

土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应¹

宋玉芳¹, 许华夏¹, 任丽萍¹, 龚平², 周启星¹ (1. 中国科学院应用生态研究所陆地生态过程开放实验室 沈阳 110016; E-mail: Songyufang@hotmail.com; 2. 加拿大国家研究院生物技术研究所, 安大略, 魁北克 H4P 2R2)

摘要:测定了水溶液和 4 种土壤(红壤、草甸棕壤、暗棕壤和栗钙土)条件下,铜、锌、铅、镉单一污染对白菜种子发芽与根伸长的抑制率,以及暗棕壤条件下重金属的复合污染效应。结果表明,同一浓度下,重金属对白菜根伸长抑制率均明显大于对种子发芽抑制率,重金属在土壤中对白菜根伸长抑制效应明显低于其在水体中的抑制效应,这表明土壤对重金属污染有重要的缓冲作用。铜、锌、铅、镉污染对白菜根伸长抑制率与土壤有机质和土壤氮含量显著负相关,但与土壤 pH 和土壤钾含量的相关性不显著。铜、锌、铅、镉单一污染对白菜根伸长为刺激作用浓度下,复合污染即产生明显的协同作用,其结果使白菜根伸长的抑制效应阈值明显降低。

关键词:土壤; 重金属; 种子发芽; 根伸长抑制率; 复合污染

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)01-05-0103

Eco-toxicological Effects of Heavy Metals on the Inhibition of Seed Germination and Root Elongation of Chinese Cabbages in Soils

Song Yufang¹, Xu Huaxia¹, Ren Liping¹, Gong Ping², Zhou Qixing¹ (1. Open Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China E-mail: Songyufang@hotmail.com; 2. Biotechnology Research Institute, National Research Council of Canada, Montreal, Quebec H4P 2R2, Canada)

Abstract: The Eco-toxicity effects of individual Cu, Zn, Pb and Cd on the inhibition of seed germination and root elongation of Chinese cabbages (*Brassica pekiensis*) were tested in four types of soils (red loam soils, meadow brown soils, chestnut soils and dark brown soils) and water solution. The combined effects of heavy metals pollution were determined with meadow brown soils. Results indicated that with same concentration, the inhibition rates of heavy metals on root elongation of Chinese cabbages are stronger than that on the seed germination. The inhibition effects of heavy metals on the root elongation of Chinese cabbages in soils are much lower than that in water, indicating that soils play an important role of buffering on heavy metals pollution. Inhibition rates of heavy metals on the root elongation (IRHMRE) of Chinese cabbages are significantly negative related with the contents of organic matter (OR) and Kjeldahl nitrogen (K-N) in soils, however, there is no significant related between IRHMRE and soil pH, so does the content of T-K. In the concentrations that result in the irritated effect in the single form of Cu, Zn, Pb and Cd pollution, synergic effects are produced significantly when four heavy metals are combined. As the results, the threshold values that result in the inhibition effects on root elongation in Chinese cabbages decrease markedly.

Key words: soil; heavy metal; seed germination; inhibition rate of root elongation; combined pollution

利用高等植物的生长状况监测土壤污染程度,是从生态学角度衡量土壤健康状况,评价土壤质量的重要方法之一^[3,5,6,8,9]。

目前已建立的高等植物毒理试验方法主要有 3 种,即根伸长试验、种子发芽试验和早期植物幼苗生长试验^[5,6,10]。最初,这类试验主要用于纯化学品的毒性检验,但随着土壤污染生态毒理学评价需求的日益增加,

该方法的应用范围已扩展到废物倾倒点、土壤污染现场以及土壤生物修复过程。有关方面的研究已有较多报道^[4,7,8,11]。土壤类型、土壤理化性质(如有机质、pH、

基金项目:中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-401);973 资助项目(G1999011808)

作者简介:宋玉芳(1954~),女,博士,副研究员,主要研究方向为污染生态学。

收稿日期:2000-12-29;修订日期:2001-03-06

CEC和土壤团粒组成)与污染物的毒性响应剂量-效应关系已受到研究者的关注^[12],但这方面研究报道甚少.

