

石油污染土壤植物修复后对陆生高等植物的生态毒性

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

(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. 沈阳大学环境工程重点实验室, 沈阳 110041)

摘要: 以经过 5a 植物修复处理后的石油污染土壤为供试土壤(柴油初始投加量分别为 5 000, 15 000, 30 000 mg/kg), 用重量法测定了土壤中残留矿物油含量, 同时, 以小麦(*Triticum aestivum* L.) 为供试植物, 以种子发芽及根伸长试验、早期幼苗生长试验、叶片内细胞色素 P450 单加氧酶(P450)含量、抗氧化酶(超氧化物歧化酶, SOD; 过氧化物酶, POD)活性及脂质过氧化产物(丙二醛, MDA)含量等为指标对受试土壤进行生态毒理学综合评价。化学分析结果表明, 各处理土壤中的矿物油均得到很好的去除, 矿物油残留量为 199~877 mg/kg, 降解率为 90.1%~97.2%。生态毒理学分析与化学分析的结果间存在某种程度的差异, 各处理土壤依毒理学指标不同显示不同的毒性效应。在各项指标中, 初生根长(48h)、根鲜重(7d)、P450 含量、SOD 活性及 MDA 含量等对各处理土壤的毒性具有很好的毒性指示作用。化学分析与生态毒理学分析的综合评价结果表明, 大部分中、高污染处理(即初始柴油投加量为 15 000 mg/kg 和 30 000 mg/kg)土壤的生态风险较高。

关键词: 生态毒性; 柴油; 植物修复; 土壤; 小麦; 抗氧化酶; 幼苗生长

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)09-1866-06

Soil-Based Eco-Toxicity of Petroleum to Terrestrial Higher Plant After Phytoremediation

SONG Xu-ying^{1,2}, SONG Yu-fang^{1,2}, SUN Tie-heng^{1,2}, LI Xin-xin¹, ZHANG Wei¹, ZHOU Qi-xing¹

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

Abstract: Petroleum-contaminated soil after five-year phytoremediation was taken as tested soil initially spiked with a serial diesel concentration of 5 000, 15 000 and 30 000 mg/kg (dry weight). Residual concentrations of mineral oil by chemical analysis of gravimetry, as well as the soil-based ecotoxicity to wheat (*Triticum aestivum* L.), the terrestrial higher plant by several ecotoxicological bioassays including seed germination and root elongation test, early seedling growth test, contents of cytochrome P450 monooxygenases, activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, SOD, and peroxidase, POD), and lipid peroxide (malondialdehyde, MDA) content in wheat seedling leaves, etc. were evaluated. Results showed that mineral oil was well removed in each treatment by chemical analysis, with residual concentrations ranging from 199 to 877 mg/kg (dry weight) and with total removal rates between 90.1% and 97.2%. The evaluating results by ecotoxicological assays differed to some extent from those by chemical analysis, meanwhile, ecotoxicity of each treatment differed depending on endpoints by different bioassays. Among the ecotoxicological indexes, root length (48h), root fresh weight (7d), contents of P450, activities of SOD, and contents of MDA, etc. exhibited better indication to the soil toxicity. The general evaluation by combining the two analyses chemical and ecotoxicological indicated that the ecological risk was higher in most intermediately- and heavily-contaminated treatments (initially spiked with diesel concentration of 15 000 mg/kg and 30 000 mg/kg).

