

镉对土壤中秀丽隐杆线虫的毒性效应

宋子杰, 党秀丽, 赵龙, 侯红, 王鑫, 吕海洋

引用本文:

宋子杰, 党秀丽, 赵龙, 侯红, 王鑫, 吕海洋. 镉对土壤中秀丽隐杆线虫的毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 1917-1925.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0088>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

我国20种典型土壤中锌对白符跳虫的毒性阈值及其预测模型

王巍然, 林祥龙, 赵龙, 张家乐, 樊文华, 侯红

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 766-773 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1220>

不同环数多环芳烃对土壤白符跳(*Folsomia candida*)的毒性差异

张家乐, 赵龙, 郭军康, 侯红, 林祥龙, 王巍然, 刘玲玲

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2638-2646 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0307>

不同形态镉对土壤白符跳(*Folsomia candida*)的毒性差异

林祥龙, 孙在金, 马瑾, 赵龙, 秦晓鹏, 赵淑婷, 杨侨, 侯红

农业环境科学学报. 2017, 36(4): 657-664 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1490>

土壤外源钴对大麦根伸长的毒害及其预测模型

李金瓶, 王学东, 马虹, 马义兵

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2771-2778 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0685>

镉在蚯蚓中的毒物-毒效动力学过程及定量模拟

李敏, 龚冰, 黄雪莹, 肖雪, 何尔凯, 仇荣亮

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1451-1459 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0209>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

宋子杰, 党秀丽, 赵龙, 等. 锑对土壤中秀丽隐杆线虫的毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 1917–1925.

SONG Z J, DANG X L, ZHAO L, et al. Toxic effects of antimony on *Caenorhabditis elegans* in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(9): 1917–1925.



开放科学 OSID

锑对土壤中秀丽隐杆线虫的毒性效应

宋子杰^{1,2}, 党秀丽^{1*}, 赵龙^{2*}, 侯红², 王鑫^{1,2}, 吕海洋^{1,2}

(1. 沈阳农业大学土地与环境学院, 农业农村部东北耕地保育重点实验室, 土肥资源高效利用国家工程实验室, 沈阳 110866;
2. 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)

摘要:为明确锑(Sb)对土壤无脊椎动物线虫的毒性效应及不同类型土壤中Sb的毒性差异,以生长量、生育率和繁殖力为评价终点,研究了3种土壤(西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤)中外源Sb对模式生物——秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的毒性效应。结果表明:基于西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤的土壤总Sb含量推导得出的Sb对线虫生长毒性的EC₅₀(半数效应浓度)分别为1 138、2 163、4 074 mg·kg⁻¹,对线虫生育毒性的EC₅₀分别为849、1 472、3 244 mg·kg⁻¹,对线虫繁殖毒性的EC₅₀分别为574、836、1 470 mg·kg⁻¹。通过毒性阈值可知,线虫的评价终点对Sb毒性的敏感性由高到低依次为繁殖、生育、生长。相关性分析表明,阳离子交换量、有机质含量和非晶质铁氧化物含量是影响土壤中Sb毒性的主要因素。基于有效态Sb含量推导得出的3种土壤中Sb的毒性阈值差异缩小,说明有效态Sb含量能够更好地解释不同土壤中Sb毒性的差异。

关键词:锑;有效态锑;秀丽隐杆线虫;毒性效应;土壤

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)09-1917-09 doi:10.11654/jaes.2022-0088

Toxic effects of antimony on *Caenorhabditis elegans* in soils

SONG Zijie^{1,2}, DANG Xiuli^{1*}, ZHAO Long^{2*}, HOU Hong², WANG Xin^{1,2}, LÜ Haiyang^{1,2}

(1. College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, Northeast Key Laboratory of Conservation and Improvement of Cultivated Land, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shenyang 110866, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: To determine the toxic effects of antimony (Sb) on soil invertebrate nematodes and the toxicity differences of Sb in different soils, the toxicity effects of Sb in the model organism *Caenorhabditis elegans* were assessed in three soils (Xi'an loessal soil, Yingtan red soil, and Jiangmen red soil) using growth, fertility, and reproduction as evaluation endpoints. The EC₅₀ (median effect concentration) values expressed in measured concentrations of total antimony for the growth of *C. elegans* were 1 138, 2 163 mg·kg⁻¹, and 4 074 mg·kg⁻¹, respectively. The EC₅₀ values for *C. elegans* fertility were 849, 1 472 mg·kg⁻¹, and 3 244 mg·kg⁻¹, respectively. The EC₅₀ values for *C. elegans* reproduction were 574, 836 mg·kg⁻¹, and 1 470 mg·kg⁻¹, respectively. The results showed that reproduction was a more sensitive evaluation endpoint than growth or fertility. The results of the correlation analysis showed that cation exchange capacity, organic matter, and amorphous iron oxide were the main factors affecting Sb toxicity in soil. The differences in EC₅₀ values expressed as the concentrations of Na₂HPO₄-extracted Sb among the three soils decreased, indicating that the concentrations of Na₂HPO₄-extracted Sb could better explain the toxicity variations among different soils.

Keywords: antimony; Na₂HPO₄-extracted antimony; *Caenorhabditis elegans*; toxic effect; soil

收稿日期: 2022-01-23 录用日期: 2022-03-15

作者简介: 宋子杰(1996—),男,上海人,硕士研究生,主要从事生态毒理学研究。E-mail: szj@stu.syau.edu.cn

*通信作者: 党秀丽 E-mail: dxi@syau.edu.cn; 赵龙 E-mail: zhaolong1227@126.com

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1804603)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China(2019YFC1804603)

锑(Sb)是类金属元素,没有已知的生物学功能,对人体具有毒害甚至致癌作用,自1979年以来一直被美国环境保护局(EPA)和欧盟(EU)视为重点污染物^[1-2]。Sb在半导体、阻燃剂、硬化剂、电池生产等方面被广泛使用^[3],受近年来采矿冶炼作业、废弃物焚化、煤炭燃烧、工业生产等人类活动的影响,环境中的Sb含量显著增加^[4]。至2020年,中国Sb产量近8万t,已成为全球最大的Sb产量国^[5]。广西河池市的铅锑矿冶炼厂区域土壤中Sb含量最高可达到3 690 mg·kg⁻¹^[6],湖南省锡矿山区的土壤中平均Sb含量为3 061 mg·kg⁻¹,最高可达到16 389 mg·kg⁻¹^[7],土壤Sb污染已成为不容忽视的环境问题。

