiments, but whether aquatic species can rapidly adapt and evolve to maintain species survival in arsenic-contaminated lakes remains to be studied. In the experiment, *Keratella cochlearis Gosse* from a lake without arsenic pollution was selected as the experimental organism. Three experimental environments were set up for population selection for one year, namely, the arsenic-free group, the low-arsenic group and the high-arsenic group, to verify whether the three experimental populations have evolved adaptation to arsenic pollutants under different concentrations of arsenic. The results showed that *Keratella cochlearis Gosse* population was more adaptable to arsenic environment and could tolerate higher arsenic concentration than the population without arsenic pollution, no matter in the low or high arsenic group. The birth rate of a population selected for evolution in an arsenic environment is 10%~20% higher and the death rate is 5%~10% lower than that of an arsenic-free population. Populations in an arsenic environment tend to maintain their survival in an arsenic polluted environment by increasing the birth rate and reducing the death rate.

Keywords

Arsenic Contamination, Zooplankton, *Keratella cochlearis Gosse*, Adaptive Evolution

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

淡水生态系统的重金属污染是工业化国家普遍遭遇的问题。重金属具有剧毒，在自然环境中无法代谢，在水中积累到一定程度后，会对水生植物和水生动物造成破坏，进而对整个水生生态系统造成破坏。由于重金属在环境中是具有持久性的，所以物种长期接触金属往往会持续一代以上的时间。污染地区的自然种群可能受到选择性压力，导致死亡率增加和繁殖力降低[1]，也可能会使得物种通过表型可塑性的进化或适应性的发展来响应多代暴露于金属，维持种群的续存，然而对野生环境中暴露在污染下的进化反应的研究和理解是有限的[2] [3]。目前研究表明，一些种群已经能够适应污染下的环境，产生了进化[4] [5]，N G Hairston 研究了淡水浮游动物水蚤对其环境中蓝藻丰度增加的选择响应，发现浮游动物能够通过表型可塑性的进化适应蓝藻增加与食物质量的变化[4]。部分学者则验证，有的物种在接触化学污染后未能适应或变得不适应[6] [7]，如 Gregor Rolshausen 验证孔雀鱼对水体环境中石油的污染并不能产生适应和进化，其生长发育受到了污染的影响。

砷，俗称砒，是水生生态系统中天然存在的一种金属，是一种有毒并具有持续性危害的类金属污染物[8]。被认为是低浓度的有毒暴露，因为它可以作为生物替代品过程中的基本元素，通过替代磷酸酶产生磷，这反过来又可能破坏能源生产[9]。砷对人体具有高度危害性，世界卫生组织制定的饮用水标准将砷含量规定为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。然而，受人类活动的影响，包括采矿活动、煤炭燃烧、农药和杀虫剂使用等，大量的砷被释放到环境中，这些砷通过流域进入河流或湖泊，最终会污染水体。当砷积累到一定浓度，不仅会对水中各种生物直接造成危害，还会通过食物链和食物网的传播间接影响水生生物。针对湖泊砷污

染的研究, Hong 等[10]研究了淡水生物学中砷的形态, 以便通过分析不同的淡水介质样本(浮游动物、悬浮颗粒物和水质)更好地了解砷的分布和生物累积行为。Barrett 等[11]研究了砷在水体不同层次中对浮游动物和浮游植物的迁移和积累行为。有关砷污染的研究大多集中在急性毒理实验中, 但水生生物种能否在砷污染湖泊中快速适应并进化以维持物种生存仍有待研究。

本研究旨在探讨在砷污染水体中, 物种是否可以通过自然群落选择向砷进化。在室内培养时添加三种不同浓度的砷(0 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$), 对群落进行为期一年的自然选择。自然选择后, 挑选在三个砷浓度下都存活的物种, 研究在不同的砷浓度选择条件下, 种群是否对砷产生适应进化。

