

土壤整体质量的生态毒性评价

宋玉芳^{1,2}, 周启星^{1,2}, 宋雪英¹, 张薇¹, 孙铁珩^{1,2}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; 2. 沈阳大学沈阳环境工程重点实验室, 沈阳 110041)

摘要: 土壤样品采自沈阳西部污灌区, 进行了污染物(重金属和矿物油)含量分析和生态毒性试验. 重金属采用原子吸收分光光度计测定, 矿物油采用紫外分光光度计测定. 生态毒性试验分别参照国际标准组织(ISO)和 OECD 指南, 进行了植物毒性试验. 蚯蚓毒性试验和蚕豆根尖微核试验. 植物试验以小麦种子发芽根伸长抑制率为试验终点, 试验周期 50h. 蚯蚓毒性试验以蚯蚓死亡率、体重增长抑制率为试验终点, 试验周期 28d. 土壤中矿物油含量在 145 mg/kg ~ 1 121 mg/kg, 重金属 Cd 为 0.34 mg/kg ~ 1.81 mg/kg. 土壤对植物和蚯蚓显示不同程度的毒性效应, 土壤的蚕豆根尖微核率明显高于对照. 种子发芽根伸长抑制率为 2.0% ~ 35.1%, 蚯蚓死亡率为 0% ~ 40%. 体重增长抑制率由 14d 的 -2.3% ~ -19.4% 在 28d 增加到 -2.1% ~ 10.7%, 蚕豆根尖微核率最高达 6.62/100. 研究表明, 土壤中的污染物积累较低, 但具有明显的生态毒性.

关键词: 土壤; 污水灌溉; 蚯蚓; 高等植物; 生态毒性; 蚕豆根尖微核

中图分类号: X502 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)01-0130-05

Evaluation of Eco Toxicity of Integral Quality of Soils

SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, SONG Xue-ying, ZHANG Wei, SUN Tie-heng

(1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Key laboratory of Environmental Engineering of Shenyang, Shenyang University, Shenyang 110041, China)

Abstract: Soil samples are collected from several sites along the wastewater irrigation channel, western Shenyang. The concentration of heavy metal(Cd) and mineral oil is analyzed. The eco-toxicity of soil is evaluated. Heavy metal (Cd) is determined by atom adsorption spectrometer (AAS), mineral oil is measured by UV spectrometer. The eco-toxicity of soil is based on the method of international standardization of organization (ISO) and OECD guideline with some modification. With inhibition rates of root elongation of wheat as endpoint seed germination test was performed and the duration period was 50h. With lethal and sub-lethal effects as endpoint earthworms test was conducted and the experimental period was 28d. And micronuclear (MCN) test was conducted. Results show the mineral oil in soils were 145 mg/kg ~ 1 121 mg/kg, Cd was 0.34 mg/kg ~ 1.81 mg/kg. The inhibition rate of root elongation based on germination test was 2.0% ~ 35.1%, MCN in soil was significant higher than that in the control. The mortality rates of earthworms were 0% ~ 40%. The inhibition rates of body weight growth were -2.3% to -19.4% from 14d to -2.1% ~ 10.7% in 28d. The maximum value of MCN in soils was 6.62/100. The study indicates a lower accumulation of pollutants in soils but enhanced eco-toxicity.

Key words: soils; wastewater irrigation; earthworms; higher plants; eco-toxicity; *Vicia* micronucleus (MCN)

城市污水作为一种重要的资源用于农业灌溉在我国乃至世界都有着悠久的历史^[1,2]. 污水灌溉中水肥资源得到充分利用, 但是污灌将导致土壤中污染物的积累, 向地下水的运移或通过作物向食物链传输, 土壤-植物系统的污染将给人类健康带来潜在风险^[3-6]. 浑蒲污灌区位于沈阳市西部郊区, 以工业污水为主要成分的污水用于数万亩农田污灌的历史已有 40 余年. 有关土壤污染物的积累曾引起关注^[7,8], 但近年来的相关研究很少报道. 本文针对浑蒲污灌区污水中污染物的特点, 通过化学指标与生态毒理指标结合的方法, 进行土壤污染生态研究, 对污灌导致土壤整体污染的程度及由此带来的生态危害给予评价.

