

基于稳定性同位素技术的土壤白符跳体内镉溯源及影响因素^①

李绍兵^{1,2}, 李柱^{1*}, 王孜楠¹, 梁芳¹, 刘么瑶¹, 周嘉文¹, 黄玉娟¹, 柯欣¹, 吴龙华¹

(1 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 本研究利用镉(Cd)同位素标记污染源和同源 Cd 的双同位素组成试验, 构建白符跳(*Folsomia candida*)体内 Cd 溯源量化模型, 并探究污染程度和食物差异等因子对白符跳体内 Cd 来源贡献的影响。研究创新性地构建了跳虫体内 Cd 二源和三源量化模型。结果表明, 在 Cd 溶液和食物双源系统下, 低 Cd 浓度处理下无论成虫还是幼虫, 白符跳体内 Cd 来源主要为食物源(85.0%、64.6%); 随着污染程度的增加, 溶液源 Cd 的贡献不断提升, 分别从 15.0%、35.4% 提高至 43.0%、73.9%, 且幼虫体内 Cd 溶液源贡献均高于相应处理的成虫。在 Cd 溶液源、秸秆和腐生真菌食物源三源处理下, 无论污染浓度高低, 跳虫均选择性地取食腐生真菌, 即使腐生真菌中 Cd 浓度远大于秸秆。可见, 白符跳对食物资源偏好的影响显著大于食物的污染程度。

关键词: 镉同位素; 同位素比值; 跳虫; 溯源

中图分类号: S154.5 文献标志码: A

Sources and Influencing Factors of Cadmium in *Folsomia candida* (Collembola) in Soil Ecosystems: A Stable Isotope Tracing Approach

LI Shaobing^{1,2}, LI Zhu^{1*}, WANG Zinan¹, LIANG Fang¹, LIU Siyao¹, ZHOU Jiawen¹, HUANG Yujuan¹, KE Xin¹, WU Longhua¹
(1 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, cadmium (Cd) isotope labeling of pollution sources and dual-isotope composition experiments for homologous Cd were employed to establish a quantitative tracing model for Cd sources in *Folsomia candida* (springtails) and to investigate the influence of factors such as pollution levels and dietary differences on the contribution of Cd sources in springtails. The study successfully developed two-source and three-source quantitative models for Cd in springtails. The results showed that in the dual-source system (Cd solution and food), under low Cd concentration treatments, both adults and larvae primarily accumulated Cd from food sources (85.0% and 64.6%, respectively). As pollution levels increased, the contribution of Cd from the solution source rose from 15.0% and 35.4% to 43.0% and 73.9%, respectively, with larvae consistently exhibiting higher solution-source contributions than adults under equivalent treatments. In the three-source system (Cd solution, straw, and saprophytic fungi), springtails selectively fed on saprophytic fungi, even when Cd concentrations in fungi were significantly higher than in straw, regardless of pollution levels. This indicated that the preference of *Folsomia candida* for food resources has a more significant impact on its Cd source than the level of food contamination. The findings of this study provided theoretical insights for blocking heavy metal uptake in soil fauna and remediating contaminated soil ecosystems.

Key words: Cadmium isotopes; Isotopic ratio; Collembolan; Source tracing

土壤重金属污染关系着生态安全和人体健康^[1]。2014年《全国土壤污染公报状况调查》^[2]显示, 我国农业土壤污染物超标点位中有 82.4% 的污染归类于金属和类金属污染, 其中镉(Cd)为首要污染物。大量 Cd 进入土壤环境后, 土壤动物将通过多种途径暴露

于其中^[3]。如土壤动物与土壤孔隙水直接接触, 可通过体壁和与水分交换的体表器官(如跳虫的腹管)吸收土壤溶液中的 Cd, 并在体内富集^[4]; 或者土壤动物通过取食土壤有机质、凋落物和微生物, 并通过肠道吸收 Cd 进入体内^[5-6]。Cd 是生物体的非必需元素,

①基金项目: 国家自然科学基金项目(41977136)资助。

* 通信作者(lizhu@issas.ac.cn)

作者简介: 李绍兵(1999—), 男, 安徽六安人, 硕士研究生, 主要从事土壤动物毒理学研究。E-mail: lishaobing@issas.ac.cn

生物细胞没有 Cd 的特异性离子通道或者运输蛋白^[7], 进入生物体中的 Cd 具有显著的毒害效应。Cd 在体内过量累积会抑制土壤动物的生长与繁殖^[8], 进而影响其生态功能。Liu 等^[9]的研究表明, Cd 通过改变蚯蚓的活动来降低其对落叶的分解能力。此外, 土壤动物体内富集的 Cd 还会通过食物链传递至更高营养级^[10], 进而对整个土壤生态系统以及人类健康造成危害。因此, 明确重金属进入体内的途径, 对降低土壤动物体内的重金属积累, 阻控其在生态系统中的传递至关重要。

目前鲜有关于土壤动物重金属暴露途径的报道。Vijver 等^[11]通过蚯蚓封口试验, 量化了蚯蚓体表暴露和食物暴露对 Zn 累积的相对贡献。然而, 封口过程可能干扰动物的正常生理代谢活动; 其次, 由于小型动物的个体尺寸限制, 封口操作并不适用于土壤中的小型动物。为了准确预测重金属的生物有效性和评估生态风险, 研究人员开发了一系列基于重金属离子活性的生物毒性预测模型。例如, Ardestani 等^[12]在砂培养基中, 利用生物配体模型(Biotic ligand model, BLM)系统研究了主要阳离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 和 H^{+})对白符跳(*Folsomia candida*)Cd 积累的影响。然而, 生物毒性预测模型主要考虑溶液暴露途径, 尚未将重金属的食物传递因素囊括在内。因此, 有必要开发一种能够量化小型动物体内重金属溶液暴露和食物传递的方法。