2. 材料与方法

2.1. 试验生物

选取云南师范大学校园湖未受到砷污染的水体为采样对象从校园湖里用 64 μm 浮游生物网采集浮游动物(轮虫, 枝角类、桡足类), 将从自然水体中获得的浮游动物混合均匀后平均分配到 12 个体积为 120 L 的实验单元中。实验前期, 任意选取 4 个实验单元添加砷酸钠使砷浓度达到 50 $\mu\text{g/L}$, 选取另外 4 个实验单元添加砷酸钠使砷浓度达到 150 $\mu\text{g/L}$, 最后 4 个实验单元不添加砷, 作为对照组。实验持续一年以上, 使浮游动物群落在 3 种砷浓度(0 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$)条件下生长。控制室内温度在 20 $^{\circ}\text{C}$ ~25 $^{\circ}\text{C}$, 光周期 12 h:12 h, 定期向实验单元添加营养盐, 避免浮游生物死亡后沉积, 带走营养盐造成营养水平不一致, 也起到维持浮游植物生长, 为浮游动物持续提供食物的作用。

在选择实验结束后, 检查所有实验单元的浮游动物种类, 选取在所有砷浓度下均存在的同一个种来开展进化实验。检查筛选后发现共有种为螺形龟甲轮虫。按砷浓度, 从相同浓度的四个实验单元里中分离出一定数量的螺形龟甲轮虫组成 1 个种群, 共组成无砷(0 $\mu\text{g/L}$)、低砷(50 $\mu\text{g/L}$)、高砷(150 $\mu\text{g/L}$)三个种群, 待螺形龟甲轮虫繁殖 2 个世代去除母体效应后作为实验对象开展实验。

螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis* Gosse)隶属于单巢目、臂尾轮科、龟甲轮属, 广泛分布于世界各地的淡水湖泊和池塘等水体[12] [13], 对不同温度、盐度、水体营养状态都具有较强耐受性。螺形龟甲轮虫具有较强的表型可塑性, 易于鉴定和测量, 这使其成为轮虫多态性进化及对环境变化响应研究的理想模型[14] [15]。

2.2. 试验方法

将去除母体效应的三个螺形龟甲轮虫幼体种群转移到容量为 5 ml 细胞孔。每 3 d 更换 1 次培养液(BG11), 每两天喂食小球藻 *Chlorella*。小球藻参照 OECD 化学品测试准则“201”中绿藻的要求培养。投饵密度为 0.5×10^6 cells/mL, 每天监测小球藻的密度, 待其稀释到投饵密度后再喂食。砷酸钠砷浓度设置为四个梯度, 分别为 200 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 300 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$ 。

将去除母体效应后的无砷(0 $\mu\text{g/L}$)、低砷(50 $\mu\text{g/L}$)、高砷(150 $\mu\text{g/L}$)螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis* Gosse)种群分别向四个砷梯度(200 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 300 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$)转移 20 只, 共 12 个实验单元。在无光照条件下培养 3 天后, 检查每个实验单元种群的存活个体数、死亡个体数、出生个体数, 再随机从三个种群中随机挑选 20 个存活个体, 转移有新鲜培养基和相应砷浓度的细胞板中, 待培养 3 天后按照上述方法对螺形龟甲轮虫进行检验和计数。此步骤共重复 4 次, 由于高浓度死亡数较多后面采用一天观察一次, 重复五次, 实验共持续 17 天。

2.3. 数据处理

计算各实验单元的出生率、死亡率和自然增长率。采用单因素方差分析——LSD 检验, 比较对照组与各处理组间各项指标的差异显著性。采用双因素方差分析对各响应变量进行统计分析, 当 $P < 0.05$ 时视为存在显著性差异。

3. 结果与分析

3.1. 种群出生率

各种群出生率见图 1、图 2。无砷组种群的出生率极低，几乎为零，而低砷组和高砷组的出生率均值在 200 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.22 和 0.29；在 250 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.13 和 0.26；在 350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.13 和 0.08；在 350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下为 0.19 和 0.18。低砷高砷组的种群出生率均值均高于无砷组，且无砷组种群出生率与低砷组种群出生率之间具有显著性差异($P < 0.05$)；而低砷组与高砷组的出生率并无显著性差异。说明不同砷浓度下均可产生选择进化，且在砷条件下选择的种群面对砷胁迫时能显著提高出生率以适应砷胁迫。