Key words: ecotoxicity; diesel oil; phytoremediation; soil; wheat (*Triticum aestivum* L.); antioxidant enzyme; seedling growth

土壤的石油污染是世界性的环境问题之一。作为一种环境友好替代技术, 石油污染土壤的生物修复已受到更多相关领域研究者的重视^[1]。然而, 生物修复的成功运作并非简单易事, 事实证明, 恢复污染土壤原有生态功能和状态是一个长期而复杂的系统生态过程^[2]。在石油污染土壤的生物修复过程中, 由于难降解组分的残留和次生代谢产物或中间产物的存在, 虽然目标污染物的含量达到环境标准, 但土壤的生态毒性仍然很强^[2,3]。因此, 应该对修复后土壤的毒性进行科学全面的评价。目前, 国际上普

遍应用生态毒理学评价方法作为化学方法的有益补充, 而在我国以生态毒理学方法对生物修复土壤进行评价的研究则刚刚起步。

近些年来, 作为生态毒理学评价的一个重要的组成部分, 陆生高等植物的植物毒性测试被频繁地

收稿日期: 2005-10-29; 修订日期: 2005-12-27

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2004CB418503); 国家自然科学基金项目(20337010, 20277041)

作者简介: 宋雪英(1978~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染生态过程及生态毒理学, E-mail: songxy2002@hotmail.com

* 通讯联系人, E-mail: songyufang@iae.ac.cn

应用于污染土壤的描述、评价和修复过程的监测^[2,4-6]. 本文以化学分析和生态毒理学分析相结合的方法,对经长期生物降解后不同强化处理的柴油污染土壤进行整体性评价. 研究该土壤对陆生高等植物小麦生长和生理指标的毒性效应,从生态学角度揭示石油污染物残留和次生代谢产物对土壤生态系统的影响,同时对化学分析结果和生态毒理学结果进行相关分析,旨在为石油污染土壤生物修复的生态安全性提供科学依据,并探讨生态毒理学方法在生物修复中的应用价值和可操作性.

1 材料与方法

1.1 供试材料

以经过 5a 植物修复(苜蓿草)室外盆栽处理的柴油污染土壤为供试土壤,该植物修复研究采用 4 因素 3 水平的 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,具体的设计方案见表 1. 其中,受试土壤采自中国科学院沈阳生态试验站 0~20cm 表层清洁土壤,其部分理化性质见表 2;供试污染物为 20 号重柴油,购自抚顺石油二厂;有机肥鸡粪取自沈阳浑南养鸡场;接种的石油降解菌为 5 株细菌(*Acetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Micrococcus* sp., *Arthrobacter* sp., 和 *Bacillus* sp.) 和 5 株真菌(*Cephalosporium* sp. I, *Cephalosporium* sp. II, *Aspergillus* sp. I, *Aspergillus* sp. II 和 *Fusarium* sp.);植物修复用苜蓿草种子由阜新种子站提供.

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计¹⁾

Table 1 $L_9(3^4)$ orthogonal experiment design				
处理	柴油浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有机肥/%	细菌/%	真菌/%
S 1	5 000	0	2	5
S 2	5 000	2	0	2
S 3	5 000	5	5	0
S 4	15 000	0	0	0
S 5	15 000	2	5	5
S 6	15 000	5	2	2
S 7	30 000	0	5	2
S 8	30 000	2	2	0
S 9	30 000	5	0	5

1) 有机肥投加量为肥/土的质量比;细菌和真菌接种量为菌液/土壤的体积质量比.

对供试土壤的前处理如下:取出盆栽土壤,除杂、过筛,在阴暗处风干后装入塑料自封袋,待矿物油含量分析和小麦生态毒理学分析用. 所有试验用对照土壤为中国科学院沈阳生态试验站清洁土壤,处理同盆栽土壤.

毒性测试用小麦(*Triticum aestivum* L.)种子,

品种为辽春 14 号,购自辽宁省种子站.

试验中所用化学试剂均为分析纯.

表 2 $L_9(3^4)$ 盆栽试验用土壤的部分理化性质

Table 2 Some physiochemical properties of tested soil in the $L_9(3^4)$ pot experiment

pH	TOC/%	TN/%	TP/%	TK/%	CEC ¹⁾ / $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$
6.22	1.99	0.11	0.04	0.18	12.26

1) 阳离子交换量

1.2 化学分析

植物修复前后土壤矿物油含量分析采用重量法. 盆栽试验用土壤的理化性质采用常规分析^[7].