生态安全土壤环境基准是土壤环境质量标准制定的基础,该基准的推导需要陆生植物、微生物、土壤无脊椎动物等的毒性阈值作为支撑^[8]。近年来,国内外陆续开展了Sb对土壤环境中生态受体的毒性阈值研究^[9-11]。ZHONG等^[12]研究发现酸性土壤中Sb对赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)的LC₅₀(半数致死浓度)为497 mg·kg⁻¹;LIN等^[10]评价了老化7 d和60 d的土壤中外源Sb对白符跳(*Folsomia candida*)的毒性,通过计算得出Sb对白符跳繁殖毒性的EC₅₀(半数效应浓度)分别达到307 mg·kg⁻¹和1 419 mg·kg⁻¹。但相关阈值研究依旧是基于有限的土壤环境生态受体^[8]。天然土壤的性质(土壤pH、阳离子交换量、有机质含量、金属氧化物含量等)存在不同程度的差异,从而会影响土壤中重金属的毒性^[13-16]。我国土壤环境基准研究起步较晚,基于不同类型土壤进行的毒性阈值研究较少,从而导致研究基础数据较为匮乏^[17]。

目前Sb对土壤无脊椎动物毒性的阈值研究主要集中于跳虫和蚯蚓,而对线虫毒性的阈值研究较为不足。模式生物秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)因具有生命周期短和易在实验室条件下培养的特点而被广泛应用于毒理学研究,基于国际标准ISO 10872指南的线虫毒性试验被认为是评价污染物毒性的有力工具^[18-21]。MOYSON等^[22]的研究结果表明,经过48 h的重金属Zn、Cu、Cd溶液毒性暴露,3种重金属对线虫的LC₅₀分别为16.380、0.884、20.765 mg·kg⁻¹;LU等^[23]将线虫暴露于不同浓度的Mn、Pb、Cd溶液24 h,结果发现3种重金属对线虫的LC₅₀分别为41.4、0.26、4.8 mmol·L⁻¹。但相关研究多基于水体介质中重金属污染物对线虫的毒性,而基于土壤介质中重金属污染物的线虫毒性试验相对缺乏。因此,本研究以秀丽隐杆线虫为受试生物,选用3种理化性质各

异的土壤(西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤),研究外源Sb对线虫生长、生育、繁殖的毒性效应和阈值,并进一步探究影响Sb毒性的主要土壤理化性质,为基于土壤无脊椎动物的Sb毒性预测模型建立和土壤环境质量标准的修订提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤分别采集于中国陕西省西安市(XA)、江西省鹰潭市(YT)、广东省江门市(JM)的农田表层(0~20 cm)。土壤于自然条件下风干、剔除其中的石块和动植物残体后过2 mm筛网备用。土壤中黏粒占比通过激光粒度仪测定;田间持水量采用环刀法测定(NY/T 1121.22—2010);土壤pH采用电极法测定(土水比为 $m:V=1:5$, NY/T 1137—2007)^[24];土壤阳离子交换量采用非缓冲硫脲银法测定^[25];土壤有机质含量采用重铬酸钾氧化法测定^[26];土壤中碳酸钙含量采用中和滴定法测定^[26];土壤经过草酸铵缓冲溶液[0.1 mol·L⁻¹ H₂C₂O₄和0.175 mol·L⁻¹ (NH₄)₂C₂O₄]提取处理后测定非晶质铁氧化物、非晶质锰氧化物和非晶质铝氧化物的含量^[27];2 g土壤经20 mL 0.3 mol·L⁻¹ C₆H₅Na₃O₇、2.5 mL 1 mol·L⁻¹ NaHCO₃和0.5 g Na₂S₂O₄提取处理后测定晶质铁氧化物、晶质锰氧化物和晶质铝氧化物的含量^[28];土壤经过HF-HClO₄-HNO₃($V:V:V=3:1:1$)消解处理后测定土壤中Sb的背景含量^[27]。供试土壤理化性质如表1所示。

1.2 供试生物

野生型秀丽隐杆线虫N2株和大肠杆菌(*Escherichia coli*) OP50株均由福建上源生物科技有限公司提供。线虫在恒温培养箱中(20±1)℃条件下培养于线虫生长培养基(Nematode growth-medium, NGM)琼脂中。NGM琼脂制备方法:17 g·L⁻¹琼脂粉、2.5 g·L⁻¹酪蛋白胨和3 g·L⁻¹ NaCl于121℃条件下高压灭菌后,加入无菌的1 mL 1 mol·L⁻¹ CaCl₂、1 mL 1 mol·L⁻¹ MgSO₄、25 mL 1 mol·L⁻¹ KH₂PO₄(用KOH调节pH为6.0±0.2)和1 mL 5 g·L⁻¹胆固醇乙醇溶液,用无菌水定容至1 000 mL并充分混匀后,倒入培养皿冷却备用。以大肠杆菌OP50株作为线虫食物源,大肠杆菌菌液制备方法:从持续培养的LB(Luria-Bertani)固体培养基(17 g·L⁻¹琼脂粉、10 g·L⁻¹酪蛋白胨、5 g·L⁻¹酵母抽提物和10 g·L⁻¹ NaCl于121℃条件下高压灭菌后,倒入培养皿冷却制得)上挑取单克隆大肠杆菌菌落至LB液体培养基(10 g·L⁻¹酪蛋白胨、5 g·L⁻¹酵母抽提物