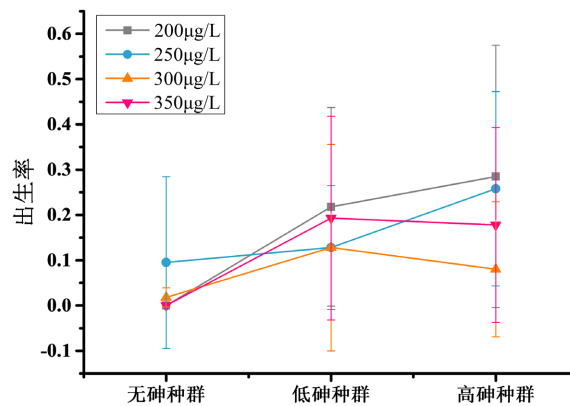
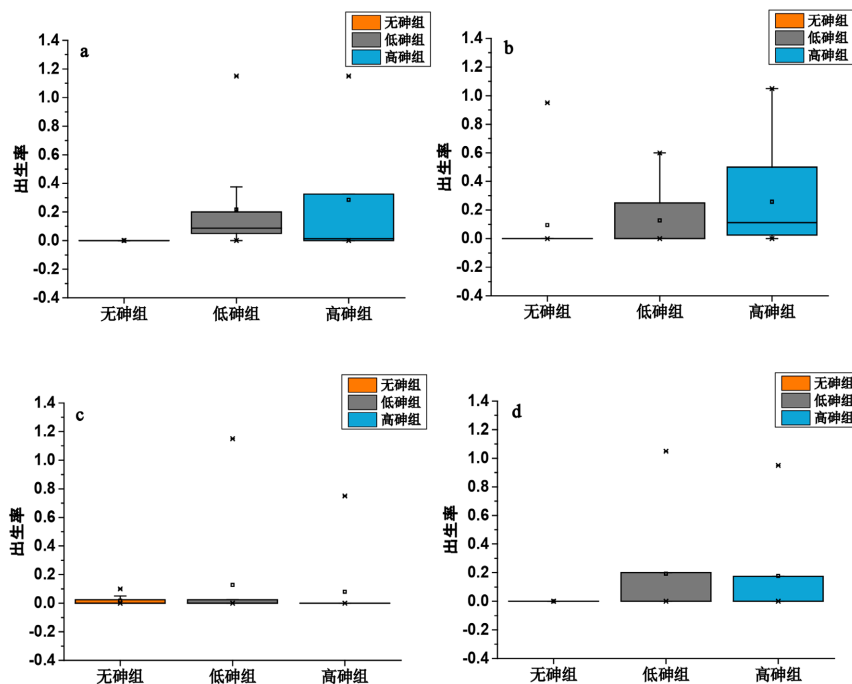


Figure 1. Population birth rate

图 1. 种群出生率



(图(a)~(d)依次为 200 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 300 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$ 四个砷浓度下的种群出生率箱线图)

Figure 2. Box plot of population birth rate

图 2. 种群出生率箱线图

3.2. 种群死亡率

各种群死亡率见图 3、图 4。三个种群在 200 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率均值分别为 0.12、0.08 和 0.04；250 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率均值分别为 0.13/0.12 和 0.04；300 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率分别为 0.16、0.06 和 0.07；350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率分别为 0.169、0.09 和 0.05。低砷组和高砷组的死亡率并无显著差异($P > 0.05$),但在 250 $\mu\text{g/L}$ 和 300 $\mu\text{g/L}$ 下无砷组的死亡率明显高于低砷和高砷组($P < 0.05$),而随着砷浓度的上升,低砷高砷组的死亡率也是有所增加,但仍显著低于无砷组。说明在高浓度下,砷实验组的优势会见底,种群数量也会呈现下降趋势。由此可见,在胁迫条件下生存的种群可以通过显著降低死亡率以适应砷胁迫。