1.3 生态毒理学分析

试验中采用急性毒性方法(包括种子发芽及根伸长试验和植物生长急性毒性试验)和分子及细胞生态毒理方法(包括细胞色素 P450 单加氧酶、抗氧化酶和膜脂过氧化产物丙二醛等生物标记物的测定)对受试土壤进行生态毒理学分析.

种子发芽及根伸长试验:参照 OECD 方法^[8]. 在正式试验前进行了种子可靠性检验,种子发芽率 $\geq 95\%$ 满足试验要求. 以初生根长度达到 5mm 为发芽标准,每个处理 4 个重复. 小麦幼苗生长急性毒性试验的播种同种子发芽及根伸长试验,种子萌发后,进行光暗比为 14:10 的培养,7d 后,测定幼苗株高、地上部和根鲜重、P450 含量、抗氧化酶活性、MDA 含量及可溶性蛋白含量.

抗氧化酶测定:粗酶液提取参照文献[9]并略有调整. 取 0.50~1.00g 鲜叶,加入 5mL 0.05 mol/L pH7.8 磷酸缓冲液,内含 3% 聚乙烯吡咯烷酮,冰浴中用内切式匀浆机(XHF-1,宁波)以 7 000 r/min 匀浆 40s 后用 2 层纱布过滤,在低温超速离心机(CP 80MX,日立)中离心 20min(14 700 r/min, 3℃),上清液即为粗酶液. 于 0~4℃ 冰箱中保存,待测. MDA 采用与硫代巴比妥酸的定量反应测定,MDA 含量以每 mg 蛋白所含 MDA 的 μmol 数表示;SOD 采用氮蓝四唑法,单位为 U/mg,1 个酶活力单位(U)以每 min 抑制氮蓝四唑光化还原 50% 来表示;POD 采用愈创木酚法,单位为 $\Delta 470\text{nm}/(\text{mg}\cdot\text{min})^{-1}$,即以每 mg 蛋白每 min 在 470nm 处吸光度的变化值表示;可溶性蛋白采用考马斯亮蓝 G-250 法,以每 mL 含蛋白 mg 数表示. 具体可参见文献[9].

细胞色素 P450 酶液提取与含量测定:参照 Omura 等方法^[10],并进行了改良. 利用差速离心制备微粒体,重悬浮后加入连二亚硫酸钠还原,分光光

度计上测定 CO 差光谱, 根据波长 450~ 490 nm 的吸光度差及摩尔消光系数 91 mmol/(L·cm) 计算 P450 含量, 单位为 nmol/mg.

以上各指标测定时均设 3 个重复.

1.4 数据分析

试验数据经标准化后均使用统计软件包 SPSS 12.0 进行统计分析. 结果以平均值 ± 标准差的形式表示, 在取平均值前利用探索分析(explare)排除奇异值, 利用方差分析(ANOVA)中的 LSD (least-significant difference)-多重比较来检验不同处理间的结果差异显著性(α= 0.05). 此外, 利用双尾(two-tailed) *t* 检验对相应变量之间进行了相关分析.

2 结果与讨论

2.1 土壤中矿物油残留量与降解率

修复后各处理土壤中矿物油的残留量及降解率见图 1. 经过 5a 的植物修复, 各处理中的矿物油降解率均达到 90% 以上, 在 90.1% ~ 97.2% 范围内. 不同浓度处理间的降解率相比较, 如图 1 所示, 高污染处理组(S7 S8 S9)的降解率最高, 低污染处理组(S1 S2 S3)次之, 中污染处理组(S4 S5 S6)的降解率则最低. 可以看出, 在石油污染土壤的植物修复中, 污染物的初始含量与降解率间不一定成简单的正比关系, 因为生物修复是一个复杂的生态过程, 受诸多因素影响. 如果按照最终矿物油含量的高低来评价各处理的残留量, 由低到高顺序依次为 S2 S3、S1 S9 S8 S5 S6 S4 和 S7, 对应的矿物油残留量依次为 199、211、238、498、527、588、632、664 和 877 mg/kg.

