

林祥龙, 孙在金, 马 瑾, 等. 不同形态锑对土壤白符跳(*Folsomia candida*)的毒性差异[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(4): 657–664.

LIN Xiang-long, SUN Zai-jin, MA Jin, et al. Toxicity differences of different forms of antimony to soil-dwelling springtail (*Folsomia candida*) [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(4): 657–664.

不同形态锑对土壤白符跳(*Folsomia candida*)的毒性差异

林祥龙¹, 孙在金¹, 马 瑾¹, 赵 龙¹, 秦晓鹏¹, 赵淑婷², 杨 侨³, 侯 红^{1*}

(1. 中国环境科学研究院, 环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012; 2. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650100; 3. 中国地质大学(北京)土地科学技术学院, 北京 100083)

摘 要:为探讨锑(Sb)形态对 Sb 毒性的影响, 积累和完善 Sb 的基础毒性数据, 为 Sb 的生态风险评估提供更全面的依据, 通过滤纸接触试验、土壤和食物暴露试验, 评价并对比了两种形态的锑(Sb^{III} 和 Sb^V)对模式生物白符跳(*Folsomia candida*)的急性、慢性毒性效应及差异。滤纸试验中跳虫在不同浓度 Sb^V 水溶液浸透的滤纸上暴露 3 d 和 7 d 后均无死亡现象, Sb^{III} 对跳虫的半数致死浓度(LC₅₀)分别为 325 mg·L⁻¹(3 d)和 244 mg·L⁻¹(7 d); 土壤暴露试验中 Sb^{III} 和 Sb^V 对跳虫逃避行为的半数效应浓度(EC₅₀)分别为 132、344 mg·kg⁻¹, Sb^{III} 对跳虫的 7 d-LC₅₀ 为 2105 mg·kg⁻¹(Sb^V 的 LC₅₀ 大于设置的最高浓度), Sb^{III} 对跳虫的 28 d-LC₅₀ 为 703 mg·kg⁻¹(Sb^V 的 LC₅₀ 大于设置的最高浓度), Sb^{III} 和 Sb^V 对跳虫繁殖的 28 d-EC₅₀ 分别为 307、8501 mg·kg⁻¹; 食物暴露试验中 Sb^{III} 和 Sb^V 处理下跳虫成虫均无明显死亡, 对跳虫繁殖的 28 d-EC₅₀ 分别为 433、8798 mg·kg⁻¹。试验结果表明, 在设置的浓度范围内 Sb^V 不会直接造成跳虫明显死亡, 但会对跳虫的生理行为和繁殖产生一定毒性影响, 而 Sb^{III} 对跳虫存活和繁殖均有较大毒性。因此在评估 Sb 的毒性效应时既要考虑总量也需考虑形态。

关键词: 锑形态; 毒性差异; 白符跳; 暴露途径

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2017)04-0657-08 doi:10.11654/jaes.2016-1490

Toxicity differences of different forms of antimony to soil-dwelling springtail(*Folsomia candida*)

LIN Xiang-long¹, SUN Zai-jin¹, MA Jin¹, ZHAO Long¹, QIN Xiao-peng¹, ZHAO Shu-ting², YANG Qiao³, HOU Hong^{1*}

(1. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650100, China; 3. College of Land Science and Technology, China University of Geosciences, Beijing 100083, China)

Abstract: To explore the effect of antimony forms on its toxicity, we evaluated the acute and chronic toxic effects of two forms of antimony (Sb^{III} and Sb^V) to *Folsomia candida* using filter paper contact experiment, soil and food exposure experiment. In filter paper contact experiment, the LC₅₀ values for Sb^{III} were 325 mg·L⁻¹ (3 d), 244 mg·L⁻¹ (7 d), respectively, but the survival of *F. candida* was not affected by Sb^V. In soil exposure experiment, the EC₅₀ values of acute avoidance were 132, 344 mg·kg⁻¹, respectively; the LC₅₀ value of acute survival for Sb^{III} was 2105 mg·kg⁻¹ (the mortality did not reach 50% in setting concentration range of Sb^V); The LC₅₀ value of chronic survival for Sb^{III} was 703 mg·kg⁻¹ (the LC₅₀ for Sb^V was higher than the highest antimony concentration), the EC₅₀ values of chronic reproduction were 307, 8501 mg·kg⁻¹, respectively. In food exposure experiment, there were no obvious death of *Folsomia candida* in Sb^{III} or Sb^V treatments, the EC₅₀ values of chronic reproduction were 433, 8798 mg·kg⁻¹, respectively. The results showed that Sb^V could not cause the death of the springtail di-

收稿日期: 2016-11-23

作者简介: 林祥龙(1991—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 从事土壤锑基准研究。E-mail: m15110038821@163.com

* 通信作者: 侯 红 E-mail: houthong@craes.org.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0800400)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China(2016YFD0800400)

rectly, but impact on its physiological behavior and reproduction, whereas the toxicity of Sb^{III} was more significant than that of Sb^{V} . Therefore, when assessing the toxic effects of Sb, both the total amount and the different forms should be considered. This study can accumulate and supplement the toxicity data as well as provide a more comprehensive basis for ecological risk assessment of Sb.