由于同位素组成具有独特的“指纹”特性, 重金属稳定同位素技术已被广泛应用于示踪重金属污染物来源及其迁移路径的研究^[13]。McBeath 等^[14]在肥料中添加 ^{67}Zn 同位素, 并结合电感耦合等离子体四极杆质谱仪(ICP-QMS, 精度 $<0.5\%$, RSD), 测定了小麦从肥料和土壤中吸收 Zn 的比例。Strady 等^[15]将 ^{110}Cd 和 ^{112}Cd 两种同位素分别添加到食物和溶液中, 揭示了牡蛎不同组织中 Cd 污染的短期生物累积动力学及迁移途径。同位素技术实现了不同源重金属的示踪量化, 但是这些研究都局限于两源体系, 尚缺乏三源甚至多源体系的量化方法。

土壤小型节肢动物在土壤食物网中占据关键营养级位置, 参与调控土壤碳氮循环、微团聚体形成、微生物群落结构以及植物病虫害抑制等过程, 对维持土壤生态功能和生态系统服务具有不可替代的作用^[16-19]。土壤小型节肢动物具有广食性特征, 重金属可通过多种食物途径进入体内, 但目前尚未建立针对土壤小型节肢动物体内重金属来源途径的定量研究方法。阐明土壤小型节肢动物体内重金属来源途径对污染土壤生态修复和食物链重金属阻控具有重要的理论和实践意义。

本研究以土壤小型节肢动物白符跳(*Folsomia candida*)为研究对象, 利用外源 ^{113}Cd 标记, 结合质量守恒定律构建 Cd 同位素溯源模型, 量化白符跳体内 Cd 的来源; 并针对白符跳的“多源化”食性特点, 利用 Cd 双同位素组成方法, 实现 3 种来源 Cd 的定量区分; 同时, 探究污染程度和食物源对白符跳体内 Cd 来源的影响, 以期对土壤小型节肢动物体内 Cd 积累的阻控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试仪器及工作条件

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, PerkinElmer NexION 2000)用于 Cd 同位素比值的测定, 用质量浓度为 $1\ \mu\text{g/L}$ 的 Li、Co、In、U、Ba、Bi、Ce 的调谐液进行仪器条件的调整优化, 使仪器灵敏度、氧化物离子产率、双电荷离子产率等各项指标达到最佳状态。

仪器工作条件为: 射频功率 $1\ 600\ \text{W}$, 雾化器气体流速 $1.2\ \text{L/min}$, 辅助气流速 $1.2\ \text{L/min}$, 采样深度 $5\ \text{mm}$, 蠕动泵转速 $20.0\ \text{r/min}$, 驻留时间 $1\ \text{ms}$, 死时间 $35\ \text{ns}$, 扫描次数 $1\ 000$ 。

1.2 供试跳虫

供试白符跳(*Folsomia candida*)由丹麦奥胡斯大学赠送, 在本实验室中已经长期稳定培养 20 余年。白符跳在湿润的石膏-活性炭培养基(比例为 $9:1$, m/m)中培养, 并放置在环境条件为 $8\ \text{h}$ 光照($800\ \text{Lx}$)和 $16\ \text{h}$ 黑暗循环、温度保持在 $(20\pm 1)\ ^\circ\text{C}$ 及 75% 湿度的人工气候箱内。为了维持适宜的湿度并提供食物, 每周两次向培养基中添加去离子水和干酵母(安琪酵母)。根据 OECD 导则中的动物标准同步化方法来获得同龄的白符跳: 将产卵期的白符跳转移至新的培养皿中, 待 $10\ \text{d}$ 后将这些白符跳所产的卵收集并置于卵片上, 然后将卵片放置于新制备的培养基中, 并撒上干酵母, $3\ \text{d}$ 后移除卵片, 即可得到虫龄为 $1\sim 3\ \text{d}$ 的幼虫^[20]。

1.3 试验设计与实施

1.3.1 白符跳 Cd 测定的质量偏差研究 在培养皿试验体系中, 选择 $13\sim 15$ 日龄的白符跳若干只, 接种于石膏-活性炭培养基上, 设置 10 个重复试验组。试验过程中, 使用含有 $50\ \text{mg/kg}$ 自然丰度 Cd 污染的酵母喂养白符跳。经过 $21\ \text{d}$ 的培养后, 收集所有的白符跳, 并测定单个个体的干物质量。随后对样本进行消解处理, 并测量白符跳体内 ^{113}Cd 与 ^{114}Cd 同位素比值, 以此评估消解过程及虫体本身可能带来的基质效应对测量结果准确性的影响。质量偏差用以下公

式计算：

$$\text{质量偏差} = \frac{\text{CPS}_{113}}{\text{CPS}_{114}}_{\text{样品}} / \frac{\text{CPS}_{113}}{\text{CPS}_{114}}_{\text{IUPAC-1}} \quad (1)$$

式中：CPS 为单位时间计数量(Counts per second)；IUPAC 表示国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry)提供的标准品。