1 材料与方法

1.1 土壤

分别沿浑蒲污灌区的上中下游地带水稻田中采集土壤(0~10cm)样品(土壤理化性质见表 1), 沈阳地区土壤类型为草甸棕壤, 因此选择中国科学院沈阳生态实验站清洁草甸棕壤(0~20cm)为对照. 所有样品经过 5mm 筛, 使用前于 4℃ 保存. 蚕豆选用

收稿日期: 2004-02-04; 修订日期: 2004-05-11

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2004CB418503); 国家自然科学基金重点项目(20337010); 面上基金项目(20277041); 沈阳环境工程重点实验室基金及中科院沈阳应用生态研究所海外留学基金资助项目

作者简介: 宋玉芳(1954~), 女, 博士, 研究员, 主要从事陆地生态系统污染生态学研究. E-mail: Songyufang@hotmail.com

华中师范大学生物系筛选并培育的敏感品种松滋青皮豆(*Vicia faba*)。

表 1 试验土壤的某些物理化学性质

土壤编号	pH	有机质 / %	各种土壤 粒径占比 / %		
			粘粒 <0.002mm	粉(砂)粒 0.002~0.05mm	砂粒 0.05~2mm
1	5.70	1.74	17.71	47.22	35.07
2	5.49	3.14	17.38	47.40	35.22
3	5.69	1.77	14.88	29.87	55.25
4	5.66	1.95	17.08	23.53	59.39
5	6.43	1.23	29.49	30.21	40.30
6	5.26	1.57	19.55	32.79	47.66
7	5.93	1.66	22.41	29.76	47.83
CK	6.20	1.65	14.00	64.00	22.00

1.2 试验植物和蚯蚓

供试小麦(*Triticum aestivum* L.)种子购自辽宁省阜新种子站。试验开始前进行种子发芽率实验。将种子放置在潮湿的滤纸上,于暗处 25℃±2℃培养,种子发芽率≥95%。供试蚯蚓(*Eisenia fetide*)购于当地市场,蚯蚓重量为 300mg±10mg。

1.3 种子发芽试验

参照国际标准方法组织和 OECD 指南^[9,10]。根据初始试验结果确定小麦根伸长试验周期为 50h。试验均为 3 个重复。

1.4 蚯蚓毒性试验

蚯蚓毒性试验参照国际标准方法组织草案^[11]。分别于试验 14d 和 28d 记数每个处理的活蚯蚓数和蚯蚓死亡率,测定活蚯蚓重量。试验设 4 个重复,对照土壤与供试土壤同步进行。

1.5 土壤溶液浸提法进行蚕豆根尖微核实验

浸泡蚕豆种子 26~30h,25℃恒温培养 12~24h,将种子取出在 25℃再培养 36~48h。种子初生根长 2~3cm 可做样品监测。

称取过 5mm 筛土壤 50g 于 500mL 三角瓶中,加蒸馏水 250mL(水土比 5:1),充分振荡混均后静止 24h。取上清液进行染毒试验。将终止染毒的幼苗置于烧杯中用蒸馏水冲洗并修复 20h。25℃培养 24h。切蚕豆根尖 1cm,用诺卡氏液固定 24h。

固定根用水洗 2 次,再用 1mol/L HCl 在 60℃水浴浸泡 8min 使根尖软化。在暗处用 Schiff 试剂对上述软化的根尖在 30℃染色 24h。染色后将根尖用偏亚硫酸钠洗涤 2 次。将染毒处理根尖保存在 4℃蒸馏水中待制片用。切去根尖顶部 1mm,取根尖 2mm,放置在玻片上,滴加 45%醋酸 1 滴,用橡皮头轻轻的将根尖均匀压碎,在显微镜下观察,用计数器