本文选择我国具有代表性的4类典型土壤(红壤、草甸棕壤、暗棕壤和栗钙土),进行重金属铜、锌、铅、镉污染对白菜种子发芽与根伸长抑制的研究.通过植物发芽和根伸长受抑制的程度,确定不同类型土壤中重金属铜、锌、铅、镉的生态毒性及生物可利用性;以及土壤性质与重金属污染的剂量-效应关系.该研究也可作为筛选具有土壤污染指示作用的敏感指标提供实验科学依据.

1 材料与方法

表 1 供试土壤的某些理化性质

Table 1 Some physical and chemical properties of tesed soils

土壤类型 Soil type	T-P / %	T-K / %	T-N / %	pH (H ₂ O)	O.M / %	CEC/100g	T-Cu / mg·kg ⁻¹	T-Zn / mg·kg ⁻¹	T-Pb / mg·kg ⁻¹	T-Cd / mg·kg ⁻¹
红壤	0.04	0.684	0.065	5.17	0.96	2.24	13.6	17.4	5.45	0.21
草甸棕壤	0.04	0.183	0.091	6.22	1.65	12.26	32.9	28.1	11.1	0.17
栗钙土	0.04	0.550	0.255	7.48	4.75	26.76	19.85	52.0	12.1	0.26
暗棕壤	0.06	0.718	0.430	6.40	9.76	12.22	33.7	64.8	18.2	0.18

(1) 预备试验 称取 50g 风干土壤于 900 mm 直径的玻璃培养皿中,将以几何级数配制的重金属水溶液均匀的加入培养皿中,用去离子水调节土壤含水量至最大持水量的 60%,并将其置于恒温培养箱中 25℃下平衡 48h 后,用医用镊子将白菜种子均匀播种于土壤中(放置种子时,保持种子胚根末端和生长方向呈直线),盖好玻璃培养皿,置于恒温培养箱中 25℃暗处培养 42h. 对照种子发芽率 > 90%, (本实验白菜发芽率 98%) 根长度 20 mm 时,实验结束.确定种子发芽和根伸长抑制浓度(Inhibition concentration, IC) 达到 10%~50%抑制率的区间后,开始正式试验.

(2) 正式试验 根据预备实验结果,在种子发芽和根伸长抑制浓度 IC 达到抑制率 10%~50%范围内,设置至少 6 个不同处理浓度.每个处理为 15 粒种子.实验设 3 个重复.在与预备试验相同的温度和水分条件下,进行种子发芽与根伸长培养试验.实验结束时,测定各处理浓度土壤的种子发芽和根伸长长度平均值及标准偏差.若得不出发芽率和根伸长抑制率 IC10%~IC50%值,重新进行试验,直至确定 IC10%~IC50%的浓度范围^[10],并以浓度-抑制率绘制曲线进行回归分析.

(3) 重金属测定方法 试验测定处理和对照土壤中重金属浓度和背景值.重金属全量采用 HNO₃-KClO₃

1.1 供试材料

(1) CuSO₄·5H₂O, ZnSO₄·7H₂O, Pb(NO₃)₂, CdCl₂·2.5H₂O, 均为分析纯.

(2) 受控环境生长箱,硬质玻璃培养皿,无灰定性滤纸,石英砂.

(3) 供试土壤和种子.供试土壤均为 0~20cm 表土.红壤采自湖南省长沙市郊区;草甸棕壤采自中国科学院沈阳生态实验站;暗棕壤采自黑龙江省齐齐哈尔市郊区.栗钙土采自内蒙古霍林河露天煤矿区.白菜 (*Brassica pekiensis*) 购自辽宁省农业科学院种子站.土壤理化性质见表 1.

1.2 方法与试验

(3:1) 常温常压提取-ICP 光谱分析法^[2],可溶性重金属采用 0.1 mol/L HCl 提取-AAS 法^[1].