虽然种群进化后可以耐受一定浓度的污染物,但也不是无限制的,在超高浓度下,可能会短时间内大量死亡,无法完成胁迫条件下选择进化。

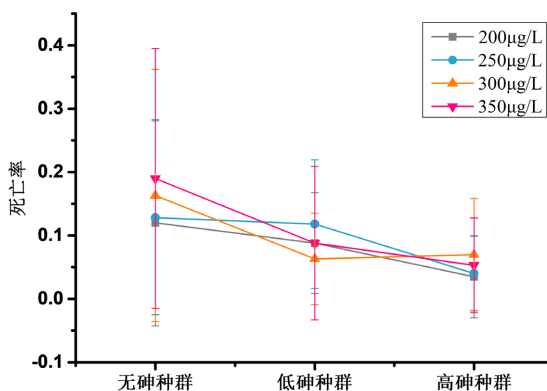
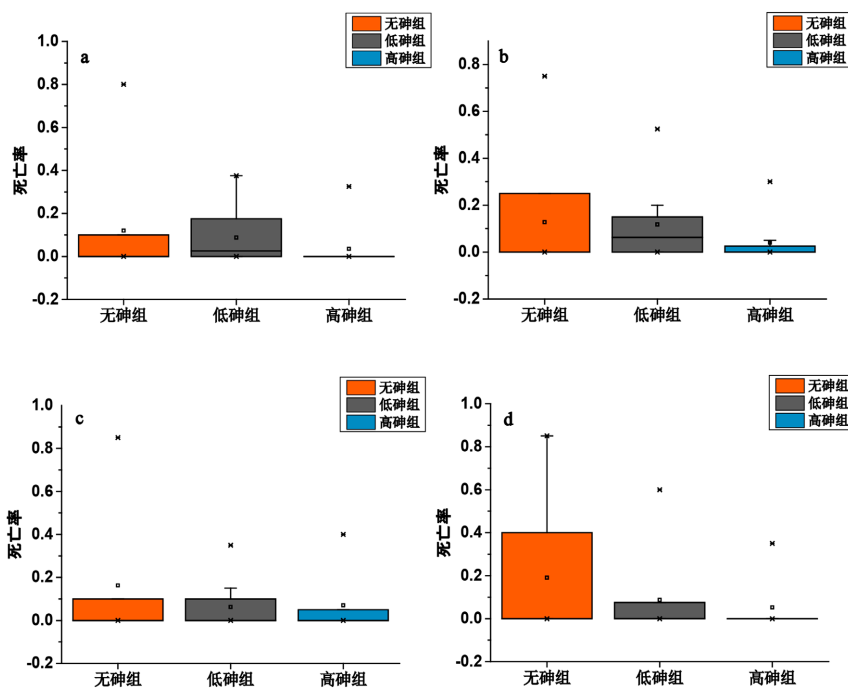


Figure 3. Population mortality
图 3. 种群死亡率



(图(a)~(d)依次为 200 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 300 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$ 四个砷浓度下的种群死亡率箱线图)

Figure 4. Box plot of population mortality
图 4. 种群死亡率箱线图

3.3. 种群增长率

种群增长率如图 5、图 6 所示。在 200 $\mu\text{g/l}$ 的浓度上，无砷组的生长率为负值，而低砷高砷的则呈正增长。且低砷高砷与无砷空白克隆之间有显著差异($P < 0.01$)，说明在砷环境下生存下来的种群，再次面对砷环境时其增长率更高。而在更高浓度 250 $\mu\text{g/L}$ 下，低砷高砷种群增长率均有所下降，且与低砷种群之间差异不显著。在 300 $\mu\text{g/L}$ 以及高浓度 350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下，低砷高砷种群的增长率均低于 0，呈现了负增长趋势。虽然在砷环境下上涨的种群比在无砷环境下生长的种群更加适应高砷环境，但是在超过某个浓度限度之后就会呈现负增长趋势，以至于导致种群的消失甚至灭亡。过高的污染浓度会对浮游动物的生理指标造成影响，林汝榕等检测中华哲水蚤氨基酸含量的变化作为生理指标，证实低浓度重金属对动物有刺激效应，能使其活动加强，氨基酸含量明显提高，浓度提高则产生抑制效应[16]。