计数,并查出微核数,以 1000 个细胞中出现的微核数表示微核千分率($MCN \times 10^3$):

$PI = \text{样品实测微核数} / (1/1000) \text{平均值} \div \text{对照中的微核数}$

污染等级划分为 3 个等级,即 1.5 以下为未污染;1.5~2.0 为轻污染;2.0~3.5 中度污染;3.5 以上重污染^[19]。

1.6 污染物成分分析

矿物油测定 称取 5g 过 1.0mm 筛风干土壤于 250mL 三口玻璃瓶中,加入 30mL 三氯苯于恒温水浴 70℃ 提取 1h。提取液通过装有 5g 无水硫酸钠的容器中过滤水分,重提取步骤 2 次,合并有机提取相。样品的矿物油含量用紫外分光光度仪测定^[12]。

重金属测定 称取 0.5g 过 1mm 风干土壤于 100mL 烧杯中,加入 20mL 王水, $HNO_3:HClO_4(3:1)$ 在 180℃砂浴上硝化 18h,提取液转移到 100mL 容量瓶中,用去离子水稀释定溶至刻度,原子吸收分光光度计测定 Cd 含量^[13]。

2 结果与讨论

2.1 土壤中 Cd 的积累

由图 1 可见,所有土壤中 Cd 的检测量超过土壤环境质量标准(0.3mg/kg)^[13],其中 5 个采样点土壤中 Cd 在 1.0~1.8mg/kg 之间。从土壤 Cd 的分布可见,灌渠上、中、下游地区土壤中 Cd 的积累量差别不大,这一结果与以往土壤 Cd 含量的至上而下含量依次减少的分布规律不同^[14],这表明土壤中 Cd 的逐渐下移。由表 1 可见,灌区土壤普遍的偏酸性性质(pH 值 5.26~6.43)对 Cd 的迁移与的重新从土壤中溶解与释放提供了有利条件,对加剧其向下游地区乃至地下水的迁移起重要作用。

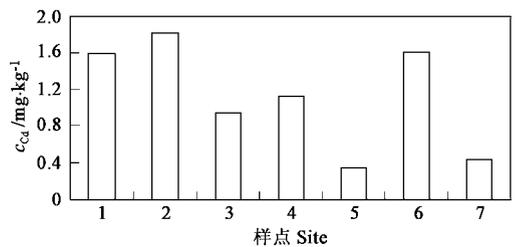


图 1 污灌区渠土壤中 Cd 含量

Fig. 1 Accumulation of Cd in soil tested

由图 2 可见,多数土壤样品中矿物油积累不明显(145mg/kg~282mg/kg),仅个别点(采样点 6)矿物油含量(1120.7mg/kg)超过土壤质量标准。孙

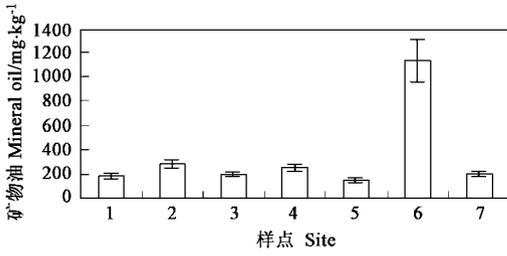


图 2 污灌区渠土壤中矿物油含量

Fig.2 Accumulation of mineral oil in soil tested

铁珩等人曾调查石化地区土壤(0~20cm)矿物油,发现矿物油含量在 30 mg/kg ~ 40 mg/kg^[15],而辽河下游草甸棕壤非污灌区土壤矿物油含量平均值为 43.72 mg/kg.污灌区土壤矿物油含量在 88.75 ~ 1175 mg/kg,土壤质地较粗糙的沙土地带,因容易污染物更易向地下渗漏,土壤中矿物油的残留较低^[16].以上分析可见,污灌土壤中矿物油含量仍明显高于非污灌区土壤.比较 20a 污灌土壤矿物油含量可见,长期污灌状态下土壤矿物油含量水平没有积累性增加.这可能与有机污染物的光解,好氧和厌氧生物降解速率等作用有关.