Keywords: forms of antimony; toxicity differences; *Folsomia candida*; exposure routes

锑(Sb)是与As同主族的一种类金属元素,存在于一百多种矿物中^[1]。由于含Sb产品(阻燃剂、刹车片、子弹壳等)在生产生活中的广泛应用和矿山开采、金属冶炼、废物焚烧等人类活动的排放,土壤Sb污染问题已越来越严重^[2-3],特别是在中国南方一些地区。余玮等^[4]调查发现,湖南冷水江Sb矿区9个土壤采样点的Sb含量超过全国土壤背景值(平均含量为 $1.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的40~11 503倍。Sb是生物非必需元素,环境中高含量的Sb会对生物产生毒性和致癌性^[5]。作为一种全球性污染物,欧盟(EU)和美国环保署(USEPA)将Sb及其化合物列为优先控制的污染物^[6],世界卫生组织(WHO)建议的土壤Sb最高允许浓度为 $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[7]。与As、Cr等元素一样,Sb及其化合物的环境化学行为、毒性大小取决于Sb的氧化形态及其结合体^[8]。研究表明有机Sb的毒性一般较无机Sb毒性小,不同价态的无机Sb的毒性大小顺序为 $\text{Sb}(\text{单质}) > \text{Sb}^{\text{I}} > \text{Sb}^{\text{V}}$, Sb^{III} 的毒性大约是 Sb^{V} 的10倍^[9-10]。因此在评估Sb的毒性效应时既要考虑总量也需考虑其形态。随着人们对Sb毒性及其环境风险越来越关注,国内外已开展了较多有关不同形态Sb对植物^[5,11-13]、微生物^[14-15]毒性的研究,而针对不同形态Sb对土壤跳虫毒性效应的研究较少。

跳虫是广泛分布于土壤中的无脊椎动物,在土壤生态系统中扮演重要角色^[16],其中白符跳(*Folsomia candida*)由于具有生长周期短、繁殖快、操作简便、评价指标多(死亡率、繁殖率和生长率等)等优势,在生态毒理实验中应用最为广泛且技术最为成熟,被国际标准化组织(ISO)规定为评价化学品生态毒性的模式生物^[16]。国内开展土壤跳虫生态毒性的研究较晚,主要集中在Cu、Hg等重金属以及农药、阻燃剂等有机物方面^[17-21]。目前一般利用滤纸接触法、土壤和食物暴露法进行跳虫毒理实验,其中滤纸接触法虽然反映的只是简化的土壤溶液中化学品对跳虫的急性毒性,并

不能完全反映真实的土壤环境对其毒性的影响,但该方法简单快捷,可用于跳虫潜在毒性的早期评估^[19];食物暴露实验可以消除土壤性质等复杂因素对化学品毒性的影响,尽可能针对化学品本身毒性^[21]。

本研究以跳虫为受试生物,参照ISO标准方法指南^[22-23]和其他文献^[19-21],开展滤纸接触试验、土壤和食物暴露试验,研究两种形态的锑(Sb^{III} 和 Sb^{V})对跳虫的急性、慢性毒性效应及差异,以积累和完善Sb的基础毒性数据,为Sb的生态风险评估提供更全面的依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

主要试剂:酒石酸锑钾($\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sb^{III})和焦锑酸钾[$\text{KSb}(\text{OH})_6$, Sb^{V}],来自天津精科精细化工研究所,固体颗粒,纯度均大于95%。

供试土壤:试验所用的未被Sb污染的潮土采自中国环境科学研究院表层土(0~20 cm)。使用前在室内自然条件下风干,剔除植物根系及石块后过2 mm筛,测定土壤理化性质(表1)。具体测定方法为:pH采用电极法;有机质(OM)采用重铬酸钾氧化法^[24];阳离子交换量(CEC)采用非缓冲硫脲银法^[25];土壤质地采用激光粒度仪;土壤铁锰铝和Sb总量采用湿式消解法($\text{HF}-\text{HClO}_4-\text{HNO}_3$)前处理,然后分别用ICP-OES和ICP-MS测定^[26]。

供试跳虫:孤雌生殖的跳虫(*Folsomia candida*)由中国科学院南京土壤所提供,参照ISO 11267的方法,饲养在培养皿(90 mm×13 mm)中,培养皿底部铺有约0.5 cm厚的培养基(活性炭与熟石膏质量比为1:9,加去离子水搅拌均匀,待其凝固成形后放置3 d待用)。采用干酵母作为跳虫的食物,使用人工气候箱控制饲养条件,其中温度为 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照与黑暗比为16 h:8 h(光照强度为400~800 lx),空气湿度为

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 The basic physical and chemical properties of test soil

项目	pH	OM/%	CEC/ $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	总铁/%	总锰/%	总铝/%	黏粒/%	粉粒/%	砂粒/%	背景Sb/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
数值	8.2	1.1	9.2	7.2	0.1	17.5	12.9	23.2	63.9	1.1

75%。每 3 d 打开盖子补足空气,必要时为每个培养基适当补充相同量的去离子水和食物,及时清除培养基表面发霉的食物残渣和死亡的跳虫尸体,保持培养基表面清洁湿润,每两个月更换一次培养基。

为降低跳虫虫龄和个体大小差异对试验的影响,试验前需进行跳虫同龄化培养。将培养皿中 150~200 只成虫移入新制培养皿,加入少量干酵母(约 5 mg),在人工气候箱中培养(培养条件与前面所述饲养条件相同),待跳虫在培养基表面产卵并孵化出幼虫后,移走成虫,3 d 后将幼虫转移到新培养皿中培养,继续培养 7~9 d 后可用于正式试验。

1.2 实验方法

1.2.1 外源 Sb 的添加与测定

滤纸试验所用 Sb 水溶液配制方法:分别称取一定量的酒石酸锑钾和焦锑酸钾固体颗粒溶于 20 mL 去离子水中,参考 Krogh 等^[27]的方法,配成 Sb^{III} 和 Sb^{V} 的水溶液,浓度均为 0、80、160、320、640 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