2 结果与讨论

2.1 铜、锌、铅和镉单一污染对白菜种子发芽与根伸长抑制率影响比较

实验选择草甸棕壤比较铜、锌、铅、镉单一污染对白菜种子发芽与根伸长的抑制效应.以剂量-效应关系作图将所得结果进行回归分析.由图 1 可见,铜、锌、铅、镉对白菜种子发芽的抑制效应远小于对根伸长的抑制效应.这一结果与重金属对草甸棕壤中小麦种子发芽与根伸长抑制效应相同(数据略).例如,当土壤铜总量为 350 mg·kg⁻¹时,根伸长抑制率达 20%以上,而出芽抑制率仅为 10%;锌浓度 400 mg·kg⁻¹,铅浓度 600 mg·kg⁻¹时,根伸长抑制率分别为 10%和 20%,而对种子出芽均无抑制效应;同样,当镉对根伸长抑制率达 20%的浓度(100 mg·kg⁻¹)时,对种子发芽无抑制效应.此外,由对图 1 的相关性分析可见,白菜根伸长抑制率与铜、锌、铅、镉的浓度有极好的相关性($R^2 = 0.86, 0.91, 0.96, 0.94$),而出芽抑制率与重金属浓度之间相关性较差($R^2 = 0.59, 0.69, 0.85, 0.84$).这一结果很可能与种子发芽和根伸长的生长过程有关.正如所知,种子发芽过程除了受外界环境影响外,还可从胚内得到养分供应.因此,土壤污染对种子发芽的毒害作用

在一定浓度范围内仅表现为部分抑制,只有土壤严重污染,种子发芽才能完全被抑制.而根从一开始就完全暴露于土壤中,其生长和发育全过程受土壤条件的影响较大,因此,根对土壤污染的反应更敏感.这一结果与 Kjaer 的研究结果相似^[7].

2.2 土壤与水溶液中 Cu、Pb、Zn 和 Cd 单一污染对白菜根伸长抑制率的影响

以根伸长抑制率对重金属浓度作回归分析.由图 2 可见,白菜根伸长抑制率与土壤及水溶液中重金属浓度均呈明显线性关系.重金属在土壤中的生态毒性效应明显低于水体.以石英砂进行白菜根伸长抑制率与各重金属浓度相关分析,其结果与水培的情况相同(图略).这表明,土壤对重金属污染有很强的缓冲作

用.在试验浓度范围内,土壤与水培条件下重金属对白菜根伸长的抑制作用浓度阈值相差显著.水培条件下,锌、铅、镉对白菜根伸长表现为抑制作用的浓度,土壤条件下则表现为明显的刺激作用.此外,由图 2 可见,重金属对白菜根伸长的抑制效应也明显受土壤类型影响.这使得 Cu、Zn、Pb、Cd 在 4 种土壤中的抑制效应显著不同.按土壤类型与抑制率的直线斜率大小排序有如下基本规律,即:红壤>草甸棕壤>栗钙土>暗棕壤.但若以产生抑制效应的阈值浓度大小排序,由图 2a 可见,铜对白菜根伸长的抑制率与土壤类型之间不完全符合这一排序.铜的生物毒性阈值浓度在暗棕壤中明显小于栗钙土和草甸棕壤.铜>400 mg/kg 时,各土壤铜污染对白菜根伸长抑制率恢复到原来顺序,即:红壤>草甸棕壤>栗钙土>暗棕壤.锌出现了类似情况(图 2b).例如,锌对栗钙土中白菜根伸长抑制的生物毒性阈值浓度小于其在草甸棕壤中的生物毒性阈值浓度,锌浓度提高时,其在各土壤中的抑制率再次恢复为上述排序.有关不同土壤中铜、锌对白菜根伸长抑制阈值排序变化的关系,就现有数据还很难对其原因作客观分析.重金属对植物生长的生态毒性效应除受土壤的某些理化性质影响外,土壤中物质间的相互作用,以及某种复合污染效应对其生态毒性都可产生重要影响.一些研究表明,土壤重金属污染受多种作用影响,如无机物质之间的相互作用,微量元素与重金属之间的相互作用,大量元素与重金属之间的相互作用等^[13].其作用的结果可能对重金属在不同土壤中的生态毒性效应产生变化,进而影响到对植物生长抑制浓度阈值排序的变化.