2.2 土壤的植物毒性

由图 3 可见,所有土壤都对植物生长产生毒性,导致对小麦根伸长不同程度的抑制和刺激效应.从小麦根伸长抑制率结果看,采自灌渠之首的土壤显示较弱的抑制毒性效应,而其他土壤对植物根伸长有明显的刺激作用.植物毒性反映了土壤整体的质

量性质,与所有污染组分的生物有效性有关.宋玉芳等人以投加重金属进行的植物毒性试验表明,污染物在低浓度下对植物根伸长有明显刺激作用,而在一定浓度之上开始产生抑制作用^[18],刺激作用与污染物浓度有关^[17,18].

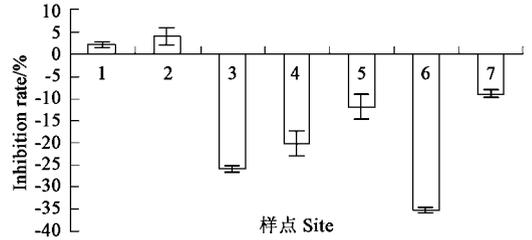


图 3 土壤对小麦根伸长抑制率

Fig.3 Inhibition rates of soil on root elongation of wheat

2.3 土壤对蚯蚓的毒性致死效应

分别测定了 14d 和 28d 的蚯蚓致死率.由图 4 可见,有 4 组土壤对蚯蚓产生致死毒性效应.其中 7 号土壤的毒性最强,14d 致死率 30%,28d 致死率为 45%.6 号土壤毒性其次,14d 死亡率为 10%,28d 增加至 15%,灌渠首土壤的毒性明显不及上述 2 个样品.14d 有蚯蚓死亡,28d 死亡率增加.其他土壤对蚯蚓无致死毒性,显然图 4 中土壤的毒性较强.对照土壤 28d 试验期内蚯蚓死亡率为 0.以蚯蚓致死率划分土壤的毒性,其顺序依次为:7>6>2>5>1,4,3.从图 1 和 2 可见土壤重金属和矿物油总浓度不高,上述土壤对蚯蚓的致死效应显然来自土壤的综合毒性^[18].