表1 供试土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the tested soils

项目 Item	西安垆土 XA loessal soil	鹰潭红壤 YT red soil	江门红壤 JM red soil
黏粒 Clay/%	32.12±0.93	38.56±0.21	39.94±0.64
田间持水量 Water-holding capacity/%	20.70±1.12	35.18±1.47	42.36±1.64
pH	8.25±0.04	4.91±0.01	4.91±0.05
阳离子交换量 Cation exchange capacity/(cmol·kg ⁻¹)	10.54±0.22	12.07±0.11	18.00±0.03
有机质 Organic matter/(g·kg ⁻¹)	10.11±0.23	18.00±0.23	46.10±0.23
碳酸钙 Calcium carbonate/(g·kg ⁻¹)	73.88±0.77	0.79±0.17	0.80±0.08
非晶质铁氧化物 Amorphous iron oxide/(g·kg ⁻¹)	0.52±0.41	3.45±0.51	7.87±0.27
非晶质锰氧化物 Amorphous manganese oxide/(g·kg ⁻¹)	0.35±0.13	0.14±0.21	0.12±0.21
非晶质铝氧化物 Amorphous aluminum oxide/(g·kg ⁻¹)	0.70±0.37	2.12±0.15	1.03±0.22
晶质铁氧化物 Free iron oxide/(g·kg ⁻¹)	6.58±0.45	23.04±0.52	20.52±0.13
晶质锰氧化物 Free manganese oxide/(g·kg ⁻¹)	0.37±0.03	0.16±0.40	0.03±0.02
晶质铝氧化物 Free aluminum oxide/(g·kg ⁻¹)	0.52±0.17	3.77±0.41	1.37±0.18
镉背景值 Sb background value/(mg·kg ⁻¹)	0.86±0.33	2.25±0.43	0.58±0.17

和 10 g·L⁻¹ NaCl 于 121 ℃ 条件下高压灭菌,冷却后制得),于恒温摇床中 37 ℃、150 r·min⁻¹ 条件下培养 14 h,用于线虫的培养和毒性试验。

为降低线虫个体差异对试验的影响,试验前需要进行线虫的同步化培养。待 NGM 琼脂表面分布大量产卵的成虫时,将线虫以 M9 缓冲液(33.71 mmol·L⁻¹ Na₂HPO₄、22 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄、85.56 mmol·L⁻¹ NaCl 和 1 mmol·L⁻¹ MgSO₄)冲洗至离心管,并洗去线虫体表残余的大肠杆菌,向离心管内加入裂解液(2.5 mol·L⁻¹ NaOH 和质量分数为 5% 的 NaClO)以裂解线虫身体获得虫卵。用 M9 缓冲液洗去虫卵表面多余的裂解液后,将虫卵置于 M9 缓冲液中培养 14 h 即可获得年龄同步的第一阶段线虫幼虫。

1.3 土壤中 Sb 的添加和老化

试验选用的三价镉盐为酒石酸镉钾, C₈H₄K₂O₁₂Sb₂·3H₂O, 分析纯。土壤中 Sb 的添加以喷施酒石酸镉钾水溶液的方式进行,每种土壤中的理论总 Sb 含量分别达到 300、600、1 200、2 400、4 800 mg·kg⁻¹,对照组仅添加去离子水。土壤充分搅拌均匀,调节土壤含水量至田间持水量的 55%~60% 后,装入半封口的自封袋中老化备用,期间通过称量的方法向自封袋中补充去离子水以保持土壤水分。经过 7 d 的老化后,取土壤样品进行线虫毒性试验和总 Sb、有效态 Sb、不同价态 Sb 含量的测定。

1.4 土壤中线虫毒性试验

毒性试验根据国际标准 ISO 10872 指南^[21]和 SACCÀ 等^[29]的方法进行。称取 0.5 g 老化 7 d 的风干土壤至孔板中,加入 0.1 mL 重悬于 M9 缓冲液的大肠

杆菌菌液(15 mg·mL⁻¹)作为线虫的食物源,向土壤中补充 M9 缓冲液使土壤含水量保持在田间持水量的 80%,以保证试验期间线虫的水分需求。使用毛细管(直径 0.1 mm)向孔板内的土壤中添加 10 条线虫后密封,置于恒温培养箱中(20±1) ℃ 黑暗条件下培养 96 h。培养结束后,将孔板置于 80 ℃ 恒温干燥箱中加热杀死线虫以终止试验,通过 Ludox TM50 离心悬浮法将孔板中的所有线虫回收于培养皿中。每个试验处理 4 次重复。

回收的线虫置于 100 倍显微镜下测量线虫的体长以计算线虫的生长量,取 30 条第一阶段线虫幼虫的平均体长作为线虫的初始体长,为(276.2±8.5) μm。生长量的计算公式:

$$G = L_F - L_i$$

式中:G 为生长量,μm;L_F 为试验结束时的线虫体长,μm;L_i 为线虫初始体长,μm。

于 40 倍显微镜下计数具有生育能力的线虫个体数量(线虫体内虫卵个数≥1,则认为具有生育能力)以计算线虫的生育率。生育率的计算公式:

$$F = \frac{I_F}{I_T} \times 100\%$$

式中:F 为生育率,%;I_F 为具有生育能力的线虫个体数量,条;I_T 为引入试验的线虫个体数量,条。

于 40 倍显微镜下计数线虫后代个体数量以计算线虫的繁殖力。繁殖力的计算公式:

$$R = \frac{I_o}{I_T}$$

式中:R 为繁殖力;I_o 为线虫后代个体数量,条;I_T 为引入试验的线虫个体数量,条。

1.5 土壤总Sb、有效态Sb和不同价态Sb含量的测定

经过7 d的老化后,取土壤样品测定总Sb、有效态Sb和不同价态Sb的含量。土壤总Sb含量的测定参考YAN等^[30]的方法:称取过0.075 mm尼龙筛网的风干土壤0.1 g,经过HF-HClO₄-HNO₃(V:V:V=2:1:3)消解后通过0.5%的HNO₃稀释并过滤,通过电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测定滤液中Sb的含量。土壤中有有效态Sb含量的测定参考ETTLER等^[31]的方法:称取2 g过2 mm尼龙筛网的风干土壤于离心管中,加入20 mL 0.1 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄,于恒温水浴振荡器中25 ℃、200 r·min⁻¹条件下振荡2 h,再将离心管置于离心机中4 000 r·min⁻¹条件下离心10 min后过0.45 μm滤膜,通过电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定滤液中Sb的含量。土壤中不同价态Sb含量的测定参考LIN等^[10]的方法:称取0.5 g过2 mm尼龙筛网的风干土壤于离心管中,加入5 mL 0.1 mol·L⁻¹ C₆H₈O₇,于恒温水浴振荡器中60 ℃、200 r·min⁻¹条件下振荡30 min后过0.45 μm滤膜,通过氢化物发生-原子荧光光谱仪(HG-AFS)测定滤液中三价锑[Sb(Ⅲ)]和五价锑[Sb(Ⅴ)]的含量。测定过程使用国家一级标准物质(GBW-47410)作为质控。