土壤中外源 Sb^{III} 以酒石酸锑钾水溶液的方式进行添加。由于焦锑酸钾溶解度较低,参照 ISO 11267 指南,对既不溶于水也不溶于有机溶剂的化学品,将其粉末直接拌入石英砂中,添加去离子水后与土壤充分搅拌均匀。土壤 Sb 浓度设置如表 2 所示。于温室中对添加 Sb 的土壤进行 1 周的老化,在此期间通过添加去离子水保持土壤水分为最大可持水量的 50%~55%。老化结束后风干过 2 mm 筛,称取 2 g 土壤样品置于 50 mL 塑料离心管中,加入 20 mL 去离子水,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 2 h 后,于 4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 的醋酸纤维滤膜过滤,用 ICP-MS 测定滤液中 Sb 浓度^[28]。

食物中外源 Sb^{III} 添加方法:称取一定量的酒石酸锑钾溶于 20 mL 去离子水中,配成不同浓度的溶液,然后与一定量的干酵母混合均匀,配成含 Sb^{III} 的酵母溶液。 Sb^{V} 添加方法:将焦锑酸钾直接拌入石英砂中,加 20 mL 去离子水后与酵母充分搅拌均匀。上述染毒的酵母置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存待用。食物中 Sb 浓度与土壤慢性试验中 Sb 浓度相同。

1.2.2 滤纸接触试验

在培养皿中铺垫中性定性滤纸,用移液枪吸取不同浓度的 Sb 水溶液使其刚好浸透滤纸,每隔 24 h 加入微量去离子水维持滤纸湿度。各培养皿中放入 10 只同步化的跳虫,每个浓度 3 个重复,放入人工气候箱培养,分别于 3 d 和 7 d 后记录跳虫死亡数。

1.2.3 食物暴露试验

用移液枪移取 150 μL 含 Sb^{III} 或 Sb^{V} 的酵母溶液加到培养皿中的小盖玻片上,放入 10 只 10~12 d 虫龄的跳虫,每浓度设 4 个重复,盖上盖子后放入人工气候箱中培养 28 d,培养条件同跳虫饲养条件。每周开盖通气 3 次,并补充少量去离子水。培养结束后,用水浮法(活的跳虫会浮在水面上)对成虫和繁殖的幼虫进行计数。

1.2.4 土壤暴露试验

急性逃避试验:用塑料隔板将圆柱形玻璃杯(直径 6 cm,高 11 cm)分隔为两部分,分别加入 30 g 老化后湿润的 Sb^{III} 或 Sb^{V} 污染的土壤和清洁对照土壤后,将隔板取出,在玻璃杯的中心位置加入 20 只 10~12 d 虫龄的跳虫,每浓度设 4 个重复,盖上玻璃杯盖子,在人工气候箱中培养,培养条件同跳虫饲养条件。培养 48 h 后取出玻璃杯,加入隔板,将两部分土壤分别取出,用水浮法对两种土样中的跳虫进行计数。逃避率计算公式如下^[29]:

$$x = n_c / N \times 100\%$$

式中: x 为逃避率; n_c 为对照土壤中跳虫数量; N 为加入土壤中的跳虫总数。

急性存活试验:称取 30 g 老化 1 周且含水量为最大可持水量 50%~55%的 Sb^{III} 或 Sb^{V} 污染的土样于有机玻璃杯,加入 10 只 10~12 d 虫龄的跳虫,每浓度设 4 个重复,加盖后放在人工气候箱中培养 7 d,培养过程中不添加酵母,其他培养条件同跳虫饲养条件。培养结束后,用水浮法对存活的跳虫进行计数。

慢性毒性试验:称取 30 g 老化 1 周且含水量为最大可持水量 50%~55%的 Sb^{III} 或 Sb^{V} 污染土样于有机玻璃杯,加入 10 只 10~12 d 虫龄的跳虫,实验组处理设 4 个重复,对照组为 6 个重复,加入 5 mg 干酵母,盖上盖子后放在人工气候箱中培养 28 d,培养条

表 2 土壤暴露试验中 Sb 浓度的设置($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 2 The concentrations of antimony in tested soil($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

锑形态	急性逃避试验 Acute avoidance test	急性存活试验 Acute survival test	慢性毒性试验 Chronic toxic test
Sb^{III}	0、50、100、200、400	0、800、1600、2400、4800	0、100、200、400、800、1600
Sb^{V}	0、50、100、200、400	0、2400、4800、9600、19 200	0、800、1600、2400、4800、9600

件同跳虫饲养条件。一周开盖通气3次,并补充少量去离子水和干酵母,培养结束后,用水浮法对存活的成虫和繁殖的幼虫进行计数。

1.3 数据处理

采用 Excel、SPSS 软件对试验数据进行处理和显著性差异分析,采用 Origin 软件绘图。用 Logistic 非线性回归方程拟合土壤中 Sb 浓度和 Sb 对跳虫的毒性效应并计算毒性阈值:

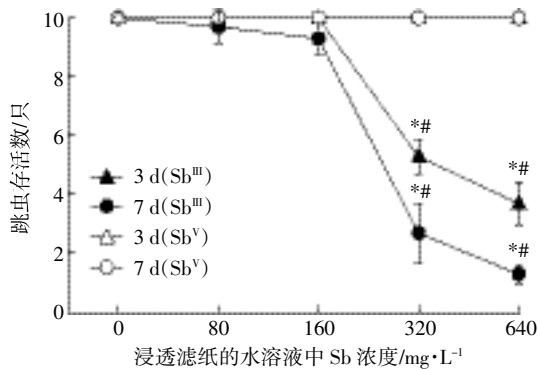
$$Y=c \times \exp(\lg 0.5) \times (\lg C/x^b)$$