1.3.2 白符跳体内 Cd 的来源 溶液源：在砂培体系中，使用去除有机质的河砂，并添加自然丰度的 CdCl₂ 溶液，制备成含 Cd 浓度分别为 0.1(Cd0.1)、1(Cd1)、10(Cd10)mg/kg 的砂基质，并将其在 60 °C 条件下烘干处理。根据 OECD 准则测定每单位质量河砂的最大饱和持水量，并调整砂培基质的含水量至最大饱和持水量的 60%(本次研究设定为 96 g/kg)。

食物源：本试验白符跳的食物为小麦秸秆和腐生真菌。小麦秸秆采自无污染农田，Cd 浓度 0.02 mg/kg；白腐真菌^[21](*Phanerochaete chrysosporium*)购自中国典型培养物保藏中心(武汉)，是一种耐 Cd 的腐生真菌，通过葡萄糖马铃薯液体培养基培养扩繁，冷冻干燥获得。小麦对 Cd 的富集系数参考自砂培体系下的数据^[22]；腐生真菌对 Cd 的富集系数通过在含 Cd 的葡萄糖马铃薯液体培养基中培养腐生真菌 5 d 后，离心过滤，冻干获得干物质，测定干物质中 Cd 浓度获得。基于上述获得的 Cd 的富集系数，对应砂培基质 Cd 处理浓度 0.1、1、10 mg/kg，小麦秸秆和腐生真菌的浓度分别为 22、100、462 mg/kg 和 60、109、2 743 mg/kg。

1.3.3 Cd 浓度对食物源影响试验 分别称取 100 g 配制好的 Cd0、Cd0.1、Cd1 和 Cd10 浓度的 Cd 污染砂于 350 mL 的塑料容器中，每个容器中加入 9.6 g 水，稳定一周。CaCl₂ 提取态(0.01 mol/L CaCl₂，固：液为 1：10)Cd 浓度分别为 0.05(Cd0.1)、0.46(Cd1)和 5.33(Cd10)mg/kg。选取同步化 9~12 d 的白符跳幼虫，分别导入砂培基质中，每个重复 300 只，培养 21 d。

单一食物腐生真菌处理：仅喂食腐生真菌(¹¹³Cd=80.2%)，4 个浓度梯度，3 次重复，共计 12 个样品；双食物源组(秸秆和腐生真菌)，喂食秸秆(¹¹³Cd=94.7%)和 ¹¹³Cd 高丰度的腐生真菌(¹¹³Cd=80.2%)为一组，秸秆(¹¹³Cd=94.7%)和 ¹¹³Cd 低丰度的腐生真菌(¹¹³Cd=64.0%)为一组，6 个 Cd 污染处理 6 次重复，无污染对照 3 次重复，共计 39 个样品。试验一周两次喂食食物和补充水分，食物放置于 1 cm² 锡纸上，以使溶液和食物相隔绝。

1.4 样品前处理与测定

白符跳通过温度梯度烘虫器提取，并对活体动物

进行 24~48 h 的清肠处理。使用 100 目的网筛对成虫和幼虫进行分离，之后将分离出的白符跳转移至 2 mL 离心管中，加入超纯水并超声处理 15 min，随后用超纯水冲洗 3 次以去除表面附着的重金属离子。清洗完毕后的白符跳在 -80 °C 下冷冻 12 h，之后置于冷冻干燥机中冻干 48 h。

首先对单个虫体进行称重，每个处理随机选取 5~6 只成虫，使用百万分之一天平(型号 XP6，METTLER TOLEDO)进行称量，每个样品重复 3 次以计算单个成虫的平均干物质量。然后，称取 1~2 mg 样品，与鲨鱼肝标准物质(Dolt-5 CRM)一起放入聚四氟乙烯管中，加入 0.45 mL 色谱级 68% 硝酸和 0.15 mL 优级纯 30% 过氧化氢，同时设置 3 个空白对照组和 3 个标准样品对照组。将这些样品放置于电热板，在 105 °C 条件下加热消解 4 h，然后在 180 °C 下继续加热直至管内剩余一滴浓稠液体。最后，将溶液转移至 10 mL 离心管中，加入 1% 的色谱级硝酸定容至 3 mL，过 0.45 μm 滤膜，存放于 4 °C 冰箱待测。原子吸收光谱仪(AAS, PerkinElmer PinAAcle 900Z)用于 Cd 总量测定，Cd 同位素比值采用电感耦合等离子体质谱仪测定。

1.5 溯源模型构建

跳虫体内的 Cd 来源于食物源和溶液源： $Cd_{\text{coll}} = Cd_{\text{food}} + Cd_{\text{solution}}$ 。而在两源体系中，通过 ¹¹³Cd 标记的食物源，再根据质量守恒定律，可以区分双源(食物和溶液)对汇(白符跳)的贡献：

$$^{113}\text{Cd}_{\text{coll}} = ^{113}\text{Cd}_{\text{food}} + ^{113}\text{Cd}_{\text{solution}} \quad (2)$$

$$^{114}\text{Cd}_{\text{coll}} = ^{114}\text{Cd}_{\text{food}} + ^{114}\text{Cd}_{\text{solution}} \quad (3)$$

式中：¹¹³Cd_{food} 和 ¹¹⁴Cd_{food} 分别表示来自食物中的 ¹¹³Cd 和 ¹¹⁴Cd 的质量；¹¹³Cd_{solution} 和 ¹¹⁴Cd_{solution} 分别表示来自土壤溶液中 ¹¹³Cd 和 ¹¹⁴Cd 的质量；¹¹³Cd_{coll} 和 ¹¹⁴Cd_{coll} 分别表示白符跳体内的 ¹¹³Cd 和 ¹¹⁴Cd 的质量。