1.6 数据处理与分析

通过Logistic方程拟合实测总Sb含量和有效态Sb含量与线虫各个毒性评价终点之间的剂量-效应关系并计算EC₅₀:

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^b}$$

以计算Sb对线虫生长毒性的EC₅₀为例,式中:y为线虫的生长量,μm;x为实测总Sb含量或有效态Sb含量,mg·kg⁻¹;a为对照组中线虫的生长量,μm;x₀为EC₅₀值,mg·kg⁻¹;b为方程拟合过程中所产生的斜率参数。Sb对线虫生育或繁殖毒性的EC₅₀的计算方式同上,将y替换为生育率或繁殖力,a替换为对照组中线虫的生育率或繁殖力。

Logistic方程的拟合通过Sigmaplot 14.0软件完成,相关性分析和单因素方差分析通过SPSS 25.0软件完成,利用OriginPro 2018和Excel 2019软件进行图表的制作。

2 结果与分析

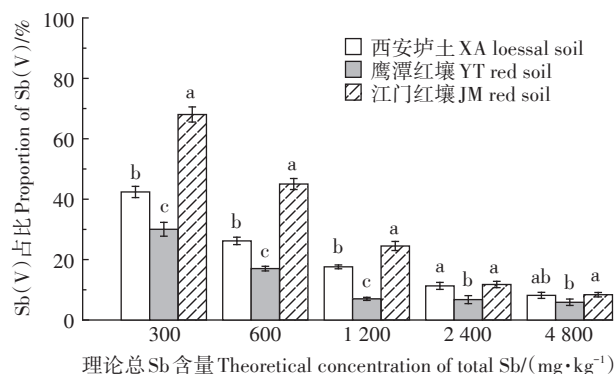
2.1 土壤中Sb(Ⅴ)占总Sb的比例

Sb(Ⅲ)在土壤中被吸附的同时还会被氧化为

Sb(Ⅴ)。由图1可知,理论总Sb含量为300 mg·kg⁻¹时,西安垆土、鹰潭红壤和江门红壤中分别有42.4%、30.0%、68.0%的Sb(Ⅲ)被氧化为Sb(Ⅴ)。随着理论总Sb含量的提高,3种土壤中Sb(Ⅲ)的氧化效率呈下降趋势。整体而言,江门红壤中Sb(Ⅲ)表现出最高的氧化效率,西安垆土次之,鹰潭红壤最低。

2.2 土壤中有有效态Sb含量

重金属的有效态含量能够反映土壤重金属的潜在危害。总体而言,3种土壤中的有效态Sb含量均随外源Sb含量的增加而增加,相同外源Sb含量下,3种土壤有效态Sb含量均存在显著差异(图2)。理论总Sb含量为4 800 mg·kg⁻¹时,西安垆土、鹰潭红壤和江门红壤中最高有效态Sb含量分别达到448.1、258.6、95.3 mg·kg⁻¹。有效态Sb的提取比例由高到低依次为西安垆土10.9% (9.4%~13.7%)、鹰潭红壤6.2% (4.7%~9.1%)、江门红壤2.6% (1.9%~3.2%)。



不同小写字母表示同一理论总Sb含量的不同土壤处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant differences among different soil treatments with the same theoretical concentration of total Sb ($P < 0.05$). The same below

图1 土壤中Sb(Ⅴ)占总Sb的比例

Figure 1 Proportion of Sb(Ⅴ) in total Sb in soils

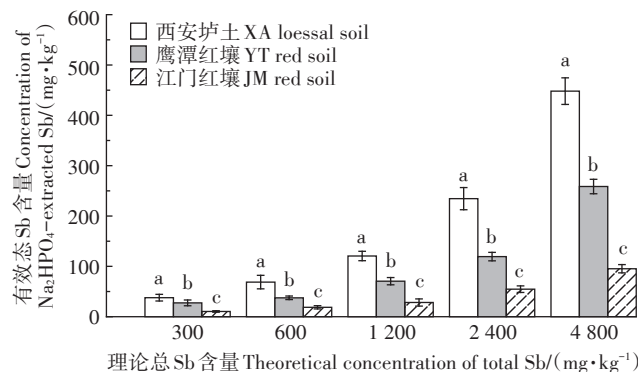


图2 土壤中有有效态Sb含量

Figure 2 Concentration of Na₂HPO₄-extracted Sb in soils

2.3 Sb对线虫毒性的效应及阈值

于线虫毒性试验结束后进行试验的有效性检验:对照组的线虫平均回收率在80%~100%范围内;未发现雄性线虫;线虫生长量和生育率的变异系数均低于15%,线虫繁殖力的变异系数低于30%;线虫的平均生育率高于80%;线虫的平均繁殖力高于50。因此,本试验符合国际标准ISO 10872指南中关于试验有效性的要求。

2.3.1 Sb对线虫生长毒性的效应及阈值

利用Logistic方程拟合土壤中实测总Sb含量、有效态Sb含量与线虫生长量间的剂量-效应关系,结果如图3所示。3种土壤中线虫的生长量均随着理论总Sb含量的增加逐渐降低,但下降趋势存在差异。西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中理论总Sb含量分别达到600、1 200、2 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,线虫的生长量相较于对照组开始出现显著降低($P<0.05$);理论总Sb含量提高至4 800 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,江门红壤中线虫的生长量仍

达到416.4 μm ,而西安垆土和鹰潭红壤中线虫的生长量分别仅达到185.9、194.5 μm 。基于实测总Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫生长毒性的 EC_{50} 分别为1 138、2 163、4 074 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,最大毒性是最小毒性的3.6倍;基于有效态Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫生长毒性的 EC_{50} 分别为116.5、107.0、81.8 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,最大毒性是最小毒性的1.4倍,差异有所降低(表2)。

2.3.2 Sb对线虫生育毒性的效应及阈值

由图4可知,理论总Sb含量在0~600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的范围内时,3种土壤中线虫的生育率均未受到Sb毒性的影响($P>0.05$);理论总Sb含量达到1 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,西安垆土和鹰潭红壤中线虫的生育率开始受到显著抑制($P<0.05$),而江门红壤中线虫的生育率未受到显著的毒性影响($P>0.05$);理论总Sb含量进一步提高至2 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,江门红壤中线虫的生育率出现显著降低($P<0.05$),但是仍有74%的线虫具有生育能