式中:Y 为试验组中跳虫存活、繁殖和逃避反应;c 为对照组中跳虫反应; $\lg C$ 为浓度的对数值;x 为半数致死浓度(LC₅₀)或半数效应浓度(EC₅₀);b 为标准参数。

2 结果与分析

2.1 水溶液中两种形态 Sb 对跳虫的毒性差异

如图1所示,跳虫在不同浓度 Sb^V 水溶液浸透的滤纸上暴露3 d和7 d后均无死亡现象,但在 Sb^{III} 水溶液浸透的滤纸上,随着暴露时间和暴露浓度的增加,跳虫存活数量明显减少,暴露时间、暴露浓度与跳虫死亡率显著相关($P<0.05$)。求得水溶液中 Sb^{III} 影响跳虫存活的3 d和7 d的 LC₅₀ 分别为 325 mg·L⁻¹ (258~393 mg·L⁻¹)和 244 mg·L⁻¹ (192~296 mg·L⁻¹),括号中数值范围表示 95%置信区间,下同。



* 表示跟对照相比具有显著差异;# 表示 Sb 浓度相同时, Sb^{III} 毒性显著大于 Sb^V 毒性($P<0.05$)。下同

* indicates significant differences from control; # indicates significant toxicity differences from Sb^V ($P<0.05$). The same below

图1 跳虫在 Sb^{III} 和 Sb^V 水溶液浸透的滤纸上分别暴露 3 d 和 7 d 后的存活数

Figure 1 Survival numbers of *F. candida* exposed to filter paper saturated by Sb solutions for 3 d and 7 d

2.2 土壤中两种形态 Sb 对跳虫的急性毒性差异

如图2所示,逃避试验过程中跳虫在不同浓度

Sb 处理的土壤中没有死亡和失踪的个体,符合 ISO 规定的要求(即跳虫死亡或失踪率小于 10%)。总体而言,在所设置的浓度范围内,随着 Sb^{III} 和 Sb^V 浓度的增加,跳虫的逃避率均逐渐提高,在最大浓度 400 mg·kg⁻¹ 时,跳虫对 Sb^{III} 和 Sb^V 的最高逃避率分别达到 93%和 78%。但与对照组相比, Sb^{III} 浓度为 50 mg·kg⁻¹ 时跳虫逃避率便显著提高,而 Sb^V 浓度达到 200 mg·kg⁻¹ 后对逃避率才有明显影响($P<0.05$)。Sb 浓度相同时,跳虫始终对 Sb^{III} 表现出更显著的逃避行为($P<0.05$)。计算 Sb^{III} 和 Sb^V 影响跳虫逃避行为的 EC₅₀ 分别为 132 mg·kg⁻¹ (91~174 mg·kg⁻¹)和 344 mg·kg⁻¹ (292~396 mg·kg⁻¹),对比 EC₅₀ 值可以发现跳虫对 Sb^{III} 的敏感性更大。

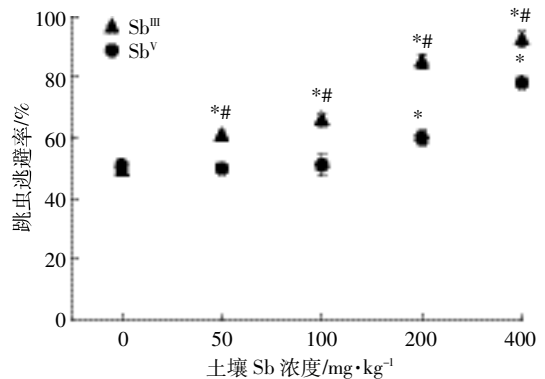


图2 跳虫在添加 Sb 的土壤中暴露 48 h 后的逃避行为
Figure 2 The avoidance behavior of *F. candida* exposed to Sb-spiked soils for 48 h

7 d 的急性存活实验结束后,对照组土壤中跳虫死亡率小于 20%,保证了实验的有效性。如图3所示,跳虫存活数量随着 Sb^{III} 浓度提高而减少,表现出明显的剂量-效应关系。与对照组相比,浓度达到 1600 mg·kg⁻¹ 后跳虫存活率开始显著降低($P<0.05$),在最高浓度 4800 mg·kg⁻¹ 时死亡率达到 100%。而随着土壤中 Sb^V 的浓度不断增加,跳虫存活数与对照土中相比均没有明显差异,即使最高浓度达到 19 200 mg·kg⁻¹,依然对跳虫存活无显著性影响。经计算,急性试验中 Sb^{III} 对跳虫的 LC₅₀ 为 2105 mg·kg⁻¹ (1792~2418 mg·kg⁻¹), Sb^V 对跳虫的 LC₅₀ 大于 19 200 mg·kg⁻¹,即在所设置的浓度范围内, Sb^V 对跳虫没有急性毒性。

2.3 土壤中两种形态 Sb 对跳虫的慢性毒性差异

28 d 的暴露结束后对照组土壤中成虫存活率高于 80%,幼虫数量均高于 100 只,符合 ISO 关于试验有效性的标准^[23]。如图4所示,成虫数量没有随 Sb^V