2.2 各处理土壤的生态毒性评价

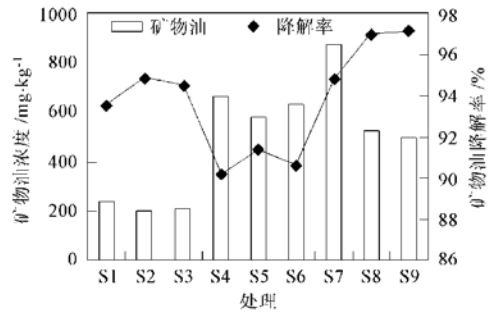


图 1 L₉(3⁴)各处理中矿物油含量及降解率

Fig. 1 Concentrations and degradation rates of mineral oil in L₉(3⁴) treatments

2.2.1 种子发芽及根伸长的急性毒性

在 48h 种子发芽及根伸长试验中测定了各处理的种子发芽率、初生根长和芽长, 结果以测定值是对照的相对百分比来表示(见表 3). 除 S4 外, 各处理的根长结果均低于对照, 其中, 中高污染处理中 S6、S7 和 S9 的毒性较大, 其根长分别为对照处理的 86.1%、84.5% 和 88.6%, 显著低于对照处理(*p* < 0.05), 而低污染处理组对根长影响则不明显, 如 S1、S2 和 S3 处理的根长分别为对照处理的 99.5%、98.2% 和 96.5%. 芽长除 S4 和 S6 外均不同程度地被刺激, 即高于对照, 但各处理间及其与对照间差异均不明显(*p* > 0.05). 此外, 各处理及对照间的种子发芽率差异也不显著(*p* > 0.05). 可见, 发芽率和芽长的敏感性低于根长, 这是因为种子的萌发主要依赖于储存在种子胚乳中的能量, 这使得其对环境污染的敏感性较低, 而植物的根能直接接触污染物因而具有较强的敏感性^[11].

然而, 尽管 48h 的根长结果对低污染与中高污

表 3 L₉(3⁴)各处理中种子发芽及根伸长和幼苗生长结果¹⁾/ %

Table 3 Results of seed germination and root elongation, and seedling growth in L₉(3⁴) treatments/ %

处理	48h 种子发芽及根伸长			7d 幼苗生长		
	发芽率	根长	芽长	株高	地上部重	根重
S1	91.4 ± 3.4	99.5 ± 2.6	109.2 ± 6.2	110.4 ± 16.3	124.8 ± 21.1*	106.3 ± 21.8
S2	98.3 ± 10.3	98.2 ± 7.7	109.3 ± 4.9	113.6 ± 8.1	127.8 ± 4.3*	119.9 ± 17.7
S3	100.0 ± 4.0	96.5 ± 4.7	101.3 ± 2.5	113.0 ± 5.1	127.0 ± 6.1*	101.9 ± 7.8
S4	93.1 ± 8.9	100.9 ± 9.6	97.2 ± 2.2	112.5 ± 15.0	115.9 ± 18.1	108.2 ± 10.0
S5	94.8 ± 3.4	94.7 ± 2.6	100.2 ± 10.4	116.9 ± 8.8	122.6 ± 14.2*	102.1 ± 9.8
S6	91.4 ± 3.4	86.1 ± 1.9*	93.0 ± 6.3	136.2 ± 9.0*	166.2 ± 12.0*	92.4 ± 9.9
S7	91.4 ± 6.6	84.5 ± 4.9*	103.3 ± 10.2	125.6 ± 7.0*	132.7 ± 7.9*	69.6 ± 8.5*
S8	100.0 ± 4.0	95.8 ± 2.4	104.0 ± 0.1	130.7 ± 14.0*	150.6 ± 14.3*	86.5 ± 13.1
S9	94.8 ± 8.7	88.6 ± 2.3*	103.8 ± 2.5	136.9 ± 6.9*	163.4 ± 11.2*	77.8 ± 11.6*