2.3 土壤理化性质与重金属污染对白菜根伸长抑制率的相关性分析

有关土壤理化性质对污染物的生物可利用浓度的影响已广为所知.为此,OECD 实验指南中特别推荐使用人造土壤进行有关试验.其目的是消除土壤性质对试验结果的影响^[10].但究竟那些土壤性质与重金属的生态毒性相关?其相关性如何?为此,分别以 Cu、Zn、Pb、Cd 4 种重金属对白菜根伸长抑制率 IC₅₀% 与土壤理化性质(有机质、土壤氮、磷、钾含量及土壤 pH)进行相关性分析.结果表明,土壤有机质和土壤氮含量与 4 种重金属对白菜根伸长抑制率呈极好负相关(表 2).土壤磷含量对白菜根伸长抑制率与 4 种重金属的相关性程度各有不同.其中土壤磷含量与 Pb 的 IC₅₀% 相关性最好($R^2 = 0.89$),与 Zn 其次($R^2 = 0.71$),与 Cd 和 Cu 的 IC₅₀% 相关性较差.以上结果与龚平等人的报道相似.他在研究土壤矿物油污染对植物种子发芽的影响

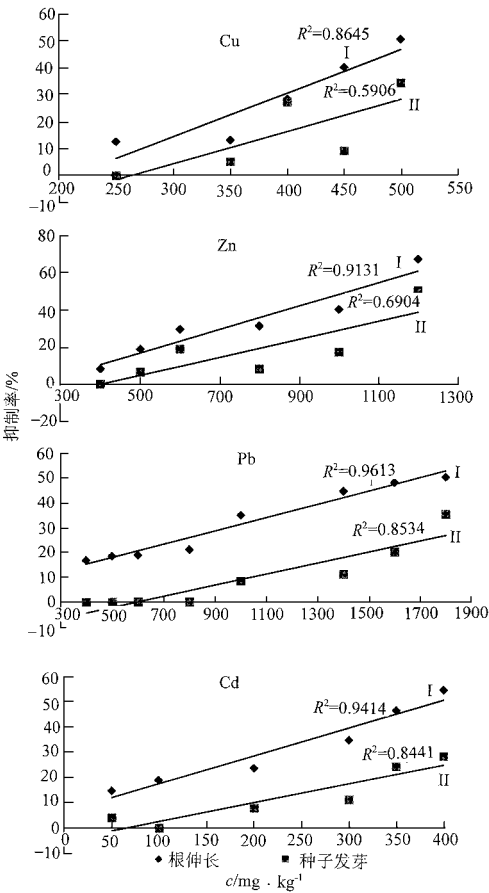


图 1 草甸棕壤中 Cu、Zn、Pb、Cd 污染对白菜种子发芽与根伸长抑制率影响比较

Fig.1 Effect comparisons of Cu, Pb, Zn and Cd pollution on the inhibition rates of seed germination and root elongation of Chinese cabbages in meadow brown soils