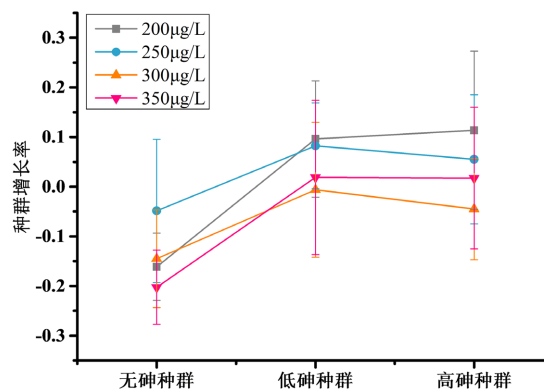
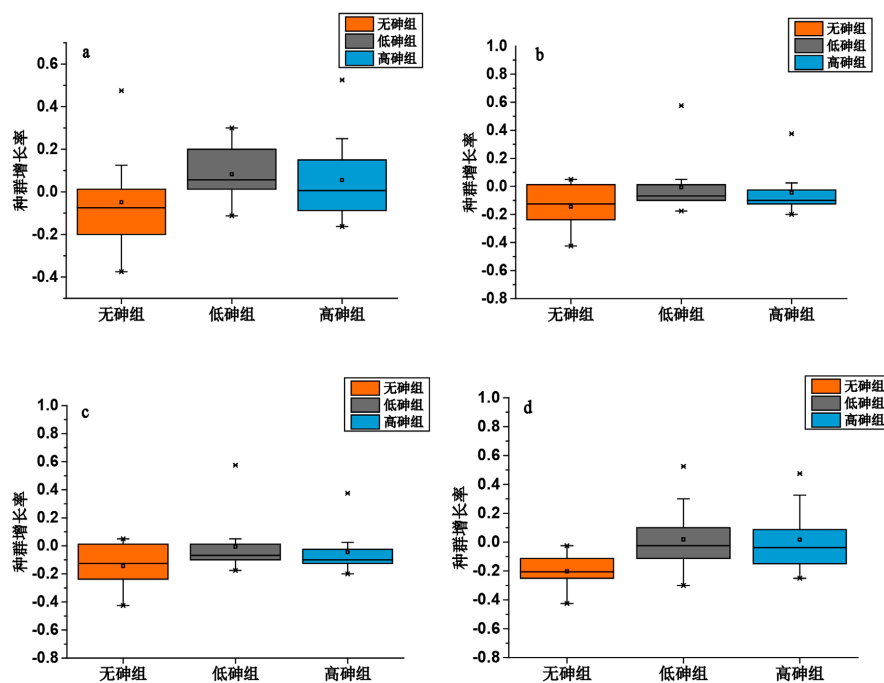


Figure 5. Population growth rate

图 5. 种群增长率



(图(a)~(d)依次为 200 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 300 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$ 四个砷浓度下的种群增长率箱线图)

Figure 6. Box plot of population growth rate

图 6. 种群增长率箱线图

对比低砷(50 $\mu\text{g/L}$)和高砷(150 $\mu\text{g/L}$)选择下的种群发现,不同砷浓度下的环境选择对螺形龟甲轮虫进化能力影响较小,其都能在高浓度 200 $\mu\text{g/L}$ 下适应且其增长率之间无显著差异,在超过 300 $\mu\text{g/L}$ 之后,也均出现了负增长的情况。

4. 结论

1) 在不同砷浓度下,无砷组种群的出生率几乎为 0,而低砷组和高砷组的出生率均值在 200 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.22 和 0.29;在 250 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.13 和 0.26;在 350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下分别为 0.13 和 0.08;在 350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下为 0.19 和 0.18。由此可见,在砷污染环境选择下的种群与原始没有污染的种群,面对有砷环境时,有砷污染历史的种群能更好适应环境的污染,其出生率比没有污染历史的种群高 10%~20%左右。

2) 无砷(0 g/L)、低砷(50 g/L)、高砷(150 g/L)三个种群在 200 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率均值分别为 0.12、0.08 和 0.04;250 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率均值分别为 0.13、0.12 和 0.04;300 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率分别为 0.16、0.06 和 0.07;350 $\mu\text{g/L}$ 的砷浓度下死亡率分别为 0.169、0.09 和 0.05。无砷环境下选择的种群死亡率是高于低砷和高砷环境下生长的种群,说明有砷污染背景的种群能提高种群对砷污染物的耐受能力,减少死亡率。

3) 在砷环境选择下的螺形龟甲轮虫种群对砷酸钠产生了适应进化,主要表现为提高种群出生率和降低种群的死亡率,进而维持了种群在有砷环境下的续存。在不同砷浓度下选择进化并不影响螺形龟甲轮虫的进化效果,无论是在低砷(50 g/L)还是高砷(150 g/L)环境中选择的螺形龟甲轮虫种群,均对砷环境产生了适应进化,因此说明砷浓度不影响进化效果。

5. 不足与讨论

不同的浮游动物物种,对污染物的耐受性也不尽相同,轮虫的个体较小,世代时间短,在短时间内可以繁殖多代以不断调整适应进化。而枝角类桡足类的机理尚不明确,可能还需要类似的实验进行检验说明。