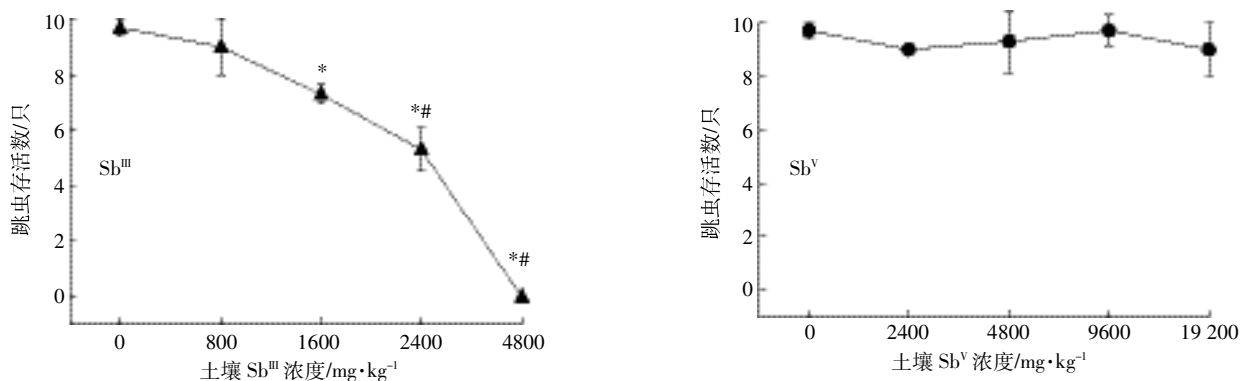


图 3 跳虫在添加 Sb 的土壤中暴露 7 d 后的存活数

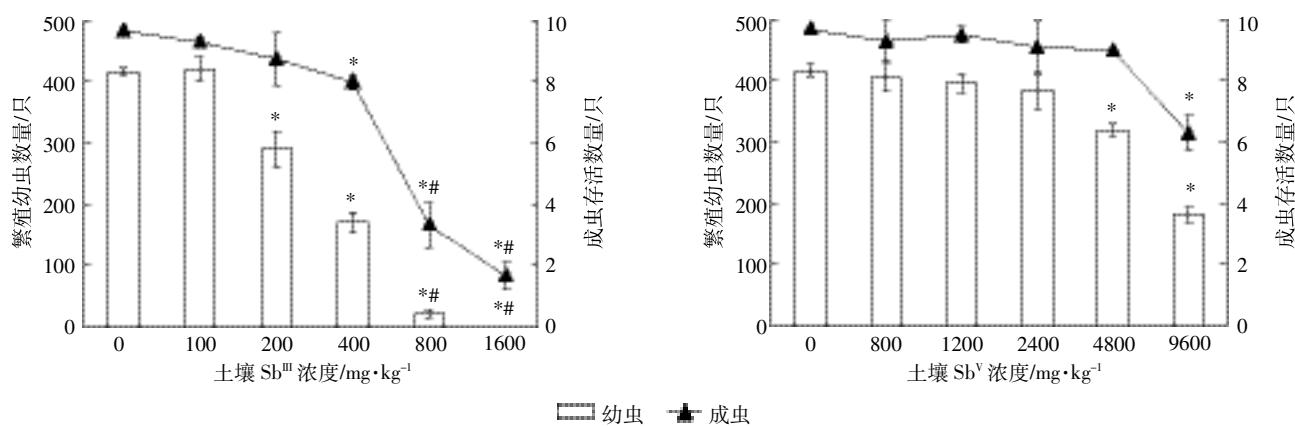
Figure 3 Survival numbers of *F. candida* exposed to Sb-spiked soils for 7 d

图 4 跳虫在添加 Sb 的土壤中暴露 28 d 后的存活数和繁殖数

Figure 4 Survival numbers of adult and juveniles of *F. candida* exposed to Sb-spiked soils for 28 d

浓度的增加而明显减少,仅在最高浓度 $9600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时有部分成虫死亡。虽然随着 Sb^{V} 浓度的增加跳虫的繁殖受到一定抑制,但 Sb^{V} 浓度达到 $4800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后才与对照组有显著性差异 ($P < 0.05$),在最高浓度 $9600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,幼虫数量仅为对照组的 43%。

跳虫成虫和幼虫数量与土壤 Sb^{III} 浓度间均表现出明显的剂量-效应关系,并且繁殖的幼虫数随着成虫存活数的减少而降低。 Sb^{III} 浓度达到 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,成虫存活数量与对照组相比开始出现显著差异 ($P < 0.05$),在最高浓度 $1600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时跳虫存活率仅为 10%。跳虫的繁殖在 Sb^{III} 浓度达到 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时便受到明显抑制, Sb^{III} 浓度为 $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时跳虫繁殖受到严重抑制,幼虫数量仅为对照组的 5%,最高浓度条件下,已没有跳虫被繁殖出来。

经计算,土壤慢性试验中 Sb^{III} 对跳虫死亡的 LC_{50} 为 $703 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($612 \sim 795 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), Sb^{V} 对跳虫死亡的 LC_{50} 大于 $9600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,对跳虫繁殖的 EC_{50} 分别为 $307 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($265 \sim 349 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 $8501 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($7985 \sim 9017 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。可知与跳虫的死亡相比,其繁殖更容

易受 Sb 的毒性影响,土壤 Sb^{III} 对跳虫繁殖的毒性约是 Sb^{V} 的 27 倍。

2.4 食物中两种形态 Sb 对跳虫的慢性毒性差异

如图 5 所示,不同浓度 Sb^{III} 和 Sb^{V} 处理下跳虫均无明显死亡,成活率达到 90% 以上,但实验中发现随着食物中 Sb 浓度增加,成虫体长变短,而且产卵和卵孵化的时间出现延迟,在 Sb^{III} 处理条件下这种情况更加明显。与土壤暴露的情况类似,幼虫数量随食物中 Sb 浓度的增加而减少,且与 Sb^{III} 浓度之间有着更明显的剂量-效应关系。经计算,食物中 Sb^{III} 和 Sb^{V} 对跳虫繁殖的 EC_{50} 分别为 $433 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($376 \sim 491 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 $8798 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($8245 \sim 9351 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。由毒性阈值可知,食物中 Sb^{III} 对跳虫繁殖的毒性约是 Sb^{V} 的 20 倍。