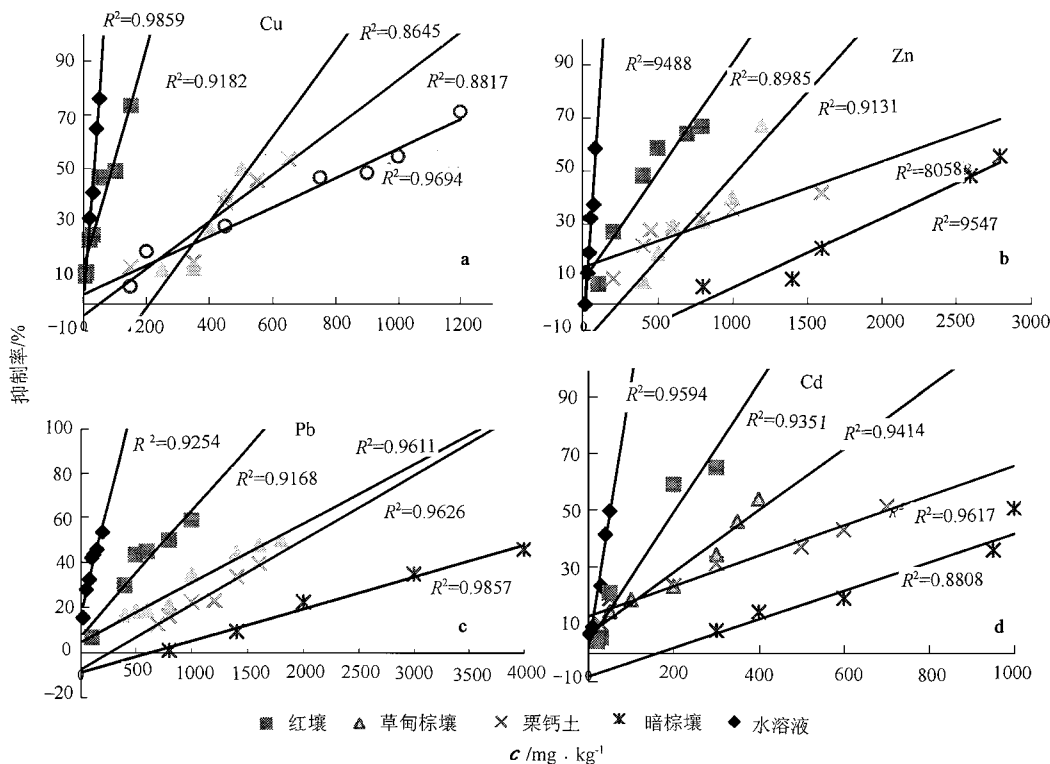


图 2 不同类型土壤中 Cu、Zn、Pb、Cd 污染对白菜根伸长抑制率效应比较

Fig. 2 Comparisons on the effects of Cu, Zn, Pb and Cd pollution on the inhibition rate of root elongation of Chinese cabbages in different types of soils

时发现,土壤性质与种子发芽抑制的相关性各有不同,其中与土壤有机质含量的相关性最显著^[12].将土壤 pH 值与重金属污染对白菜根伸长抑制率结果进行相关分析,所得相关系数表明两者相关性差(表 2).但由图 2

表 2 土壤理化性质与重金属 IC50 % 的相关性

Table 2 Correlations between IC50 % of heavy metals and some physical-chemical properties in soils

IC50 %	R^2_{OM}	R^2_{K-N}	R^2_{T-K}	R^2_{T-P}	R^2_{pH}
Cu	0.81	0.81	0.04	0.57	0.42
Zn	0.97	0.98	0.13	0.71	0.34
Pb	0.93	0.88	0.09	0.89	0.13
Cd	0.95	0.97	0.11	0.66	0.40

可见,酸性红壤条件下,重金属污染对白菜根伸长的抑制率明显高于其它微酸性土壤和中性土壤.2 组结果之间似乎很矛盾,但值得注意的是,土壤重金属的生态毒性效应不仅受土壤 pH 的影响,还受其它土壤性质的影响.红壤 pH 偏低,有机质和氮含量也明显偏低,土壤较为贫瘠.重金属的生态毒性效应显然主要受 pH 的影响.与此相比,尽管其它 3 种土壤呈微酸性或显中性,

但土壤有机质和土壤氮含量明显高于红壤,使得土壤重金属的生态毒性效应明显偏低.这主要是土壤有机质和其它土壤性质起了缓冲作用,从而导致呈微酸性或显中性土壤重金属污染与其生态毒性效应的相关性不显著或不相关.

2.4 Cu、Zn、Pb 和 Cd 单一/复合污染条件下白菜根伸长抑制率

由表 3 可见,重金属单一与复合污染的生态效应不同.在单一污染产生抑制效应的(以 IC10 % 计算)浓度范围内,Cu、Zn、Pb 和 Cd 复合污染产生明显的协同效应.复合污染后的生态毒性由单一污染时的 8.4 % ~ 16.8 % 增加至 48.5 %.降低各重金属浓度,进行复合毒性效应检验的结果表明,单一污染产生刺激作用浓度下,复合污染产生明显的协同效应,其结果使重金属复合污染的生态毒性阈值浓度大大降低,毒性明显增强.以 Cu 为例,单一污染时,Cu 对白菜根伸长抑制 12.7 % 的浓度为 250 mg/kg,而复合污染时,根伸长抑制率 11.6 % 时,Cu 浓度仅为 30 mg/kg. Zn、Pb 和 Cd 的情况与此相同(表 3).有关重金属复合污染的生态毒性

表 3 草甸棕壤中 Cu、Zn、Pb、Cd (mg·kg⁻¹) 单一/ 复合污染条件下对白菜根伸长抑制率¹⁾/ %

Table 3 Inhibition rates of Cu, Zn, Pb and Cd (mg·kg⁻¹) in the single and combined form on root elongation of Chinese cabbages in meadow brown soils