1) 表中数据是各项指标是对照结果的相对百分数, * 表示与对照处理间具有差异显著性, α= 0.05

染作出了相应的毒性响应,但是根长与矿物油的残留量和初始量在统计学上无显著相关性.许多研究证明,根长对有机污染胁迫(如菲、芘等)反应十分敏感,具有良好的剂量-反应关系^[12,13],然而,这些结果都是在纯化学品污染作用下或土壤刚被污染的条件下降得出的,对于经过长期生物修复后的污染土壤,由于土壤污染物等条件的复杂性而情况有所不同.即使这样,48h 的根长在一定程度上仍显示出其在指示有机污染状况方面的潜在优势.

2.2.2 幼苗生长的急性毒性

在幼苗生长急性毒性试验中测定了幼苗株高、地上部鲜重和根鲜重,结果以测定值为对照的百分比来表示(见表3).结果表明,各修复土壤对小麦幼苗株高与地上部鲜重均产生刺激,高于对照.比较不同处理间的株高和地上部鲜重,在中、高污染处理中随着土壤肥力的增加而增大,如在中污染处理 S4、S5 和 S6 中,平均株高分别为对照处理的 112.5%、116.9% 和 136.2%,在高污染处理 S7、S8 和 S9 中则分别为 125.6%、130.7% 和 136.9%,地上部鲜重也呈现出相同的规律(见表3),然而,肥力的增加对低污染处理(S1、S2 和 S3)的影响并不明显.这种差异说明,可能是肥力和污染物浓度的共同作用刺激了小麦幼苗地上部的生长,这方面还有待进一步研究.

与对照相比,S6、S7、S8 和 S9 中小麦幼苗的根鲜重受到不同程度的抑制,其中 S7 和 S9 显著低于对照($p < 0.05$).相关分析表明,矿物油残留量与土壤肥力对根鲜重无显著影响($p > 0.05$).然而,矿物油初始量及降解量与根鲜重呈极显著的负相关关系,相关系数 r 值分别为 -0.883 ($p < 0.01$) 和 -0.878 ($p < 0.01$).事实上,经过长期的生物修复过程,土壤中残留的柴油组分大多难降解且生物可利用性极低,同时这些污染物在土壤中可能发生老化与屏蔽,因此其植物毒性也相应较低.对柴油污染土壤残余代谢产物的分析表明^[3],其产物主要有 2 类.一类是溶解度大且生物可利用性较强物质,如脂肪酸,另一类是生物不可利用或很难利用的物质,如稠环芳香烃.有机污染物在水中的溶解度与其生物毒性显著正相关性,即溶解度越大,植物毒性越强^[12,14].在这种情况下,生物可利用性较强的矿物油代谢产物应该是导致土壤植物毒性的主要成分.因此,在有机污染土壤中,目标污染物含量的降低并不意味着土壤毒性的降低,对中间代谢产物应给予足够的重视.此外,地上部鲜重与根鲜重的比值从

S1 到 S9 依次为对照处理的 1.17、1.07、1.25、1.07、1.20、1.80、1.91、1.74 和 2.10 倍,地上部的旺盛生长很可能导致作物的倒伏,根系的退化则会使作物抗旱能力降低,这样,比值越大对作物生长越不利.因此,S6、S7、S8、S9 处理的生态风险较大.