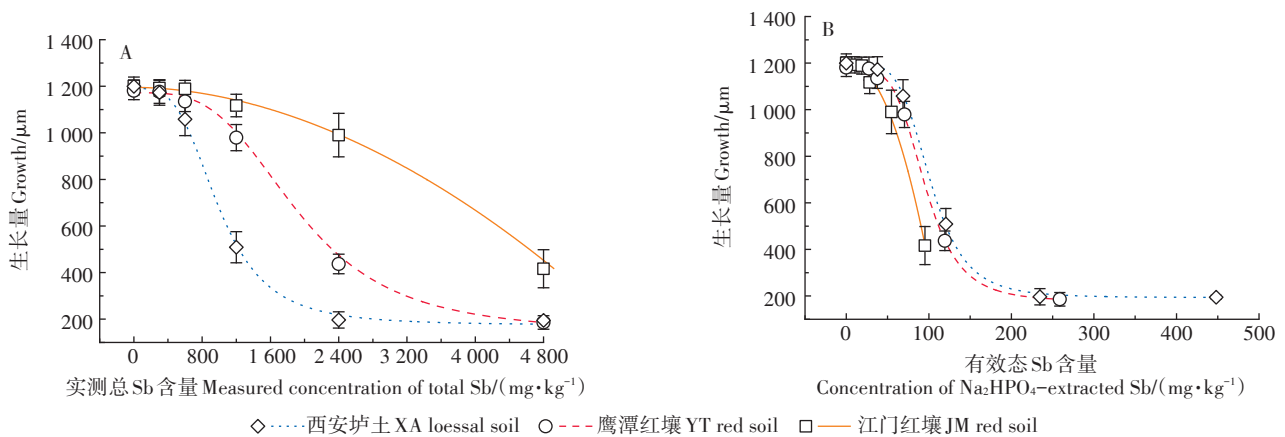


图3 线虫生长量与实测总Sb和有效态Sb含量的剂量-效应关系
The coordinate points in the figure are based on the concentrations of theoretical total Sb, and the dose-response curves are based on the measured concentrations of total Sb. The same below

图3 线虫生长量与实测总Sb和有效态Sb含量的剂量-效应关系

Figure 3 Dose-response relationships of the growth of *C. elegans* with the measured concentrations of total Sb and Na_2HPO_4 -extracted Sb

表2 基于实测总Sb和有效态Sb含量推导的Sb对线虫毒性的 EC_{50}

Table 2 The EC_{50} values of Sb for the toxicity of *C. elegans* based on the concentration of measured total Sb and Na_2HPO_4 -extracted Sb

评价终点 Evaluation endpoint		西安垆土 XA loessal soil/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	鹰潭红壤 YT red soil/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	江门红壤 JM red soil/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	最大值/最小值 Max/Min
基于总Sb含量 Based on total Sb	生长量Growth	1 138(620~1 657)	2 163(1 866~2 523)	4 074(3 668~4 480)	3.6
	生育率Fertility	849(729~969)	1 472(1 382~1 562)	3 244(2 889~3 599)	3.8
	繁殖力Reproduction	574(573~576)	836(673~999)	1 470(1 262~1 678)	2.6
基于有效态Sb含量 Based on Na_2HPO_4 - extracted Sb	生长量Growth	116.5(64.5~168.4)	107.0(78.1~136.0)	81.8(74.8~88.8)	1.4
	生育率Fertility	92.1(82.0~102.3)	79.2(74.8~83.6)	67.9(61.6~74.2)	1.4
	繁殖力Reproduction	69.1(68.3~69.9)	48.6(44.3~52.9)	34.7(26.7~33.9)	2.0

注:括号内数值为 EC_{50} 值的95%置信区间。

Note: The values in brackets are the 95% confidence interval of EC_{50} values.

力,而西安垆土和鹰潭红壤中线虫的生育率不足10%。基于实测总Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫生育毒性的 EC_{50} 分别为849、1 472、3 244 $mg \cdot kg^{-1}$,最大毒性是最小毒性的3.8倍;基于有效态Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫生育毒性的 EC_{50} 分别为92.1、79.2、67.9 $mg \cdot kg^{-1}$,最大毒性是最小毒性的1.4倍,差异有所降低(表2)。

2.3.3 Sb对线虫繁殖毒性的效应及阈值

通过对线虫繁殖力的统计结果发现(图5),西安垆土中理论总Sb含量达到600 $mg \cdot kg^{-1}$ 时线虫的繁殖受到显著的毒性抑制($P < 0.05$),而鹰潭红壤和江门红壤中理论总Sb含量达到1 200 $mg \cdot kg^{-1}$ 时线虫的繁殖力开始出现显著降低($P < 0.05$);理论总Sb含量提高至2 400 $mg \cdot kg^{-1}$ 时,西安垆土和鹰潭红壤中几乎没有新的线虫后代个体产生,而江门红壤中每条线虫仍然

能产生13.9个后代个体。基于实测总Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫繁殖毒性的 EC_{50} 分别为574、836、1 470 $mg \cdot kg^{-1}$,最大毒性是最小毒性的2.6倍;基于有效态Sb含量计算得出,西安垆土、鹰潭红壤、江门红壤中Sb对线虫繁殖毒性的 EC_{50} 分别为69.1、48.6、34.7 $mg \cdot kg^{-1}$,最大毒性是最小毒性的2.0倍,差异所有降低(表2)。

2.4 土壤理化性质与Sb毒性阈值间的相关性

通过Pearson相关性分析进一步探究影响Sb毒性的主要因素,根据分析结果可以发现(表3):阳离子交换量与Sb对线虫生育的 EC_{50} 呈显著正相关($P < 0.05$);有机质含量与Sb对线虫生育和繁殖的 EC_{50} 呈显著正相关($P < 0.05$);非晶质铁氧化物含量与Sb对线虫生长的 EC_{50} 呈显著正相关($P < 0.05$)。以上结果表明,土壤阳离子交换量、有机质含量和非晶质铁氧化物含量是影响Sb毒性的重要因素,这是因为阳离