Cu	A	Zn	B	Pb	C	Cd	D	Cu + Zn + Pb + Cd	A + B + C + D	复合效应
30	- 17	50	- 15	50	- 8	5	- 5	30 + 50 + 50 + 5	11 .6	协同
60	- 15	100	- 15	100	- 8	10	- 3	60 + 100 + 100 + 10	21 .3	协同
125	- 10	200	- 12	200	- 5	25	0	125 + 200 + 200 + 25	42 .5	协同
250	12 .7	400	8 .4	400	16 .8	50	14 .6	250 + 400 + 400 + 50	48 .5	协同

1) A、B、C 和 D 为土壤 Cu、Zn、Pb 和 Cd 单一污染对根伸长的抑制率,A + B + C + D 为土壤 Cu、Zn、Pb 和 Cd 复合污染对根伸长抑制率。

效应 ,Ince 在研究 Zn、Cu、Co 和 Cr 两-两元素复合污染的生态毒性效应时发现,复合污染多表现为协同作用,其次是拮抗作用^[4]。这一结果与本研究部分一致。

3 结论

以高等植物根伸长抑制率进行土壤污染生态毒理效应研究,是从生态学角度衡量土壤健康质量的重要方法之一,是对化学法评价土壤质量与土壤污染的重要补充。

本研究选择我国 4 类典型土壤进行重金属 Cu、Zn、Pb、Cd 污染对白菜种子发芽与根伸长抑制率研究,并与水培条件为参照,通过根伸长受抑制程度与水土介质的关系,以及土壤性质与重金属污染的剂量-效应关系,确定了土壤对重金属污染的缓冲效应。土壤有机质和土壤氮含量与重金属污染对白菜根伸长抑制率呈显著负相关关系,pH 对重金属污染的生物毒性的影响因土壤有机质和氮含量的影响,与其在水体条件下的作用相比明显减弱。

重金属复合污染对植物根伸长抑制的毒性阈值降低,生态毒性效应明显增强。重金属复合污染对白菜根伸长的抑制效应主要表现为协同作用。

参考文献:

1 中国土壤学会农业化学专业委员会. 农业土壤化学常规分析方法. 北京:北京科学出版社,1983. 72 ~ 74 .
2 高拯民. 土壤植物系统污染生态学. 北京:中国科学技术科学出版社,1986. 442 ~ 454 .
3 Greene JC, Bartels GL, Warren Hicks WJ. Protocols for short-term toxicity screening of hazardous waste sites. US Environmental Protection Agency. 1998, EPA/600/3 ~ 88/029 .
4 Ince NH, Dirilgen IG, Tezcanli AG, Ustun B. Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: A statistical approach. Arch. Environ. Contamn. Toxicol.,

1999, **36**: 365 ~ 372 .
5 International Organization for Standardization (ISO) . Soil quality- Determination of the effects of pollutants on soil flora . Part 1 : method for the measurement of inhibition of root growth. 1993 . ISO 11269 ~ 1 .
6 International Organization for Standardization (ISO) . Soil quality- Determination of the effects of pollutants on soil flora . Part 2 : Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants . 1993 . ISO 11269-2 .
7 Kjaer C, Pedersen N, Elmegaard N. Effects of soil copper on black bindweed (*Fallopia convovulus*) in the laboratory and in the field. Arch. Environ. Contamn. Toxicol. , 1998 , **35** : 14 ~ 19 .
8 Knoke K, Marwood T M, Cassidy MB et al. A comparison of five bioassays to monitor toxicity during bioremediation of pentachlorophenol-contaminated soil. Water, Air and Soil Pollution, 1999 , **110** : 157 ~ 169 .
9 Mishra A, Choudhurt M A. Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth indices in two rice cultivators . Water Air and Soil Pollution, 1999 , **110** : 340 ~ 345 .
10 OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) . OECD guidelines for testing of chemicals . Paris , France : European Committee , 1984 . 208 ~ 209 .
11 Gong P, Wilke B M, Fleischmann S. Soil based phytotoxicity of 2, 4, 6 , -trinitrotoluenec (TNT) to terrestrial higher plants. Arch. Environ. Contamn. Toxicol. , 1999 , **36** : 152 ~ 157 .
12 Gong P, Wilke BM, Strozzi E et al. Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use in the Eco-toxicological assessment of soils . Chemosphre , 2001 , **44** : 491 ~ 500 .
13 周启星. 复合污染生态学. 北京:中国环境科学出版社, 1995 . 47 ~ 76 .