该实验只是验证了在环境砷浓度下生活的螺形龟甲轮虫是否产生了进化,只停留在生活史参数,并未探索到生理指标方面考察具体是因为什么生理指标的变化导致的。

参考文献

- [1] Barata, C. and Baird, D.J. (2000) Determining the Ecotoxicological Mode of Action of Chemicals from Measurements Made on Individuals: Results from Instar-Based Tests with *Daphnia Magna* Straus. *Aquatic Toxicology*, **48**, 195-209. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00038-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00038-7)
- [2] Bickham, J.W. (2011) The Four Cornerstones of Evolutionary Toxicology. *Ecotoxicology*, **20**, 497-502. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0636-y>
- [3] Coutellec, M.A. and Barata, C. (2013) Special Issue on Long-Term Ecotoxicological Effects: An Introduction. *Ecotoxicology*, **22**, 763-766. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1092-7>
- [4] Hairston Jr., N.G., Holtmeier, C.L., Lampert, W., et al. (2001) Natural Selection for Grazer Resistance to Toxic Cyanobacteria: Evolution of Phenotypic Plasticity? *Evolution*, **55**, 2203-2214. [https://doi.org/10.1554/0014-3820\(2001\)055\[2203:NSFGRT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1554/0014-3820(2001)055[2203:NSFGRT]2.0.CO;2)
- [5] Ponti, B., Piscia, R., Bettinetti, R. and Manca, M. (2010) Long-Term Adaptation of *Daphnia* to Toxic Environment in Lake Orta: The Effects of Short-Term Exposure to Copper and Acidification. *Journal of Limnology*, **69**, 217-224. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2010.217>
- [6] Rolshausen, G., Phillip, D.A.T., Beckles, D.M., et al. (2015) Do Stressful Conditions Make Adaptation Difficult? Guppies in the Oil-Polluted Environments of Southern Trinidad. *Evolutionary Applications*, **8**, 854-870. <https://doi.org/10.1111/eva.12289>
- [7] Brady, S.P. (2012) Road to Evolution? Local Adaptation to Road Adjacency in an Amphibian (*Ambystoma macula-*

- tum). *Scientific Reports*, **2**, Article No. 235. <https://doi.org/10.1038/srep00235>
- [8] 赵璇, 吴天宝, 叶裕才. 我国饮用水源的重金属污染及治理技术深化问题[J]. 给水排水, 1998(10): 22-25.
- [9] Hopenhayn, C. (2006) Arsenic in Drinking Water: Impact on Human Health. *Elements*, **2**, 103-107. <https://doi.org/10.2113/gselements.2.2.103>
- [10] Hong, S., Choi, S.D. and Khim, J.S. (2018) Arsenic Speciation in Environmental Multimedia Samples from the Youngsan River Estuary, Korea: A Comparison between Freshwater and Saltwater. *Environmental Pollution*, **237**, 842-850. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.020>
- [11] Barrett, P.M., Hull, E.A., King, C.E., et al. (2018) Increased Exposure of Plankton to Arsenic in Contaminated Weakly-Stratified Lakes. *Science of the Total Environment*, **625**, 1606-1614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.336>
- [12] Green, J. (1987) *Keratella cochlearis* (Gosse) in Africa. *Hydrobiologia*, **147**, 3-8. <https://doi.org/10.1007/BF00025719>
- [13] Segers, H. (2007) Annotated Checklist of the Rotifers (Phylum Rotifera), with Notes on Nomenclature, Taxonomy and Distribution. *Zootaxa*, **1564**, 1-104. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1564.1.1>
- [14] Cieplinski, A., Weisse, T. and Obertegger, U. (2017) High Diversity in *Keratella cochlearis* (Rotifera, Monogononta): Morphological and Genetic Evidence. *Hydrobiologia*, **796**, 145-159. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2781-z>
- [15] Ramos-Rodríguez, E., Moreno, E. and Conde-Porcuna, J.M. (2020) Intraspecific Variation in Sensitivity to Food Availability and temperature-Induced Phenotypic Plasticity in the Rotifer *Keratella cochlearis*. *Journal of Experimental Biology*, **223**, Article ID: jeb209676. <https://doi.org/10.1242/jeb.209676>
- [16] Manduzio, H., Monsinjon, T., Rocher, B., Leboulenger, F. and Galap, C. (2003) Characterization of an Inducible Isoform of the Cu/Zn Superoxide Dismutase in the Blue Mussel *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, **64**, 73-83. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00026-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00026-2)