比较幼苗生长急性毒性和种子发芽及根伸长的急性毒性结果发现,根部对土壤污染胁迫的响应在 2 个不同时间(2d 与 7d)的一致性较强,两者显著正相关 $r = 0.813$ ($p < 0.01$),地上部则不显著.对一些纯化学品污染的研究已表明,小麦对石油污染的耐性较高,且其根部对有机污染较敏感^[13].本试验结果进一步证明小麦根部指标(尤其是幼苗根重)对石油污染土壤质量的重要指示作用.经过长期植物修复后的柴油污染土壤,由于产生的中间代谢产物具有毒性且生物可利用性增加,进而引起植物毒性和其他生态毒性.

2.2.3 丙二醛(MDA)含量

膜脂过氧化产物 MDA 的含量是细胞膜受损程度的重要指标之一,可用于表示植物生存环境条件的恶劣程度^[15].柴油污染土壤植物修复前对小麦叶片中 MDA 含量的影响随着胁迫浓度增加呈低-高-低的趋势(数据未列出),即低浓度抑制,高浓度刺激,当污染严重到一定程度时,植物细胞的膜结构破坏,导致 MDA 含量降低.对于植物修复后土壤的试验结果表明(见表4),低污染处理组(S1、S2 和 S3)及中污染处理中 S4 的 MDA 含量均受到明显的刺激,而中高污染处理(除 S4)中的 MDA 含量均低于对照处理,尤其是 S5、S7 和 S9 中的 MDA 含量受到显著抑制,结合前面的化学分析结果可以认为,MDA 含量的降低是小麦对较高毒性土壤的响应.因此,MDA 结果从生理学角度证明 S5、S7、S9 等较高

表 4 小麦叶片中丙二醛含量及抗氧化酶活性¹⁾

Table 4 Contents of malondialdehyd (MDA) and activities of antioxidant enzymes in wheat leaves

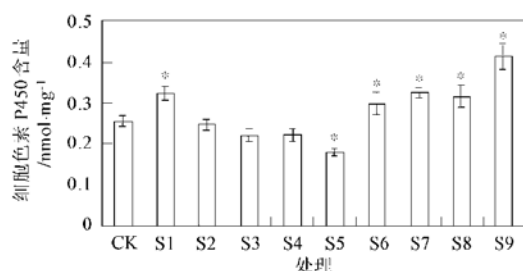
处理	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot(\text{mg}\cdot\text{min})^{-1}$	POD/ $\Delta 470\text{nm}\cdot(\text{mg}\cdot\text{min})^{-1}$
CK	1.65±0.07 (100)	61.6±1.1 (100)	8.0±0.6 (100)
S1	2.13±0.05 (129)*	60.9±1.0 (99)	8.6±0.3 (108)
S2	1.96±0.17 (119)*	32.1±4.1 (52)*	7.0±0.02 (87)*
S3	2.03±0.08 (123)*	29.7±2.7 (48)*	8.5±0.2 (106)
S4	2.37±0.21 (144)*	66.9±6.6 (109)	9.0±0.2 (113)*
S5	1.25±0.05 (76)*	43.9±6.2 (71)*	9.6±0.01 (120)*
S6	1.53±0.08 (91)	67.7±2.2 (110)	10.2±0.04 (127)*
S7	1.28±0.04 (82)*	89.0±2.3 (144)*	11.3±0.4 (141)*
S8	1.57±0.04 (95)	62.4±1.6 (101)	9.5±0.3 (118)*
S9	1.21±0.05 (76)*	92.6±2.3 (150)*	8.8±0.3 (110)*

1) 表中数据为平均值±标准差,括号内为相对百分数,*表示差异显著, $\alpha = 0.05$

污染处理土壤具有较强的植物毒性.