3 讨论

重金属在环境中的生物可利用性和毒性主要取决于它们在环境中的存在形态^[30]。 Sb 不同于 Cu 、 Cd 、 Zn 、 Ni 等重金属,其毒性因氧化形态的不同而异。本研究从不同暴露方式和暴露时间表征了两种形态的

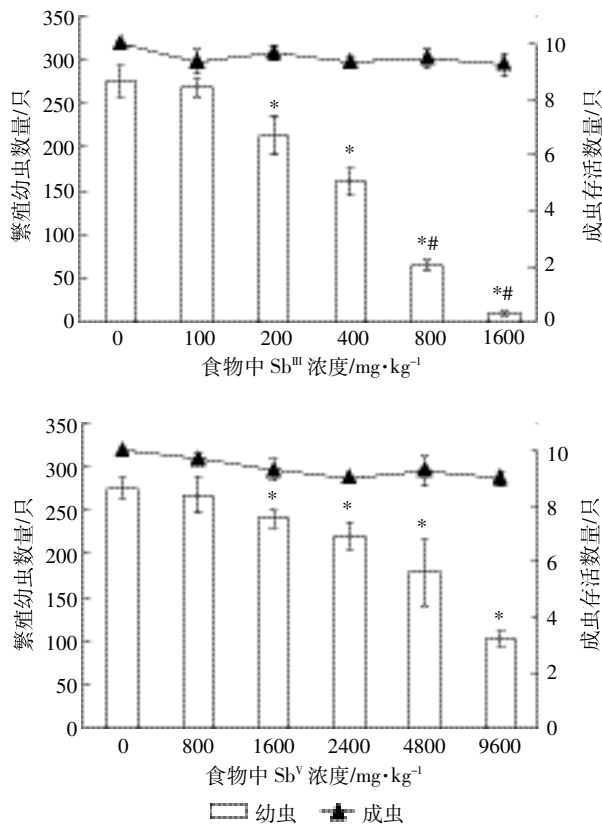


图5 跳虫在添加Sb的食物中暴露28 d后的存活数和繁殖数
Figure 5 Survival numbers of adult and juveniles of *F. candida* exposed to Sb-spiked foods for 28 d

Sb对跳虫的毒性效应及差异,结果表明,Sb^{III}的毒性远大于Sb^V。虽然Kuperman等^[31]向土壤外源添加的Sb^{III}化合物——硫酸锑不同于酒石酸锑钾,但求得的对跳虫繁殖的 EC_{50} ($169 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)也远小于本研究中Sb^V对跳虫繁殖的 EC_{50} ($8501 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。作为与As同一主族的元素,Sb与As有着很多相似的生化性质,研究发现As^{III}的毒性大于As^V,且毒性差异达60倍^[32]。有关Sb对跳虫毒性的研究十分有限,但从有关Sb对植物生态受体的研究中发现Sb的毒性与其形态差异有关^[11-13,33-34]。He等^[12]发现Sb^{III}及Sb^V对水稻(*Oryza sativa* L.)种子萌发、根系的生长及产量都能产生影响,若以产量下降10%作为水稻受害的“临界点”,则土壤中Sb^V的临界浓度约为 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,而Sb^{III}的临界浓度为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。研究认为,不同形态Sb的毒性差异一方面是由于不同形态Sb本身生物可利用性及毒性不同^[11-13,34],另一方面生物体对不同形态Sb吸收、积累、转化和排泄机制的不同也是造成其毒性差异的原因^[35-36]。

研究显示,相比于Sb^V,Sb^{III}更容易被土壤所吸附^[8,11]。

Cai^[37]等和Zhang等^[38]发现环江土对Sb^{III}的吸附量是Sb^V的3.2倍,本研究发现总Sb浓度相同时,添加Sb^V的土壤中水提态Sb浓度更高(图6)。跳虫除了经口摄入重金属外还通过接触土壤溶液中的重金属而导致暴露^[39],如Liu等^[40]发现土壤溶液中Ni浓度与跳虫的毒性效应间有着显著相关性,因此跳虫在添加Sb^V的土壤中会暴露更多的Sb,使土壤Sb^{III}对跳虫毒性效应反而更加明显,这进一步说明Sb^{III}的毒性更大。

本研究发现在试验设置的浓度范围内,Sb^V对跳虫没有急性致死毒性,但影响跳虫逃避生理行为,说明跳虫死亡率的灵敏度要远低于逃避行为的。Ponge等^[41]研究也发现某些污染物虽然对跳虫的毒性不大,却能引起其逃避行为,原因是跳虫能灵敏地感知环境中的毒物胁迫并逃离至更适宜生存的地方^[42]。因此急性逃避试验可用来灵敏地评估Sb对跳虫的生态毒性,而急性存活试验一般作为逃避试验和慢性试验的预试验,有利于更好地确定后续试验的浓度范围。Sb对跳虫的毒性效应通过慢性毒性试验用成虫存活数量和繁殖的幼虫数量两个指标评价,更符合实际情况,由毒性阈值可知,跳虫繁殖对Sb的敏感性高于成虫死亡的敏感性。这可能与跳虫遇到胁迫时往往会通过放弃生殖繁衍来优先适应环境,维持自身生存的生理特征有关^[43]。

跳虫的死亡和繁殖仅对相当高浓度的Sb^V产生毒性响应,但本研究发现随着浓度增加跳虫成虫和幼虫的体长相对变短。先前也有研究表明,成虫体长往往先于繁殖数对污染物产生响应,而且幼虫体长对污染物敏感程度又显著高于成虫体长。这可能是由于污染物通过限制成虫体长增长进而影响其繁殖,幼虫的表面积与体积之比高于成虫,比成虫接触到更多污染物,并且幼虫新生成的体表蜡质较成虫更薄,更易