式(2)和式(3)相除得到：

$$IR_{\text{coll}} = \frac{Cd_{\text{food}} \times WA_{113} + Cd_{\text{solution}} \times NA_{113}}{Cd_{\text{food}} \times WA_{114} + Cd_{\text{solution}} \times NA_{114}} \quad (4)$$

式中：IR_{coll} 是白符跳体内 ¹¹³Cd 与 ¹¹⁴Cd 的比值(^{113/114}Cd)；WA₁₁₃ 和 WA₁₁₄ 分别是食物源 ¹¹³Cd 和 ¹¹⁴Cd 相对丰度；NA₁₁₃ 和 NA₁₁₄ 分别是土壤溶液中 ¹¹³Cd 和 ¹¹⁴Cd 自然丰度。

公式(4)分子分母同时除以跳虫体内的 Cd 含量，结合 $Cd_{\text{coll}} = Cd_{\text{food}} + Cd_{\text{solution}}$ ，得到公式(5)：

$$f_{w-c} = \frac{IR_{\text{coll}} \times NA_{114} - NA_{113}}{WA_{113} - NA_{113} - IR_{\text{coll}} \times (WA_{114} - NA_{114})} \quad (5)$$

$$f_{w-c} + f_{s-c} = 1 \quad (6)$$

式中: f_{w-c} 、 f_{s-c} 分别为从食物和土壤溶液到白符跳体内 Cd 的质量分数。

在三源体系中, 根据质量守恒定律得到以下方程:

$$\delta_{total} = f_A \times \delta_A + f_B \times \delta_B + f_C \times \delta_C \quad (7)$$

$$f_A + f_B + f_C = 1 \quad (8)$$

式中: f_A 、 f_B 、 f_C 分别表示 A、B、C 各自源在混合物中的比例; δ_A 、 δ_B 、 δ_C 、 δ_{total} 分别表示 A、B、C 各自源的同位素比值和混合物的同位素比值。而只有这两个方程无法进行 A、B、C 3 个源的确定。由此, 根据 Whitman 和 Lehmann^[23]的理论研究, 改变其中

$$IR_{coll} = \frac{Cd_{food1} \times WA_{113} + Cd_{solution} \times NA_{113} + Cd_{food2} \times MA_{113}}{Cd_{food1} \times WA_{114} + Cd_{solution} \times NA_{114} + Cd_{food2} \times MA_{114}} \quad (13)$$

式中: WA_{113} 、 WA_{114} 为食物 1(food1)中 ^{113}Cd 、 ^{114}Cd 的相对丰度; MA_{113} 、 MA_{114} 为食物 2(food2)中 ^{113}Cd 、 ^{114}Cd 的相对丰度。因为有 3 个来源, 即 3 个未知数, 因此无法根据式(12)和式(13)直接解出每个源的贡献。

$$IR_{coll-1} = \frac{Cd_{food1} \times WA_{113} + Cd_{solution} \times NA_{113} + Cd_{food2} \times MA_{113}}{Cd_{food1} \times WA_{114} + Cd_{solution} \times NA_{114} + Cd_{food2} \times MA_{114}} \quad (14)$$

$$IR_{coll-2} = \frac{Cd_{food1} \times WA_{113} + Cd_{solution} \times NA_{113} + Cd_{food2} \times MA_{2113}}{Cd_{food1} \times WA_{114} + Cd_{solution} \times NA_{114} + Cd_{food2} \times MA_{2114}} \quad (15)$$

式中: IR_{coll-1} 和 IR_{coll-2} 分别为两个平行处理组 1 和组 2 中白符跳体内 $^{113/114}Cd$ 值; WA_{113} 、 WA_{114} 为食物源 1(food1)中 ^{113}Cd 、 ^{114}Cd 的相对丰度; MA_{113} 、 MA_{114} 为食物源 2(food2)中 ^{113}Cd 、 ^{114}Cd 的相对丰度;

$$IR_{coll-1} = \frac{f_{food1-c} \times WA_{113} + f_{s-c} \times NA_{113} + (1 - f_{s-c} - f_{food1-c}) \times MA_{113}}{f_{food1-c} \times WA_{114} + f_{s-c} \times NA_{114} + (1 - f_{s-c} - f_{food1-c}) \times MA_{114}} \quad (16)$$

$$IR_{coll-2} = \frac{f_{food1-c} \times WA_{113} + f_{s-c} \times NA_{113} + (1 - f_{s-c} - f_{food1-c}) \times MA_{2113}}{f_{food1-c} \times WA_{114} + f_{s-c} \times NA_{114} + (1 - f_{s-c} - f_{food1-c}) \times MA_{2114}} \quad (17)$$

$$f_{food1-c} + f_{food2-c} + f_{s-c} = 1 \quad (18)$$

式中: $f_{food1-c}$ 、 f_{s-c} 分别为从食物源 1(food1)和土壤溶液到白符跳体内 Cd 的质量分数; IR_{coll-1} 、 IR_{coll-2} 为白符跳体内 ^{113}Cd 与 ^{114}Cd 值。