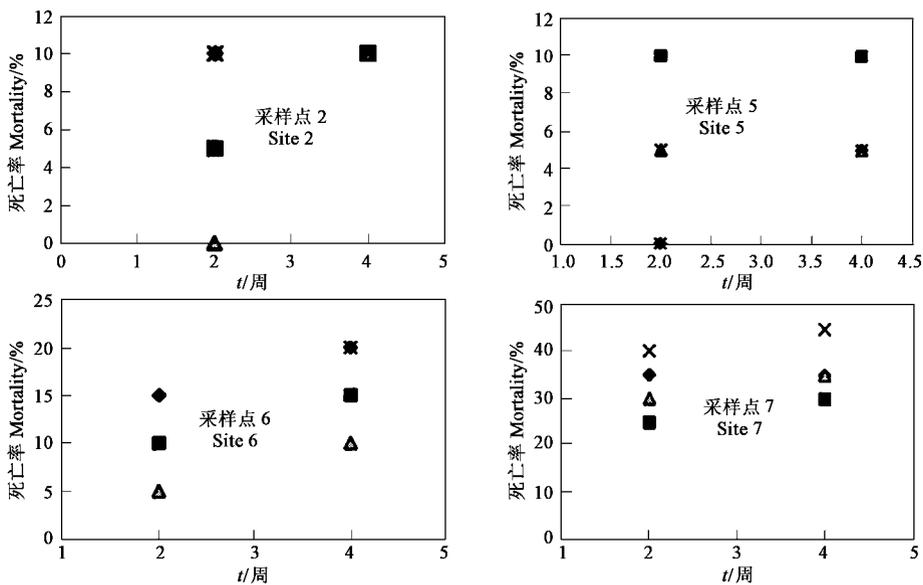


图 4 土壤中蚯蚓死亡率动态变化

Fig.4 Dynamic variation of mortality rate of earthworms in soils

2.4 土壤对蚯蚓体重增长的抑制效应

分别于 14d 和 28d 测定了蚯蚓体重增减的动态变化率.由图 5 可见,土壤对蚯蚓生长显示不同的毒性响应.多数土壤对蚯蚓生长有刺激作用,导致蚯蚓体重明显增加,当试验时间由 14d 延长到 28d 时情况发生变化,具体表现为以下 2 种形式,即刺激作用减弱,或刺激作用转变为抑制作用.与图 4 比较发现,引起蚯蚓死亡的土壤中,蚯蚓个体对土壤毒性的

响应不同.

在 28d 实验期内对照土壤蚯蚓体重持续增加,但总体变化不大.这与供试土壤中蚯蚓体重变化趋势不同,进一步说明供试土壤的低浓度混合污染的毒性特征.分析供试土壤对蚯蚓的生长影响,可从饥饿状态与污染胁迫 2 个方面考虑.整个实验过程中对照与供试土壤中的蚯蚓都没有喂养,但对照土壤中的蚯蚓经过 28d 的饥饿没有不良反应.但饥饿状态下的污染土