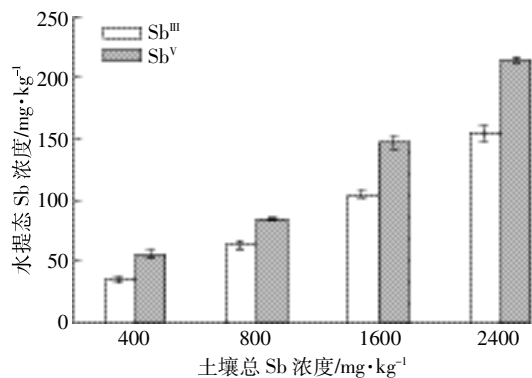


图6 土壤中水提态Sb浓度

Figure 6 The water-extracted antimony concentrations in tested soil

受污染物侵袭^[44]。

本研究仅评价了不同无机形态 Sb 的毒性效应,事实上,Sb 在土壤微生物群落的作用下发生着甲基化现象,并且有研究认为 Sb^{III} 比 Sb^{V} 更容易发生甲基化^[45]。这意味着 Sb 由毒性较大的无机形态转化为毒性较小的有机形态,因此还需进一步研究 Sb 的有机形态特别是甲基化锑对跳虫的毒性。

4 结论

(1)在设置的浓度范围内, Sb^{V} 不会直接造成跳虫明显死亡,但会对跳虫的生理行为和繁殖产生一定毒性影响,而 Sb^{III} 对跳虫存活和繁殖均有着较大毒性,并且其毒性远大于 Sb^{V} 。因此在评估 Sb 的毒性效应时既要考虑总量大小也需考虑形态差异。

(2)由锑毒性阈值可知本研究中跳虫三种评价终点对锑的敏感性由高到低分别为逃避率、死亡率、繁殖数。

(3)鉴于 Sb^{V} 较小的毒性,在后续研究中选用跳虫为受试生物时,有必要选取敏感性更高的指标(成虫和幼虫体长)评价其生态毒性。

参考文献:

- [1] Draggan S. Antimony[R]. Washington: Environmental Information Coalition, National Council for Science, 2008.
- [2] Sharifi R, Moore F, Keshavarzi B. Mobility and chemical fate of arsenic and antimony in water and sediments of Sarouq River catchment, Takab geothermal field, Northwest Iran[J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, 170(4): 136–144.
- [3] Okkenhaug G, Zhu Y, Luo L, et al. Distribution, speciation and availability of antimony(Sb) in soils and terrestrial plants from an active Sb mining area[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(10): 2427–2434.
- [4] 余 玮,邢虎成,黄 明,等.湖南冷水江 Sb 矿区苎麻对重金属的吸收和富集特性[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(1): 91–96.
SHE Wei, XING Hu-cheng, HUANG Ming, et al. Uptake and accumulation of heavy metal by Ramie(*Boehmeria nivea*) growing on antimony mining area in Lengshuijiang City of Hunan Province[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(1): 91–96.
- [5] Feng R W, Wei C Y, Tu S, et al. The uptake and detoxification of antimony by plants: A review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 96: 28–34.
- [6] Johnson C A. Antimony, a challenge for environmental scientists[R]. Lyngby: Technical University of Denmark, 2008.
- [7] Chang A C, Pan G, Page A L, et al. Developing human health-related chemical guidelines for reclaimed waste water and sewage sludge applications in agriculture[R]. Geneva: World Health Organization, 2002.
- [8] Wilson S C, Lockwood P V, Ashley P M, et al. The chemistry and behavior of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: A critical review[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(5): 1169–1181.
- [9] Flynn H C, Meharg A A, Bowyer P K, et al. Antimony bioavailability in mine soils[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 124(1): 93–124.
- [10] Krachler M, Emons H, Zheng J. Speciation of antimony for the 21st century: Promises and pitfalls[J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2001, 20(2): 79–90.
- [11] Antoine P, Muhammad S. Antimony bioavailability: Knowledge and research perspectives for sustainable agricultures[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 289: 219–234.
- [12] He M C, Yang J R. Effects of different forms of antimony on rice during the period of germination and growth and antimony concentration in rice tissue[J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 243/244: 149–155.
- [13] Martin T, Brett R C, Annette J. Antimony uptake and toxicity in sunflower and maize growing in Sb^{III} and Sb^{V} contaminated soil[J]. *Plant Soil*, 2010, 334(1/2): 235–245.
- [14] An Y J, Kim M. Effect of antimony on the microbial growth and the activities of soil enzymes[J]. *Chemosphere*, 2009, 74(5): 654–659.
- [15] Frédérique G, Virgile C, Marie V M. Does antimony affect microbial respiration in Mediterranean soils? A microcosm experiment[J]. *Pedobiologia*, 2014, 57(2): 119–121.
- [16] Fountain M T, Hopkin S P. *Folsomia candida* (Collembola): A “standard” soil arthropod[J]. *Annual Review of Entomology*, 2005, 50(1): 201–222.
- [17] Liu Y R, Zheng Y M, Zhang L M, et al. Effects of mercury on reproduction, avoidance, and heat shock protein gene expression of the soil springtail *Folsomia candida*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(3): 654–659.
- [18] 张 偲,乔 敏,徐玉新.两种有机磷阻燃剂对土壤跳虫的生态毒性[J]. *环境化学*, 2013, 32(3): 337–342.
ZHANG Si, QIAO Min, XU Yu-xin. Ecotoxicity of two organophosphorus flame retardants to soil springtails[J]. *Environmental Chemistry*, 2013, 32(3): 337–342.
- [19] 李晓勇,骆永明,柯 欣,等.土壤弹尾目昆虫对铜污染的急性毒理初步研究[J]. *土壤学报*, 2011, 48(1): 197–201.
LI Xiao-yong, LUO Yong-ming, KE Xin, et al. Acute toxicity of copper pollution to *Folsomia candida* (collembola) in soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(1): 197–201.
- [20] 张 轩,张 偲,王光鹏,等.十溴联苯醚(BDE-209)对土壤跳虫的急慢性毒性效应[J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(4): 389–394.
ZHANG Xuan, ZHANG Si, WANG Guang-peng, et al. Acute and chronic toxic effect of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on soil-dwelling springtails[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(4): 389–394.
- [21] 李晓勇,骆永明,柯 欣,等.污染食物喂养实验中铜对白符跳毒性的连续监测[J]. *土壤*, 2011, 43(5): 776–780.
LI Xiao-yong, LUO Yong-ming, KE Xin, et al. The continuous monitoring of copper toxicity to *Folsomia candida* exposed to contaminated food[J]. *Soils*, 2011, 43(5): 776–780.
- [22] International Organization for Standardization (ISO), Soil quality – avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on