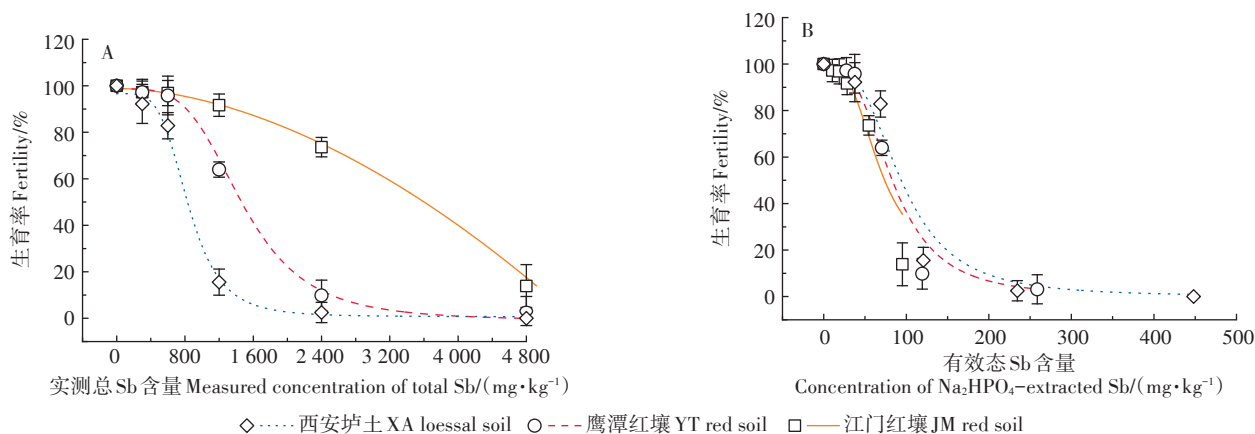


图4 线虫生育率与实测总Sb和有效态Sb含量的剂量-效应关系

Figure 4 Dose-response relationships of the fertility of *C. elegans* with the measured concentrations of total Sb and Na_2HPO_4 -extracted Sb

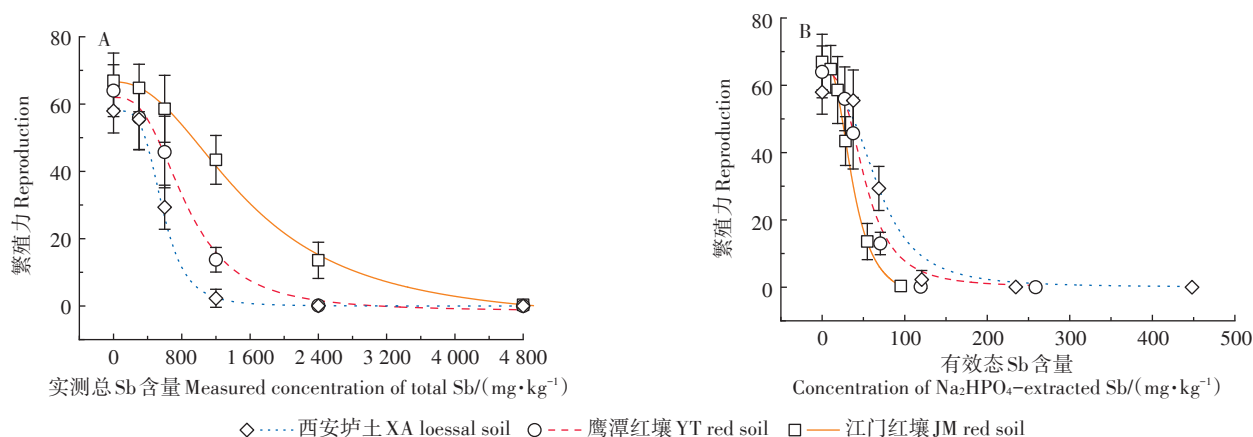


图5 线虫繁殖力与实测总Sb和有效态Sb含量的剂量-效应关系

Figure 5 Dose-response relationships of the reproduction of *C. elegans* with the measured concentrations of total Sb and Na_2HPO_4 -extracted Sb

表3 土壤理化性质与Sb毒性阈值间的相关性

Table 3 Correlation between threshold of Sb toxicity to *C. elegans* and soil physicochemical properties

项目 Item	生长EC ₅₀ Growth	生育EC ₅₀ Fertility	繁殖EC ₅₀ Reproduction
黏粒 Clay	0.863	0.809	0.829
pH	-0.767	-0.701	-0.726
阳离子交换量 Cation exchange capacity	0.988	0.998*	0.996
有机质 Organic matter	0.990	0.999*	0.997*
碳酸钙 Calcium carbonate	-0.767	-0.701	-0.726
非晶质铁氧化物 Amorphous iron oxide	0.998*	0.988	0.993
非晶质锰氧化物 Amorphous manganese oxide	-0.815	-0.755	-0.777
非晶质铝氧化物 Amorphous aluminum oxide	0.051	-0.046	-0.011
晶质铁氧化物 Free iron oxide	0.668	0.593	0.620
晶质锰氧化物 Free manganese oxide	-0.953	-0.919	-0.932
晶质铝氧化物 Free aluminum oxide	0.082	-0.015	0.020

注:*表示相关性显著($P<0.05$)。Note:* indicates significant correlation at $P<0.05$ level.

子交换量较高的土壤具有更多的点位以吸附环境中的Sb,从而降低了Sb的生物有效性,有机质和非晶质铁氧化物对土壤中Sb的吸附和对Sb(Ⅲ)的氧化作用能够降低Sb的毒性。

3 讨论

基于国际标准ISO 10872指南的线虫毒性试验涵盖了秀丽隐杆线虫的整个生命周期,因此可以通过该试验方法确定对线虫个体水平(生长和生育)以及种群水平(繁殖)的影响。本研究结果表明,线虫的毒性评价终点对Sb毒性的敏感性由高到低依次为繁殖力、生育率、生长量。BYERLY等^[32]研究发现,于20℃的培养条件下线虫的生长过程经历4次蜕皮且体长达到1 060 μm时,线虫开始产卵。如果线虫的生长受到Sb毒性的抑制而不能达到生育所需的生长阶段,Sb对线虫生育的抑制可能是线虫生长受到抑制的附加效应。因此,线虫的生育对Sb毒性表现出高于生长的敏感性,是Sb对线虫生育的直接影响和对线虫生长毒性的附加效应共同造成的^[33]。SCHERTZINGER等^[33]研究发现,线虫的生育在没有受到钯(Pd)毒性完全抑制的情况下,繁殖受到完全的抑制,这可能是由Pd对线虫虫卵的损害以及生育毒性的附加效应共同造成的,从而导致线虫的繁殖对污染物毒性的敏感性高于生育和生长。本研究结果还发现,理论总

