

基于根微形态测定土壤 Zn 对大麦的毒性阈值及其预测模型

何俊¹, 田昕竹^{1,3}, 王学东¹, 刘彬², 李宁², 郑涵², 孟楠², 陈世宝²

(¹首都师范大学资源环境与旅游学院,北京 100048; ²中国农业科学院农业资源与农业区划研究所/农业部植物营养与肥料重点实验室,北京 100081;

³北京市环境影响评价评估中心,北京 100161)

摘要:【目的】随着对污染土壤管理要求的不断提高,受污染土壤生态风险评价的内容也在不断深入。目前,污染土壤风险评价毒性测试逐渐由单物种测试为基础的生态风险评价发展为基于物种敏感性分布的区域种群毒性测试;毒性中除了要包含测试物种的整个生命周期,还需要增加不同敏感的测试终点。基于不同测试终点的毒理学数据对于评价污染土壤中 Zn 的环境风险具有重要意义。根系生态是基于生态效应法推导土壤中重金属生态风险阈值的重要组成部分,论文中以大麦根尖数、总根长、根表面积和根平均直径为评价终点,研究污染土壤中 Zn 对大麦根微形态的毒性阈值及其与土壤性质间的量化关系,以期为中国 Zn 污染土壤的环境风险评价提供科学依据。

【方法】采集了 8 种不同性质的农田土壤,外源添加不同浓度 Zn 后进行盆栽试验,利用 STD1600 Epson 根系扫描仪测定不同根微形态指标,结合 Log-logistic 剂量-效应曲线测定基于不同根微形态为终点的毒性阈值 (EC_{10} , EC_{50}),建立基于土壤性质的 Zn 毒性预测模型。**【结果】**土壤 Zn 污染对不同根微形态指标的毒性阈值存在较大差异,基于大麦根尖数、总根长、根表面积和根平均直径的有机碳 (EC_{10}) 和阳离子交换量 EC_{50} 均值分别为 228、295、335、261 mg·kg⁻¹ 及 702、779、837、739 mg·kg⁻¹,以根尖数测定的 EC 值最低,根表面积的 EC 值最高,即根尖数指标对土壤 Zn 毒性最敏感。不同土壤中, EC_{10} 值的变异系数 (34.1%) 大于 EC_{50} (21.6%),而 4 种不同测试指标中,基于大麦根表面积测定的变异系数最大, EC_{10} 和 EC_{50} 的变异系数分别达到 43.4% 和 23.2%。土壤 pH、有机碳 (OC)、阳离子交换量 (CEC) 与 Zn 的毒性阈值 EC_x ($x=10, 50$) 呈正相关关系,其中 pH 的相关系数达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

【结论】不同的根微形态指标中,土壤 Zn 污染对大麦根尖的毒性最敏感;基于 pH、CEC、OC 的预测模型可以很好地预测土壤中 Zn 的大麦毒性阈值。

关键词: Zn; 毒性阈值; 大麦; 根微形态; 预测模型

Zn-Toxicity Thresholds as Determined by Micro Morphological Endpoints of Barley Roots in Polluted Soils and Its Prediction Models

HE Jun¹, TIAN XinZhu^{1,3}, WANG XueDong¹, LIU Bin², LI Ning², ZHENG Han², MENG Nan², CHEN ShiBao²

(¹College of Resource Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048; ²Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Ministry of Agriculture, Beijing 100081; ³Beijing Environmental Impact Assessment Center, Beijing 100161)

Abstract:【Objective】With the continuous requirements for the management of contaminated soil, intensive studies on the ecological risk assessment of contaminated soil are increasingly important. At present, the toxicity test based on species sensitivity distribution for ecological risk assessment of regional contaminated soil has been becoming more and more important compared with the toxicity test based on single species. The toxicity assay should include not only the test for throughout the life cycle, but also the