1.6 数据处理

各处理组的数据先进行方差分析, 再进行 Tukey's HSD 检验。方差分析前, 分别使用 Levene 检验和目测检验方差齐性和残差分布; 如果仍不符合方差分析的前提条件, 则采用非参数和单因子 Kruskal-Wallis 检验, 然后进行 Dunn 检验。所有统计和数据分析绘图均使用统计软件 R(4.3.3)进行。

2 结果与分析

2.1 白符跳的基体效应对 Cd 同位素比值的影响

在仪器标准模式下, Cd 标准溶液的线性范围为

一个源的同位素组成得到新的方程:

$$\delta_{total-1} = f_A \times \delta_A + f_B \times \delta_B + f_C \times \delta_{C-1} \quad (9)$$

$$\delta_{total-2} = f_A \times \delta_A + f_B \times \delta_B + f_C \times \delta_{C-2} \quad (10)$$

$$f_A + f_B + f_C = 1 \quad (11)$$

式中: $\delta_{total-1}$ 、 $\delta_{total-2}$ 、 δ_{C-1} 、 δ_{C-2} 分别表示改变 C 源的同位素比值后, 不同混合物的同位素比值以及 C 源的同位素比值。而根据这 3 个方程可以进行 A、B、C 各自源的划分。

对于三源体系, 根据质量守恒定律给出下述两个方程:

$$Cd_{coll} = Cd_{solution} + Cd_{food1} + Cd_{food2} \quad (12)$$

同一源的双同位素组成设计: 即添加一个平行处理组, 该组仅某一个源的同位素组成存在差异, 其他均与第一个处理组相同。通过两个平行处理组, 将获得下面两个方程:

MA_{2113} 、 MA_{2114} 为附加处理食物源 2(food2)中 ^{113}Cd 、 ^{114}Cd 的相对丰度。

结合式(12)可以得到每个源的解:

0~200 $\mu g/L$, 其质量偏差为 0.04%~0.8%(平均值 0.4%)。对 37 个白符跳样品进行消解处理, 获得 0.09~25.4 $\mu g/L$ 的待测溶液。通过 3 次平行测试, 按浓度梯度将溶液划分为 0~1、1~10 和 10~20 $\mu g/L$ 3 个区间, 其质量偏差范围及平均值分别为 0.2%~10.8%(6.3%)、0.04%~5.0%(2.1%)和 0.3%~5.5%(1.5%), 其中 10~20 $\mu g/L$ 浓度区间的平均质量偏差最小。

2.2 两源系统下白符跳体内 Cd 的食物和溶液源贡献

随着培养基中溶液和食物中的 Cd 浓度升高, 白符跳体内 Cd 的生物累积量逐渐增加(表 1)。成虫体内的 Cd 浓度普遍高于相应处理条件下的幼虫。在污染砂培养基中 Cd 浓度分别为 0.1、1 和 10 mg/kg 时, 成虫体内的 Cd 生物累积浓度分别为 14.3、36.7 和 142 mg/kg。通过两源 Cd 同位素溯源方程分析了

不同污染浓度梯度下食物源和溶液源对 Cd 累积的贡献率。在低 Cd 浓度条件下(0.1 mg/kg), 无论成虫还是幼虫, 其体内的 Cd 主要来源于食物(腐生真菌), 成虫体内 Cd 的食物源贡献比例达到 85.0%。随着 Cd 浓度梯度升高至 10 mg/kg, 成虫体内 Cd 食物源贡献比例从 85.0% 显著降低至 57.0%($P<0.05$), 表明污染浓度升高显著增加了白符跳通过溶液源的 Cd 暴露风

险。此外, 在高 Cd 胁迫下, 成虫的体重显著降低。值得注意的是, 在幼虫体内, 当 Cd 处理浓度升高至 1 mg/kg 和 10 mg/kg 时, 溶液源的贡献率显著高于食物源, 分别达到 59.6% 和 73.9%($P<0.01$)。并且, 所有幼虫组的溶液源贡献率均显著高于相同污染浓度条件下的成虫($P<0.05$), 表明幼虫对溶液源的暴露更为敏感。

表 1 两源体系下白符跳成虫体重与体内 Cd 浓度和不同源贡献
Table 1 Body weight of adult *Folsomia candida*, internal Cd concentration and source contribution in dual-source system

白符跳	砂培养基 Cd 浓度 (mg/kg)	白符跳体内 Cd 浓度 (mg/kg)	Cd 不同源贡献(%)		白符跳体重 (μg)
			溶液	真菌	
成虫	0.1	14.3 \pm 0.7c	15.0 \pm 1.8c	85.0 \pm 1.8a	30.60 \pm 1.83a
	1	36.7 \pm 7.8b	23.7 \pm 1.3b	76.3 \pm 1.3b	32.94 \pm 2.46a
	10	142 \pm 18a	43.0 \pm 1.8a	57.0 \pm 1.8c	12.29 \pm 0.63b
幼虫	0.1	5.92 \pm 1.72c	35.4 \pm 7.8c	64.6 \pm 7.8a	ns
	1	11.4 \pm 0.7b	59.6 \pm 1.3b	40.4 \pm 1.3b	ns
	10	101 \pm 17a	73.9 \pm 3.2a	26.1 \pm 3.2c	ns

注: ns 表示未检测; 同列数据小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 三源体系下白符跳体内 Cd 的食物和溶液源贡献