2.2.4 细胞色素 P450 含量

细胞色素 P450(简称 P450)是与有机化合物在植物体内生物转化有关的一系列酶,也是催化外来化合物生物转化第一阶段反应的酶系统,即通常是引入一个如羟基基团的极性部分. P450 含量的诱导能对有机体承载的毒物含量或对环境化学诱导物暴露程度起到灵敏的指示作用^[15, 16]. 图 2 是各处理小麦叶片 P450 含量结果. S1、S6、S7、S8 和 S9 处理中 P450 含量受到显著诱导,分别为对照处理的 125.9%、117.1%、127.2%、123.5% 和 161.3%,其他处理均低于对照,其中, S5 受到显著地抑制,为对照的 70.1%. P450 含量被诱导的处理中,其有毒物质含量可能相对较高, S6、S7、S8 和 S9 处理证明了这一假设,因为与前面的急性毒性和 MDA 分析结果相吻合. 然而,对于 P450 含量在低污染组的 S1 处理中的诱导,尚无合理的解释. 对于 S5,其 P450 活性的显著抑制与 MDA 结果一致,这可能是因为该污染土壤对植物细胞的膜结构产生破坏,进而导致 P450 含量的降低.



* 代表与对照差异显著, $\alpha = 0.05$

图 2 小麦叶片中细胞色素 P450 含量

Fig. 2 Cytochrome P450 contents in wheat leaves

2.2.5 抗氧化酶活性

所有需氧生物中普遍存在抗氧化系统,其中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)都是植物体内重要的膜保护酶之一,防御活性氧或其他过氧化物自由基对细胞膜系统的伤害. 抗逆境胁迫和防止细胞衰老^[17, 18]. SOD 是一种以氧自由基为底物的酶,在活性氧代谢中处于重要地位,能把超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)歧化成 O_2 和 H_2O_2 . 由表 4 中 SOD 结果可以看出,中高污染处理中除 S5 的 SOD 活性显著低于对照外, S4、S6、S7、S8 和 S9 与对照处理相比受到刺激,其中 S7 和 S9 显著高于对照($p < 0.05$),低浓度处理中 S1 与对照相当, S2、S3 则显著低于对照. SOD 结果与第一阶段反应酶 P450 结果相比较,两

者在统计学上具有显著的相关性, $r = 0.762$ ($p < 0.05$),这表明在有机污染胁迫下 SOD 活性与 P450 含量具有较好的一致性.

POD 是植物体内 H_2O_2 清除酶之一,能把 H_2O_2 转化成 H_2O . 试验结果表明(见表 4),所有中高污染处理即 S4~S9 中, POD 活性在统计学上均显著高于对照,而低污染处理组中除 S2 低于对照外, S1 和 S3 与对照相当. POD 活性总体上随着污染的加重(由低污染到中高污染)呈上升趋势,这与 P450 和 SOD 的反应略有不同,如 S5 处理对 P450 和 SOD 2 种酶活性已造成明显的破坏作用(显著低于对照),这说明 P450 和 SOD 2 种酶对有机污染物的敏感性略大于 POD.

对各处理土壤中目标污染物的化学分析与生态毒理学分析所得到的结果间存在着差异. 化学分析得到的土壤毒性由低到高顺序依次为 S2、S3、S1、S9、S8、S5、S6、S4 和 S7,生态毒理学测试中由于不同指标或生物标志物对污染物的测试终点不同因而存在着差异,但总体结论是一致的,即低污染处理组(S1、S2 和 S3)和中污染处理中的 S4 生态风险较低(尽管 S4 的污染物含量较高),接近于对照,其余处理尤其是 S7 和 S9 则毒性较强(尽管 S9 的污染物含量较低). 本文应用的生态毒性评价指标中,急性毒性试验的根部指标(根鲜重和根长)与土壤污染程度间有较好的线性相关性;分子及细胞生态毒理指标随着有机污染的加重往往呈低-高-低的趋势,即当污染物超过一定限度时,其线性关系被破坏,但因其能更早更灵敏地指示环境变化因而仍具有较强的实际应用价值.

3 结论

(1) 在污染土壤修复过程中,土壤中目标污染物的残留量与其生态毒性不成正比,某些中间代谢产物的残留常使土壤毒性复杂化. 污染土壤的生态毒理学评价,是从生态学角度衡量土壤健康质量的重要方法,是土壤质量及土壤污染化学评价的重要补充.