Sb含量达到4 800 mg·kg⁻¹的鹰潭红壤中没有新的线虫后代个体产生,但是线虫的生育并没有受到完全抑制。因此,线虫的繁殖对Sb毒性表现出最高的敏感性,可能是由Sb对线虫繁殖过程的直接影响和对线虫生育毒性的间接影响所致。

理化性质各异的土壤中Sb的环境行为不同,从而导致了土壤中Sb毒性的差异。CAI等^[34]的研究指出,Sb在土壤中的反应过程大致可以分为:Sb(Ⅲ)迁移至土壤表面被吸附点位吸附,在土壤表面被氧化为Sb(V)并被重新释放入土壤溶液后,再次被土壤中的其他吸附点位吸附。本研究结果表明,阳离子交换量、有机质含量和非晶质铁氧化物含量是影响Sb毒性的重要因素。相关研究表明,有机质和金属氧化物能够与Sb结合形成配合物并促进高毒性的Sb(Ⅲ)被氧化为毒性较低的Sb(V)^[35-40]。本研究所选用的江门红壤中有机质和非晶质铁氧化物含量较高,为外源添加的Sb(Ⅲ)提供充足吸附点位的同时促进了高毒性的Sb(Ⅲ)向低毒性的Sb(V)转化并再次吸附,从而导致江门红壤中Sb表现出对线虫最低的毒性。研究发现,OH⁻能够提供电子并增强金属的还原性,因此土壤中较高的pH能够促进Sb(Ⅲ)被氧化为Sb(V)^[35,39]。西安垆土中Sb(V)占总Sb比例高于鹰潭红壤,正是因为西安垆土具有较高的土壤pH。也有研究表明,OH⁻与Sb竞争土壤中的吸附点位,因此具有较高pH的土壤不利于Sb的吸附,即生物有效含量较高^[41],该结果同样能够解释西安垆土具有最高的有效态Sb含量的原因。LIN等^[10]的研究同样发现,不同土壤中Sb对线虫繁殖毒性的EC₅₀与阳离子交换量呈显著正相关,这是因为阳离子交换量是土壤中可用吸附点位数量的一种度量,是由土壤黏粒、pH、有机质、金属氧化物等吸附相共同决定的^[13]。林祥龙等^[42]的研究表明,水提取态Sb同样能够较好地解释不同土壤中Sb对白符跳繁殖毒性的显著差异,其研究结果显示基于土壤总Sb含量计算的Sb对白符跳繁殖毒性的EC₅₀差异高达5.9倍,而基于水提取态Sb含量计算的EC₅₀差异降低至3.2倍;何飞等^[14]研究发现基于有效态Sb含量计算的Sb对不同土壤中甘蓝根伸长毒性的EC₁₀在8.28~24.05 mg·kg⁻¹范围内,EC₁₀间的差异相较基于总Sb含量计算的EC₁₀(100.55~656.65 mg·kg⁻¹)缩小。

4 结论

(1)由西安垆土、鹰潭红壤和江门红壤中Sb对线

虫的毒性阈值差异可知,线虫的3个毒性评价终点对Sb毒性的敏感性由高到低依次为繁殖力、生育率、生长量。

(2)阳离子交换量、有机质含量和非晶质铁氧化物含量的增加降低了Sb对线虫生长、生育、繁殖的毒性,是影响土壤中Sb毒性的主要因素。

(3)有效态Sb含量能够更好地表达土壤中Sb的生物有效性,并解释西安垆土、鹰潭红壤和江门红壤中Sb对线虫毒性的差异。

参考文献:

- [1] PHILLIPS M A, CÁNOVAS A, WU P, et al. Parallel responses of human epidermal keratinocytes to inorganic Sb III and As III [J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 13(6):963-970.
- [2] HUA L, WU C, ZHANG H, et al. Biochar-induced changes in soil microbial affect species of antimony in contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2021, 263:127795.
- [3] BAGHERIFAM S, BROWN T C, FELLOWS C M, et al. Bioavailability of arsenic and antimony in terrestrial ecosystems: A review[J]. *Pedosphere*, 2019, 29(6):681-720.
- [4] DIQUATTRO S, CASTALDI P, RITCH S, et al. Insights into the fate of antimony (Sb) in contaminated soils: Ageing influence on Sb mobility, bioavailability, bioaccessibility and speciation[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 770:145354.
- [5] BOLAN N, KUMAR M, SINGH E, et al. Antimony contamination and its risk management in complex environmental settings: A review[J]. *Environment International*, 2022, 158:106908.
- [6] TSERENPIL S, LIU C. Study of antimony (III) binding to soil humic acid from an antimony smelting site[J]. *Microchemical Journal*, 2011, 98(1):15-20.
- [7] LI J, WEI Y, ZHAO L, et al. Bioaccessibility of antimony and arsenic in highly polluted soils of the mine area and health risk assessment associated with oral ingestion exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 110:308-315.
- [8] 邱荟圆, 李博, 祖艳群. 土壤环境基准的研究和展望[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(18):67-72. QIU H Y, LI B, ZU Y Q. Soil environmental criteria: Research and prospect[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(18):67-72.
- [9] LIN X, HE F, SUN Z, et al. Influences of soil properties and long-time aging on phytotoxicity of antimony to barley root elongation[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 262:114330.
- [10] LIN X, SUN Z, MA J, et al. Effects of soil properties and long aging time on the toxicity of exogenous antimony to soil-dwelling springtail *Folsomia candida*[J]. *Chemosphere*, 2020, 241:125100.
- [11] 孙在金, 赵淑婷, 林祥龙, 等. 基于物种敏感度分布法建立中国土壤中锑的环境基准[J]. *环境科学研究*, 2018, 31(4):774-781. SUN Z J, ZHAO S T, LIN X L, et al. Deriving soils environmental criteria of antimony in China by species sensitivity distributions[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2018, 31(4):774-781.
- [12] ZHONG Q, LI L, HE M, et al. Toxicity and bioavailability of antimony to the earthworm (*Eisenia fetida*) in different agricultural soils[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 291:118215.
- [13] CRIEL P, LOCK K, EECKHOUT H V, et al. Influence of soil properties on copper toxicity for two soil invertebrates[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(8):1748-1755.
- [14] 何飞, 赵龙, 孙在金, 等. 锑对甘蓝的毒性阈值研究[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(12):2898-2905. HE F, ZHAO L, SUN Z J, et al. Study on antimony toxicity threshold of cabbage[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(12):2898-2905.
- [15] 王巍然, 林祥龙, 赵龙, 等. 我国20种典型土壤中锑对白符跳虫的毒性阈值及其预测模型[J]. *农业环境科学学报*, 2021, 40(4):766-773. WANG W R, LIN X L, ZHAO L, et al. Toxicity threshold and prediction model for zinc in soil-dwelling springtails in Chinese soils [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(4):766-773.
- [16] 李星, 林祥龙, 孙在金, 等. 我国典型土壤中铜对白符跳 (*Folsomia candida*) 的毒性阈值及其预测模型[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(3):744-750. LI X, LIN X L, SUN Z J, et al. Toxicity threshold and prediction model of copper to soil-dwelling springtail (*Folsomia candida*) in Chinese soils[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(3):744-750.
- [17] 周启星, 安婧, 何康信. 我国土壤环境基准研究与展望[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(1):1-6. ZHOU Q X, AN J, HE K X. Research and prospect on soil-environmental criteria in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(1):1-6.
- [18] HUNT P R. The *C. elegans* model in toxicity testing[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2017, 37(1):50-59.
- [19] HÖSS S, JÄNSCH S, MOSER T, et al. Assessing the toxicity of contaminated soils using the nematode *Caenorhabditis elegans* as test organism[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72(7):1811-1818.
- [20] ZHUANG Z, ZHAO Y, WU Q, et al. Adverse effects from clenbuterol and ractopamine on nematode *Caenorhabditis elegans* and the underlying mechanism[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e85482.
- [21] International Organization for Standardization. ISO 10872, Water and soil quality: Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)[S]. Geneva, Switzerland, 2020.
- [22] MOYSON S, VISSENBERG K, FRANSEN E, et al. Mixture effects of copper, cadmium, and zinc on mortality and behavior of *Caenorhabditis elegans*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2018, 37(1):145-159.
- [23] LU C, SVOBODA K R, LENZ K A, et al. Toxicity interactions between manganese (Mn) and lead (Pb) or cadmium (Cd) in a model organism the nematode *C. elegans*[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(16):15378-15389.
- [24] International Organization for Standardization. ISO 10390, Soil, treated biowaste and sludge: Determination of pH[S]. Geneva, Switzerland, 2021.
- [25] DOHRMANN R. Cation exchange capacity methodology II: A modified silver-thiourea method[J]. *Applied Clay Science*, 2006, 34:38-46.

- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008. BAO S D. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008.
- [27] FAN J, WANG Y, CUI X, et al. Sorption isotherms and kinetics of Sb(V) on several Chinese soils with different physicochemical properties[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 13(2): 344–353.
- [28] MEHRA O P. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite–citrate system buffered with sodium bicarbonate[J]. *Clays and Clay Minerals*, 1958, 7(1): 317–327.
- [29] SACCA M L, FAJARDO C, COSTA G, et al. Integrating classical and molecular approaches to evaluate the impact of nanosized zero-valent iron(nZVI) on soil organisms[J]. *Chemosphere*, 2014, 104: 184–189.
- [30] YAN Z, WANG B, XIE D, et al. Uptake and toxicity of spiked nickel to earthworm *Eisenia fetida* in a range of Chinese soils[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(11): 2586–2593.
- [31] ETTLER V, MIHALJEVIĆ M, ŠEBEK O, et al. Antimony availability in highly polluted soils and sediments: A comparison of single extractions[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(3): 455–463.
- [32] BYERLY L, CASSADA R C, RUSSELL R L. The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*. I. Wild-type growth and reproduction[J]. *Developmental Biology*, 1976, 51(1): 23.
- [33] SCHERTZINGER G, ZIMMERMANN S, GRABNER D, et al. Assessment of sublethal endpoints after chronic exposure of the nematode *Caenorhabditis elegans* to palladium, platinum and rhodium[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 230: 31–39.
- [34] CAI Y, MI Y, ZHANG H. Kinetic modeling of antimony(III) oxidation and sorption in soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 316: 102–109.
- [35] LEUZ A, MÖNCH H, JOHNSON C A. Sorption of Sb(III) and Sb(V) to goethite: Influence on Sb(III) oxidation and mobilization[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(23): 7277–7282.
- [36] XI J, HE M, WANG K, et al. Adsorption of antimony(III) on goethite in the presence of competitive anions[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 132: 201–208.
- [37] BUSCHMANN J, SIGG L. Antimony(III) binding to humic substances: Influence of pH and type of humic acid[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(17): 4535–4541.
- [38] TSERENPIL S, LIU C. Study of antimony(III) binding to soil humic acid from an antimony smelting site[J]. *Microchemical Journal*, 2011, 98(1): 15–20.
- [39] FAN J X, WANG Y J, FAN T T, et al. Photo-induced oxidation of Sb(III) on goethite[J]. *Chemosphere*, 2014, 95: 295–300.
- [40] WILSON S C, LOCKWOOD P V, ASHLEY P M, et al. The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: A critical review[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(5): 1169–1181.
- [41] HOU H, YAO N, LI J N, et al. Migration and leaching risk of extraneous antimony in three representative soils of China: Lysimeter and batch experiments[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(9): 1980–1988.
- [42] 林祥龙, 孙在金, 陈卫玉, 等. 锑对土壤跳虫(*Folsomia candida*)的毒性效应[J]. 环境科学研究, 2017, 30(7): 1089–1097. LIN X L, SUN Z J, CHEN W Y, et al. Toxicity effect of antimony to soil-dwelling springtail (*Folsomia candida*) [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, 30(7): 1089–1097.

(责任编辑:李丹)