鉴于双源条件下幼虫与成虫在不同浓度梯度中食物源和溶液源贡献率呈现一致趋势, 在三源试验中仅采集了成虫进行分析。在 0.1、1 和 10 mg/kg Cd 污染条件下, 成虫体内的 Cd 生物累积量分别为 10.6、32.3 和 160 mg/kg(表 2), 与两源试验相当。基于三源 Cd 同位素混合模型, 定量分析了不同污染浓度梯度下秸秆源、腐生真菌源和溶液源对白符跳体内 Cd 累积的相对贡献。与单一食物源试验结果相吻合, 在低 Cd 污染浓度(0.1 mg/kg)条件下, 成虫通过食物源的 Cd 暴

露风险显著高于溶液源($P<0.05$); 随着 Cd 污染浓度升高, 溶液源的贡献率从 9.40% 显著提高至 50.9% ($P<0.01$)。值得注意的是, 在不同 Cd 污染浓度梯度下, 成虫表现出明显的取食偏好性, 优先选择高 Cd 污染的腐生真菌而非低 Cd 浓度的秸秆。在 0.1 mg/kg 低污染条件下, 秸秆源对 Cd 累积的贡献率为 2.97%, 显著低于腐生真菌源的 87.6%($P<0.01$)。当 Cd 污染浓度升高至 10 mg/kg 时, 秸秆源的贡献率进一步降低至 1.34%, 而腐生真菌源的贡献率仍维持在较高水平(47.8%)。结果表明, 在污染环境中, 食物质量对白符跳取食选择性的影响显著大于食物中污染物的浓度。

表 2 三源体系下白符跳成虫体内 Cd 浓度和不同源贡献
Table 2 Cd concentration in adult *Folsomia candida* and contributions from different sources under a three-source system

砂培养基 Cd 浓度 (mg/kg)	白符跳体内 Cd 浓度 (mg/kg)	Cd 不同源贡献(%)			体重(μg)
		秸秆	溶液	真菌	
0.1	10.6 \pm 1.3c	2.97 \pm 4.19Ca	9.40 \pm 1.57Bc	87.6 \pm 5.5Aa	24.87 \pm 1.19a
1	32.3 \pm 3.2b	1.49 \pm 2.37Cb	22.6 \pm 2.0Bb	75.9 \pm 2.3Ab	27.56 \pm 1.69a
10	160 \pm 12a	1.34 \pm 2.47Bc	50.9 \pm 1.6Aa	47.8 \pm 3.9Ac	16.00 \pm 1.96b

注: 同列数据小写字母不同表示不同砂培养基浓度间差异显著($P<0.05$), 同行数据大写字母不同表示 Cd 不同源间差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 Cd 稳定性同位素溯源技术的应用条件和误差分析

实际样品中的复杂基质组分显著影响同位素分析性能, 导致测试准确度和精密性降低。与标准溶液

相比, 跳虫消解液的基质效应显著降低了 Cd 同位素测定性能(图 1)。当样品浓度低于 1 $\mu\text{g/L}$ 时, 测试偏差最大, 这主要归因于信号强度不足引起的统计噪声主导效应和叠加背景干扰等复杂因素。因此, 试验样品需确保达到特定浓度范围以保证数据质量。本研究结果表明, 消解液浓度需控制在 10~20 $\mu\text{g/L}$ 范围内

仪器测定的平均质量偏差最小(图 1)。基于消解液最终定容体积 3 mL, 所需跳虫体内 Cd 累积总量为 30~60 ng。实验室测定显示, 单个白符跳干物质质量范围为 17~124 μg , 平均值为 54.3 μg 。根据 Xiang 等^[24]的研究, 取食植物凋落物的跳虫干物质质量约为 10 μg 。Li 等^[25]的研究基于 28 个自然土壤样品, 测得跳虫体内 Cd 累积浓度范围为 2.44~85.7 mg/kg, 中位数 10.1 mg/kg。基于跳虫干物质质量 10 μg 和体内 Cd 浓度 10.1 mg/kg, 计算得出单只跳虫最低 Cd 累积量为 0.101 ng。因此, 为确保达到 Cd 测定的需要量 30 ng, 最终需要约 300 只跳虫。

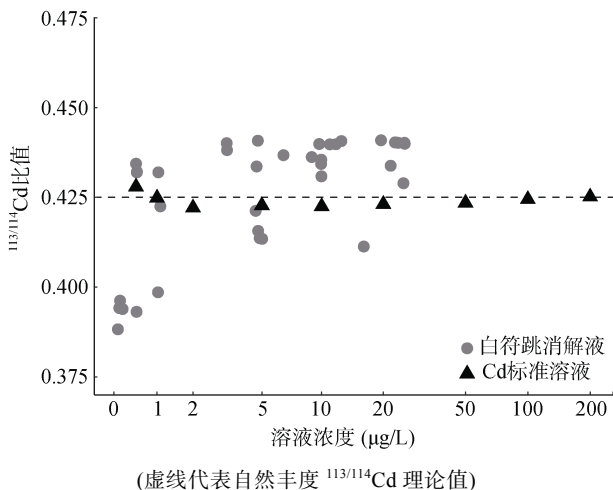


图 1 不同浓度白符跳消解液和 Cd 标准溶液的 $^{113/114}\text{Cd}$ 值

Fig. 1 $^{113/114}\text{Cd}$ ratios of different concentrations of *Folsomia candida* digestion solution and Cd standard solution