(2) 对土壤目标污染物的化学分析与土壤生态毒理学分析所得到的结果间存在着差异,生态毒理学结果因不同指标或生物标志物对污染物的测试终点不同而存在着差异. 在工程实践中,应结合化学方法和生态毒理学方法对土壤生态系统的整体毒性和质量进行科学全面的评价.

(3) 在生态毒性评价指标中,急性毒性试验的根

部指标(根鲜重和根长)与土壤污染程度间有较好的线性相关性,分子及细胞生态毒理指标(如 P450 含量 MDA 含量和 SOD 活性)由于能更早、更灵敏地指示环境变化而具有一定优势.多种生态毒理指标的结合和相互补充,在实际工程中为科学全面的评价提供重要保障.

参考文献:

- [1] 宋雪英,宋玉芳,孙铁珩,等.石油污染土壤中芳烃组分的生物降解与微生物生长动态[J].环境科学,2004,25(3):115~119.
- [2] 宋玉芳,宋雪英,张薇,等.污染土壤生物修复中存在问题的探讨[J].环境科学,2004,25(2):129~133.
- [3] Volker R, Dietmar M, Monika M. Analytical characterization of the persistent residues after microbial degradation of mineral oils[J]. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1996, 356: 378~384.
- [4] Silva I R, Jot Smyth T, Israel D W, *et al.* Altered aluminum inhibition of soybean root elongation in the presence of magnesium [J]. Plant and Soil, 2001, 230: 223~230.
- [5] Gong P, Wilke B-M, Fleischmann S. Soil-based phytotoxicity of 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT) to terrestrial higher plants [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 36: 152~157.
- [6] Knoke K L, Marwood T M, Cassidy M B, *et al.* A comparison of five bioassays to monitor toxicity during bioremediation of pentachlorophenol contaminated soil [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1999, 110: 157~169.
- [7] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,1999.1~638.
- [8] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). Proposal for Updating Guideline 208: Terrestrial (Non-Target) Plant Test 208A - Seedling emergence and seedling growth test [C]. OECD Guideline for Testing of Chemicals 208, Paris, OECD, 2000, 208~209.
- [9] 张志良,瞿伟菁.植物生理学试验指导[M].(第三版).北京:高等教育出版社.2003.
- [10] Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes[J]. Journal of Biological Chemistry, 1964, 239(7): 2370~2378.
- [11] 刘宛,宋玉芳,周启星,等.氯苯胁迫对小麦种子发芽和幼苗生长的影响[J].农业环境保护,2001,20(2):65~68.
- [12] 宋玉芳,周启星,许华夏,等.菲、芘、1,2,4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应[J].生态学报,2002,22(11):1945~1950.
- [13] 程云,周启星,宋玉芳,等.活性 X-3B 红染料对作物生态毒理指标影响的比较研究[J].应用生态学报,2002,13(2):133~136.
- [14] 金相灿.有机化合物污染化学-有毒有机污染物化学[M].北京:清华大学出版社,1990.55~60.
- [15] Debus R, Hund K. Development of analytical methods for the assessment of ecotoxicological relevant soil contamination [J]. Chemosphere, 1997, 35(1/2): 239~261.
- [16] 冷欣夫,邱星辉.细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景[M].北京:科学出版社,2001.
- [17] Tang C F, Liu Y G, Zeng G M, *et al.* Effects of exogenous spermidine on antioxidant system responses of *Typha latifolia* L. under Cd²⁺ stress [J]. Journal of Integrative Plant Biology Formerly Acta Botanica Sinica 2005, 47(4): 428~434.
- [18] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2004.161~274.
- [19] 杨盛昌,吴琦. Cd 对桐花树幼苗生长及某些生理特性的影响[J].海洋环境科学,2003,22(1):38~42.