- behavior-part1; Test with collembolan (*Folsomia candida*) [S]. Geneva, Switzerland, 2008.
- [23] International Organization for Standardization (ISO), Soil quality; Inhibition of reproduction of Collembolan (*Folsomia candida*) by soil pollutants [S]. Geneva, 2014.
- [24] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 25–200.
BAO Shi-dan. Soil agro-chemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008: 25–200.
- [25] Pleysier J L, Juo A S R. A single-extraction method using silver-thiourea for measuring exchangeable cations and effective CEC in soils with variable charges [J]. *Soil Science*, 1980, 129(4): 205–211.
- [26] Zhang S Z, Shan X Q. The determination of rare earth elements in soil by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Atomic Spectroscopy*, 1997, 18(5): 140–144.
- [27] Krogh P H. Toxicity testing with the collembolans *Folsomia fimetaria* and *Folsomia candida* and the results of a ring test [R]. Danish EPA Report Series, 2008: 1–44.
- [28] Vojtech E, Martin M. Antimony availability in highly polluted soils and sediments: A comparison of single extractions [J]. *Chemosphere*, 2007, 68(3): 455–463.
- [29] Boiteau G, Lynch D, Mac K P, et al. Avoidance tests with *Folsomia candida* for the assessment of copper contamination in agricultural soils [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(4): 903–906.
- [30] Roya Z, Ali A. The importance of different forms of Pb on diminishing biological activities in a calcareous soil [J]. *Chemistry and Ecology*, 2014, 30(5): 446–462.
- [31] Kuperman R G, Checkai R T, Simini M, et al. Toxicity benchmarks for antimony, barium, and beryllium determined using reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia feida* and *Enchytraeus crypticus* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(3): 754–762.
- [32] Ferguson J F, Gavis J. A review of the arsenic cycle in natural water [J]. *Water Research*, 1972, 6(1): 1259–1274.
- [33] 王晓丽, 韦朝阳, 冯人伟, 等. 白玉凤尾蕨与印度芥菜对不同形态Sb的富集与转化特征 [J]. 环境科学学报, 2014, 34(3): 720–727.
WANG Xiao-li, WEI Chao-yang, FENG Ren-wei, et al. The accumulation and transformation of antimony characteristics in *Pteris cretica* and *Brassica juncea* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(3): 720–727.
- [34] Irina S, Eiliv S, Syverin L. Uptake of different forms of antimony by wheat and rye seedlings [J]. *Environment Science and Pollution Research*, 2012, 19(2): 502–509.
- [35] Joosse E N, Buker J B. Uptake and excretion of lead by litter-dwelling Collembola [J]. *Environmental Pollution*, 1979, 18(3): 235–240.
- [36] Vijver M, Jager T, Posthuma L, et al. Impact of metal pools and soil properties on metal accumulation in *Folsomia candida* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, 20(4): 712–720.
- [37] Cai Y B, Mi Y T, Zhang H. Kinetic modeling of antimony (III) oxidation and sorption in soils [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 316: 102–109.
- [38] Zhang H, Li L L, Zhou S W. Kinetic modeling of antimony (V) adsorption-desorption and transport in soils [J]. *Chemosphere*, 2014, 111: 434–440.
- [39] Pedersen M B, Gestel C A M, Elmegaard N. Effects of copper on reproduction of two Collembolan species exposed through soil, food and water [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 19(10): 2579–2588.
- [40] Liu R Y, Li J, He J Z, et al. Different influences of field aging on nickel toxicity to *Folsomia candida* in two types of soil [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(11): 8235–8241.
- [41] Ponge J F, Marchetti V. Interaction between humus form and herbicide toxicity to Collembola (Hexapoda) [J]. *Applied Soil Ecology*, 2002, 20(3): 239–253.
- [42] Aldaya M M, Lers C, Salmon S, et al. Avoidance bioassays may help to test the ecological significance of soil pollution [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 140(1): 173–180.
- [43] Choi W I, Neher D A, Ryoo I M, et al. Life-history trade-offs of *Paronychiurus kimi* (Lee) populations exposed to paraquat [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 69(2): 227–232.
- [44] Noble N J. Transpiration in *Podura aquatica* L. and the wetting properties of its cuticle [J]. *Journal of Experimental Biology*, 1963, 40(4): 681–700.
- [45] Frohne T, Rinklebe J, Diaz-Bone R A, et al. Controlled variation of redox conditions in a floodplain soil: Impact on metal mobilization and biomethylation of arsenic and antimony [J]. *Geoderma*, 2011, 160(3/4): 414–424.