仪器对于同位素的测定偏差一般小于 5%, 目前的研究在两源体系中都是直接采用高富集的同位素样品和自然丰度的样品标记。例如, Künzli 等^[26]采用自然丰度的 Cd、Zn 和高纯度的 ^{111}Cd (相对丰度 96%)、 ^{67}Zn (相对丰度 97%)形成的两个输入源的 ^{67}Zn 与 ^{66}Zn 的同位素比值为 0.5 和 0.14, ^{111}Cd 与 ^{110}Cd 的同位素比值为 150 和 1.02。同样, McBeath 等^[14]也利用自然丰度的 Zn 和高纯度的 ^{65}Zn 标记。而在多源体系中, 需要配置区别于自然丰度的同位素组成进行试验。考虑到高纯度的同位素成本较高, 因此在三源体系中确保同位素的组成差异大于所采用仪器的测定偏差。

基于本研究的 Cd 同位素溯源模型的理论计算能够确定不同污染源的贡献值, 但在实际应用中需要注意以下问题。首先, 在三源系统中, 通过调整其中一个污染源的同位素组成来构建平行试验组, 该模型假设在这些平行组中跳虫的取食行为、Cd 吸收效率和排泄速率是一致的。然而, 在实际生物试验中, 个体

差异会导致平行组中的白符跳对不同污染源的摄入量、肠道吸收效率和排泄速率存在差异, 从而引入随机误差。此外, 在三源系统下, 当某一来源的贡献低于试验误差时, 3 个独立方程解析结果可能会得出负值的贡献值。例如, 在本研究的部分平行试验组中, 发现秸秆源 Cd 对跳虫体内 Cd 的贡献值出现了负值。这一异常现象可以归因于: ①秸秆源的实际贡献率非常低(<3%); ②生物试验中的随机误差以及仪器测量的系统误差共同影响了秸秆源贡献度的准确计算。

3.2 污染程度和食物差异对白符跳体内 Cd 来源途径的影响

在两源和三源体系中, 低 Cd 污染(0.1 mg/kg)下, 白符跳成虫体内 Cd 食物源的贡献均高于溶液源, 食物源 Cd 的贡献达到 85%, 而随着污染浓度升高, 溶液源的贡献逐渐增加。这一研究结果与蚯蚓的不同暴露途径一致, 在低 Zn 浓度(5 mg/kg)下, 蚯蚓体内 Zn 有 5% 是通过体表溶液途径摄入^[11]; 而在高 Zn (700 mg/kg) 处理, 体表溶液摄入增至 70%~79%^[26]。因此, 随着 Cd 污染程度增加, 跳虫体内 Cd 浓度和溶液中 Cd 浓度的相关性可能会提高, 这或许可以为 BLM 模型提供一个校正参数, 提高其对土壤小型节肢动物体内重金属的预测能力。在高 Cd 污染(10 mg/kg)下, 跳虫的生长受到显著抑制, 其成虫体重显著低于 0.1 和 1 mg/kg Cd 处理组, 跳虫在高 Cd 胁迫下可能影响到了体壁的渗透压调节, 从而可能增加跳虫体表溶液的摄入量, 导致溶液源 Cd 的增加。此外, 有研究表明, 动物可以通过加快排泄速率来缓解重金属的毒性^[27]。在高 Cd 胁迫下, 肠道吸收可能受到生理调节, 即使通过食物摄入较多的 Cd, 由于肠道吸收屏障作用, 大多数 Cd 可能通过废弃物排出体外。

本研究表明, 幼虫体内的 Cd 累积浓度显著低于成虫($P < 0.05$), 且在不同食物源处理下, 幼虫体内溶液源的贡献率均显著高于相应处理的成虫(表 1)。根据试验设计, 9~12 日龄的跳虫在 20 日龄左右开始繁殖, 卵的孵化期约为 10 d, 整个试验周期为 21 d。因此, 本试验中的幼虫处于 1~3 日龄阶段, 其个体质量和体型均显著小于成虫。幼虫体内溶液源贡献率较高的原因可能包括: ①较大的比表面积增加了与溶液的接触面积; ②体表疏水层结构尚未完全发育, 导致其与溶液的水分交换更为频繁。

食物资源的偏好和污染程度共同调控白符跳的取食策略^[28-30]。本研究中, 在腐生真菌与秸秆共存条件下, 无论污染程度高低, 白符跳体内 Cd 的主要来源均为腐生真菌, 其贡献率显著高于秸秆($P < 0.05$)。

这表明，白符跳的食物选择主要受食物资源偏好驱动，而对食物污染程度的响应相对较弱。因此，在相同Cd污染条件下，腐生真菌主导的生态系统中白符跳可能面临更高的食物暴露风险。由于对资源偏好更大，在污染系统中提供清洁的食物资源将能显著降低土壤跳虫的重金属暴露风险。

4 结论

本研究结合Cd双同位素标记和电感耦合等离子体质谱技术，建立了白符跳体内3种来源Cd的溯源方法。结果表明，在低Cd污染条件下，白符跳通过食物摄入Cd的风险更高，其体内85%~90%的Cd来源于食物；随Cd污染程度的增大，土壤溶液中Cd对白符跳的暴露风险随之上升。值得注意的是，在污染环境中，白符跳的食物选择更多地受到资源偏好的影响，而非食物的污染程度。本研究明确了土壤中小型节肢动物在不同污染水平下经不同途径接触Cd的贡献比例，为调控土壤动物体内重金属积累及受污染土壤生态系统的修复提供了理论依据。