收稿日期: 2016-09-02; 接受日期: 2016-12-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41271490, 21077131)、国家科技支撑计划课题 (2015BAD05B03)、国家重点研发计划课题 (2016YFD0800707)
联系方式: 何俊, E-mail: 1402165618@qq.com。通信作者陈世宝, E-mail: chenshibao@caas.cn

sensitivity of different test endpoints. Toxicity thresholds of Zn determined with different test endpoints are important for evaluation of the environmental risk of Zn in polluted soils. Root ecology plays an important role in the ecological risk assessments and the derivation of toxicity thresholds of heavy metals in polluted soils. The Zn toxicity thresholds ($EC_x, x=10, 50$) of barley as determined by total root length, number of root tips, root surface area and the average diameter of barley root and the quantitative relationships between the EC_x and soil properties were studied with the aim to provide basic data for environmental risk evaluation of Zn polluted soils. 【Method】 Eight kinds of field soils with various properties were collected around China, Zn ($ZnCl_2$) was applied and the treated soils were used in a pot experiment after 4 weeks of incubation. Different micro morphological endpoints of barley roots were measured with root scanner (STD1600 Epson), the Zn toxicity thresholds ($EC_x, x=10, 50$) of barley were determined based on the dose-responsive curve with Log-logistic model, the prediction models of Zn toxicity thresholds were developed based on the total Zn concentrations and soil properties (e.g. pH, CEC and org-C etc). 【Result】 The results indicated that toxicity thresholds of Zn varied significantly among the different micro morphological endpoints of barley roots. The average EC_{10} and EC_{50} determined with total root length, number of root tips, root surface area and the average diameter of the root were $228, 295, 335, 261 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $702, 779, 837, 739 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. The smallest EC_x were observed with the test of number of root tips while the maximum EC_x were observed with endpoint of root surface area, which indicated that the growth of root tips is the most sensitive endpoint among the root micro morphological endpoints of barley when it is stressed by Zn pollution in soil. Meanwhile, the variation coefficient of EC_{10} (43.4%) was generally higher than that of EC_{50} (21.6%). A positive correlation was found between EC_x ($x=10, 50$) and the background Zn contents, soil properties (pH, OC contents), and correlation coefficient of pH between EC_x reached was very significant ($P<0.01$). 【Conclusion】 It was found that the growth of root tips is more sensitive than other root micro morphological endpoints when stressed by Zn pollution in soil. The toxicity thresholds of Zn to plant can be predicted very well based on soil pH, OC, and soil Zn background concentration.

Key words: Zn; toxicity threshold; barley; root micro morphology; predict models

0 引言

【研究意义】Zn 作为一种微量元素在动植物的生长过程中至关重要，而过量的 Zn 又会对动植物和人体健康造成一定的威胁与损害^[1]。近年来中国农田土壤锌（Zn）污染正以不同尺度的趋势快速蔓延^[2-3]，资料显示，中国 Zn 污染土壤超标率达 0.9%。虽然中国最新颁布的食品安全标准中删除了 Zn 的限量标准值^[4]，但由 Zn 污染产生的生态环境风险已引起广泛关注。目前，在环境风险评价中，对污染物评价终点的选取具有较大的偶然性，从而增加了污染物风险评价结果的不确定性^[5]，因此，不同测试终点的毒理学评价对于 Zn 污染土壤的环境风险评价具有重要意义。

【前人研究进展】近年来，随着中国土壤重金属污染形势的发展，针对重金属污染土壤的生态风险评价成为新的研究热点。相比而言，国外重金属污染土壤的风险评价研究较早。20世纪 90 年代开始，美国、英国、加拿大、澳大利亚等欧美发达国家在土壤生态风险评价领域开展了系列的研究，制定和颁布了许多行业标准、规范和技术框架^[6-7]，而国内的研究起步相对较晚，在土壤重金属污染的生态风险评价理论和方法方面总体比较薄弱^[8-10]。目前，国内有部分学者针对土壤重金属的风险评价进行了研究，并取得一些