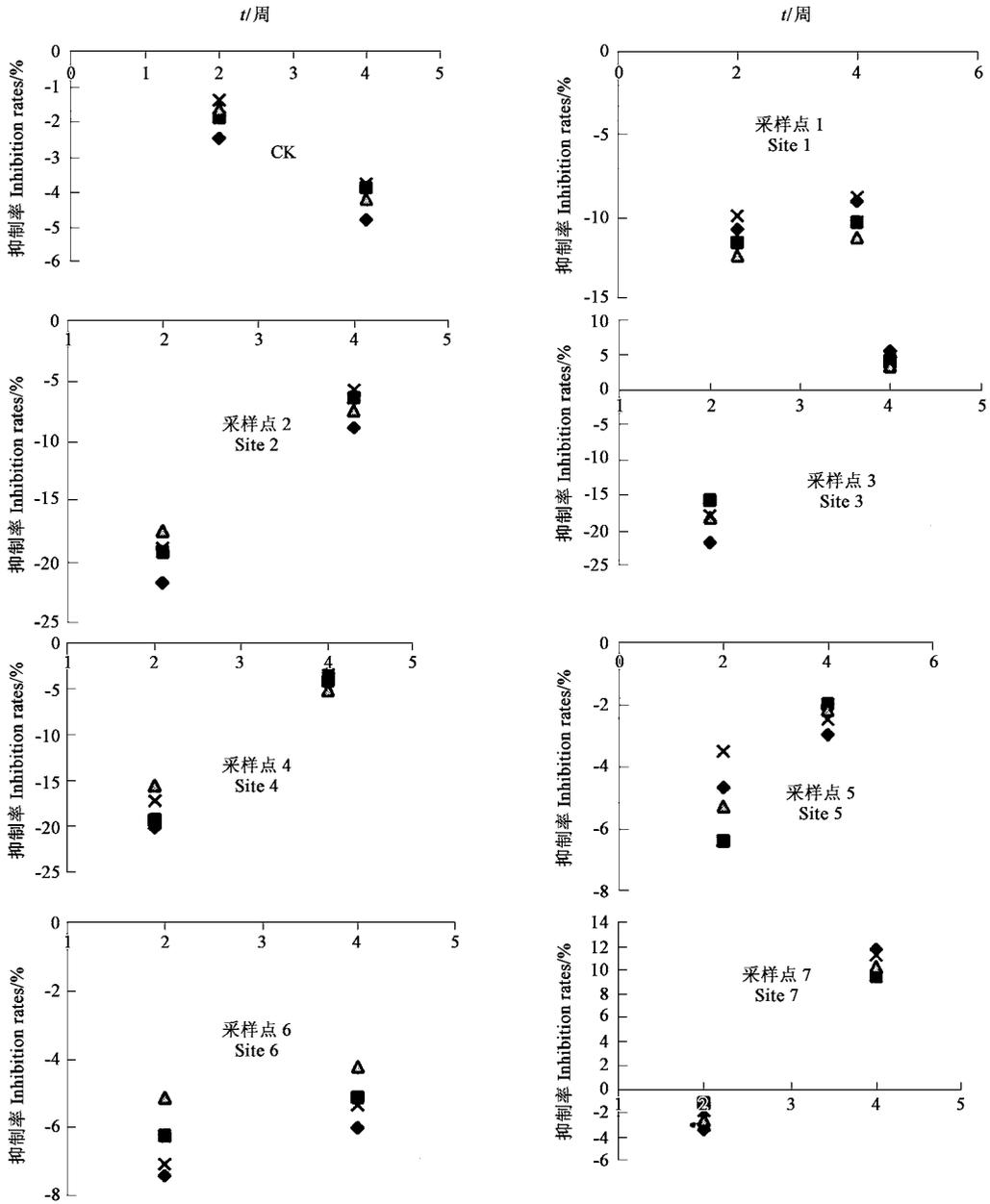


图 5 土壤中蚯蚓体重增长抑制率的动态变化

Fig. 5 Dynamic variation of the inhibition rate of body weight growth of earthworms in soils

壤中,蚯蚓体重明显减轻,这种变化显然与污染胁迫相关,而饥饿状态使污染胁迫的作用加强^[11].

2.5 蚕豆根尖微核率

由表 2 可见,灌区渠首土壤的微核数为

6.62%,明显高于其它土壤,这一结果说明,污灌区渠首土壤在长期污灌条件下,在接纳了较多污染物的过程中,土壤本身经历了最为复杂的污染生态学变化,土壤的质量受到一定程度的破坏,土壤性质也随之发生了不良的改变,土壤的特殊毒性明显增强.从土壤微核结果看,微核率与土壤接纳的污染物数量与质量有关,由此导致沿灌区渠首致渠尾土壤微核率逐渐减少,土壤的特殊毒性逐渐减弱.有机污染物在土壤中的净化过程中,不可能完全转化为无害产物二氧化碳,水和脂肪酸,不可避免会产生一些中间物质,其中有些是有毒的,这些有毒中间物质是土壤微核率增多的主要原因之一.

表2 土壤中的蚕豆根尖微核计数 (n=5)

Table 2 *Vicia* micronucleus (MCN) in soils

样品	MCN/1000 平均值	污染指数 PI	评价
1	66.2	36.2	重污染
2	8.0	4.4	重污染
3	5.0	2.7	中污染
4	3.5	1.9	轻污染
5	5.3	2.9	中污染
6	4.0	2.2	中污染
CK	1.83	1.0	

2.6 污染物含量与土壤毒性的相关性

试验结果表明,供试土壤中污染物积累程度与毒性之间有以下关系:①污染物浓度相对较高的土壤,其植物毒性和/或动物毒性也相对高;②污染物浓度相对低的土壤,毒性响应各有不同,其中一部分土壤有明显的植物毒性和特殊毒性,主要表现为植物生长的抑制效应,和很高的蚕豆根尖微核率,这说明这类土壤整体具有毒性组分.而另一部分显示明显的动物毒性和特殊毒性,主要表现为急性致死效应和比对照土偏高的微核率.这类土壤整体具有毒性.这类从化学尺度上轻度污染的土壤,其潜在的毒性属性需进一步界定.部分土壤即没有明显的植物毒性,也没有明显的动物毒性,说明这类土壤除了实验检测的化学指标浓度不高外,其他有害组分的含量不高,土壤整体毒性不大.