参考文献：

- [1] Qin G W, Niu Z D, Yu J D, et al. Soil heavy metal pollution and food safety in China: Effects, sources and removing technology[J]. *Chemosphere*, 2021, 267: 129205.
- [2] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报 [EB/OL]. (2014-04-17). <https://www.gov.cn/foot/site1/20140417/782bcb88840814ba158d01.pdf>.
- [3] Wu Y F, Li X, Yu L, et al. Review of soil heavy metal pollution in China: Spatial distribution, primary sources, and remediation alternatives[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2022, 181: 106261.
- [4] Peijnenburg W J G M, Jager T. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003, 56(1): 63-77.
- [5] Morgan A J, Winters C, Yarwood A, et al. *In vivo* metal substitutions in metal sequestering subcellular compartments: X-ray mapping in cryosections[J]. *Scanning Microscopy*, 1995, 9(4): 1041-1060.
- [6] Fountain M T, Hopkin S P. Continuous monitoring of *Folsomia candida* (Insecta: Collembola) in a metal exposure test[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 48(3): 275-286.
- [7] Klinck J S, Wood C M. Gastro-intestinal transport of calcium and cadmium in fresh water and seawater acclimated trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2013, 157(2): 236-250.
- [8] 保琼莉, 李文华, 黄益宗, 等. 土壤 Cd 污染对跳虫 *Folsomia candida* 的生态毒性[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(2): 169-176.
- [9] Liu C, Duan C, Meng X, et al. Cadmium pollution alters earthworm activity and thus leaf-litter decomposition and soil properties[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 267: 115410.
- [10] Zhu D, Ke X, Wu L H, et al. Biological transfer of dietary cadmium in relation to nitrogen transfer and ^{15}N fractionation in a soil collembolan-predatory mite food chain[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 101: 207-216.
- [11] Vijver M G, Vink J P M, Miermans C J H, et al. Oral sealing using glue: A new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(1): 125-132.
- [12] Ardestani M M, van Gestel C A M. Biotic ligand modeling for the effect of major cations on the uptake of cadmium in *Folsomia candida* exposed in a sand-solution medium[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2024, 43(5): 1090-1096.
- [13] 张妙月, 尹威, 王毅, 等. 稳定同位素示踪土壤中重金属环境行为的研究进展[J]. *土壤学报*, 2022, 59(5): 1215-1227.
- [14] McBeath T M, McLaughlin M J, Kirby J K, et al. A stable-isotope methodology for measurement of soil-applied zinc-fertilizer recovery in durum wheat (*Triticum durum*)[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, 176(5): 756-763.
- [15] Strady E, Schäfer J, Baudrimont M, et al. Tracing cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (*Crassostrea gigas*) by multiple stable Cd isotope spike experiments[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(4): 600-606.
- [16] Maaß S, Caruso T, Rillig M C. Functional role of microarthropods in soil aggregation[J]. *Pedobiologia*, 2015, 58(2/3): 59-63.
- [17] Neher D A, Barbercheck M E, Neher D A, et al. Soil microarthropods and soil health: Intersection of decomposition and pest suppression in agroecosystems[J]. *Insects*, 2019, 10(12): 414.
- [18] 邵元虎, 张卫信, 刘胜杰, 等. 土壤动物多样性及其生态功能[J]. *生态学报*, 2015, 35(20): 6614-6625.
- [19] 董炜华, 李晓强, 宋扬. 土壤动物在土壤有机质形成中的作用[J]. *土壤*, 2016, 48(2): 211-218.
- [20] 单军, 季荣. 土食性大型土壤动物转化土壤有机碳的 ^{14}C 示踪法应用研究进展[J]. *土壤*, 2008, 40(6): 863-871.
- [21] Chen L, Zhang X, Zhang M, et al. Removal of heavy-metal pollutants by white rot fungi: Mechanisms, achievements, and perspectives[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 354: 131681.
- [22] Zhu B J, Liao Q L, Zhao X P, et al. A multi-surface model to predict Cd phytoavailability to wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 630: 1374-1380.

- [23] Whitman T, Lehmann J. A dual-isotope approach to allow conclusive partitioning between three sources[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 8708.
- [24] Xiang Q, Zhu D, Chen Q L, et al. Effects of diet on gut microbiota of soil collembolans[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 676: 197–205.
- [25] Li S M, Li Z, Ke X, et al. Cadmium toxicity to and accumulation in a soil collembolan (*Folsomia candida*): Major factors and prediction using a back-propagation neural network model[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2024, 31(16): 23790–23801.
- [26] Künzli M, Dürr-Auster T, Bracher C, et al. ^{67}Zn and ^{111}Cd labelled green manure to determine the fate and dynamics of zinc and cadmium in soil–fertilizer–crop systems[J]. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2024, 60(3): 286–308.
- [27] Ardestani M M, van Gestel C A M. Using a toxicokinetics approach to explain the effect of soil pH on cadmium bioavailability to *Folsomia candida*[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 180: 122–130.
- [28] Laycock A, Diez-Ortiz M, Larner F, et al. Earthworm uptake routes and rates of ionic Zn and ZnO nanoparticles at realistic concentrations, traced using stable isotope labeling[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(1): 412–419.
- [29] Gillet S, Ponge J F. Changes in species assemblages and diets of Collembola along a gradient of metal pollution[J]. *Applied Soil Ecology*, 2003, 22(2): 127–138.
- [30] González-Alcaraz M N, Malheiro C, Cardoso D N, et al. Soil moisture influences the avoidance behavior of invertebrate species in anthropogenic metal(loid)-contaminated soils[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 248: 546–554.

(责任编辑: 毛小芳)