3 结论

初步对污灌区土壤进行了污染物积累和生态毒性研究.土壤中污染物积累水平不高.但所有土壤都显示不同程度的植物毒性,土壤动物毒性和特殊毒性.按照目前的国家土壤环境质量 II 类标准,以 Cd 为例,0.3 mg/kg 被认为基本对植物和环境不造成危害和污染.而农用污泥中污染物被控制标准中限

定 Cd 为 5 mg/kg (pH < 6.5).如果仅以某一种污染物的化学指标差别土壤质量,显然容易造成对污染物环境危害的疏漏.研究表明,以化学分析和生态毒理指标结合的方法,可以对环境样品的整体毒性和环境危害性给予更为科学的评价.

参考文献:

[1] 高拯民.土壤-植物系统污染生态学[M].北京:科学出版社,1986.1~6.

[2] 朱荫渭,周启星.我国土壤污染与农业环境保护的现状,理论与发展前景[J].土壤通报,1999,30(3):132~135.

[3] Angelakisa A N, Bontoux B L. Wastewater reclamation and reuse in Europe countries[J]. Water Policy, 2001, 3:47~59.

[4] Jamala M S, Al-Sammisa T W, Mexala J G, Picchionia G A, Zachritz W H. A growth-irrigation scheduling model for waste water use in forest production[J]. Agricultural Water Management, 2002, 56:57~79.

[5] 王学军,席爽.北京东郊污灌土壤重金属含量的克拉格插值与重金属污染评价[J].中国环境科学,1997,17(3):225~228.

[6] 张秀梅,唐以剑,章申.白洋淀地区土壤-植物系统污染物含量与变化规律研究[J].地理科学进展,1997,16(2):61~69.

[7] 庞奖励,黄春长,孙根年.西安污灌土壤重金属含量及对西红柿影响[J].土壤与环境,2001,10(2):94~97.

[8] 宋玉芳,常士俊,李利,马学军,孙铁珩.污灌土壤中多环芳烃的积累与动态变化[J].应用生态学报,1998,(1):93~98.

[9] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality—Determination of the effects of pollutants on soil flora[R]. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. 1993, ISO 11269-1.

[10] Organization for Economic Cooperation and Development, (OECD). Proposal for Updating Guideline 208: Terrestrial (Non-Target) Plant Test 208A: Seedling emergence and seedling growth test. Paris, France; European Committee, 2000, 208~209.

[11] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality—Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetide*)—part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substance. 1993, 11268-1.1~20.

[12] 城乡建设环境保护部环境保护局.环境监测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社,1986.129~331.

[13] 王新,梁仁碌.土壤-水稻系统重金属复合污染的生态效应[J].生态学报,2000,19(4):38~42.

[14] 宋玉芳,孙铁珩,张丽珊.土壤-植物系统中多环芳烃(PAHs)和重金属的行为研究[J].应用生态学报,1995,6(4):417~422.

[15] 孙铁珩,常士俊,杨祖凡,刘均祐.北京燕山石化地区土壤污染评价的研究-土壤-植物系统污染生态学[M].北京:科学出版社,1986.302~311.

[16] 刘均祐,常士俊,杨祖凡,谢重阁.辽河下游草甸棕壤矿物油环境容量研究——土壤-植物系统污染生态学[M].北京:科学出版社,1986.208~219.

[17] 宋玉芳,许华夏,任丽萍,龚平,周启星.土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒理效应[J].环境科学,2002,23(1):103~107.

[18] 宋玉芳,周启星,许华夏,任丽萍,宋雪英,龚平.土壤中菲、芘,1,2,4-三氯苯对蚯蚓的急性毒性效应[J].农村生态环境,2003,19(1):6~39.

[19] 杨辉,嵇庆.蚕豆根尖威吓试验法检测土壤污染的研究[J].农业生态环境,1997,(2):14~18.