进展^[9, 11-13]。总体而言，目前国内针对重金属污染土壤的生态风险评价主要集中在利用不同指数法对污染土壤进行的污染等级划分、污染来源调查等^[14-15]，大部分情况下没有能够与土壤利用相结合，特别是在农田土壤的评价中，忽略了土壤和农产品质量之间的联系；而基于不同抑制率的毒理学阈值研究，凸显了土壤-作物系统根际环境的重要性。本文采用的不同类型土壤-大麦系统方法较常用的溶液培养法，其与作物实际生长条件更为接近，对重金属污染土壤进行有效评价和土壤环境质量标准修订更具参考价值。根细胞是重金属进入植物体进行吸收、转运的第一道屏障^[16]，从植物地上部生物量及植物体重金属吸收测定评价而言，重金属胁迫对植物根系发育的毒性研究对于探明重金属污染土壤的生态系统退化作用、机理和过程及地下生态风险有重要意义^[17]。【本研究切入点】本文从污染土壤中 Zn 对植物根系发育的不同微形态指标出发，利用最新的环境风险评价方法，测定 Zn 污染胁迫对植物根系发育的不同毒性阈值，量化 Zn 毒性阈值与土壤性质间的关系，以期为 Zn 污染土壤的风险评价提供依据。【拟解决的关键问题】通过对不同植物根系发育的微形态指标测试，获得 Zn 污染对植物根系发育的敏感性测定指标，基于不同性质土壤中大麦 Zn 毒性的阈值，建立基于 Zn 对大麦根系毒性阈

值的预测模型, 为中国 Zn 污染土壤的风险评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤和大麦

根据土壤地带性分布特征, 采集了 8 个不同地区的典型农田表层 (0—20 cm) 土壤。土壤性质测试^[18]结果见表 1, 土壤样品在室内风干后去除杂质, 并过 2 mm 的尼龙筛备用。供试大麦 (*Hordeum vulgare L.*) 购自中国农业科学院, 品种为 HS41-1。

1.2 试验方法

1.2.1 不同浓度外源 Zn 污染土壤制备 根据剂量-效应预试验结果, 以土壤中 Zn 对植物毒性抑制率达到 90% 为依据, 不同土壤添加不同的 Zn 浓度。不同 pH 土壤添加方法如下: Zn 以 ZnCl₂ 溶液的形式添加, pH<5.0 时, 添加剂量为 0、50、100、200、400、600、800、1 000 mg·kg⁻¹; pH 为 5.0—7.0 时为 0、100、200、400、600、800、1 200、1 600 mg·kg⁻¹; pH>7.0 时, 添加剂量为 0、200、400、600、800、200、1 600、2 400 mg·kg⁻¹。根据重金属在不同性质土壤中平衡反应的时间^[19], 本试验中外源 Zn 平衡 28 d 后进行盆栽试验; 试验在人工气候箱中进行培养, 控制光照条件

为 12 000 lx, 温度为 (25±2) °C。试验设置 3 组重复, 每盆装土 300 g, 栽培时间为 21 d。

1.2.2 大麦根系指标测定方法 将大麦根部清洗干净并保持其完整性, 然后利用 STD1600 Epson 数字化扫描仪进行图像扫描, 利用 WinRHIZO 软件对扫描图像进行分析, 获得大麦根的总表面积、平均直径、根尖数及总根长等数据。

1.3 数据处理

常用的剂量-效应曲线有 Log-normal、Weibull、Gamma 等, 其中 Log-logistic 函数因其拟合参数均与实际生物效应有关而被广泛采用^[20-21], 本研究采用 Log-logistic 剂量-效应函数模型进行阈值的计算:

$$y = \frac{y_0}{1 + e^{(b(x-M))}} \quad (1)$$

式中, y 代表评价终点 (如根面积、根总长等) 相对于对照的百分比 (%); x 为 log₁₀ (Zn 的添加浓度); y_0 为对照的反应率 (%); M 为 log₁₀ (EC₅₀/EC₁₀), 其中, EC₅₀/EC₁₀ 为与对照相比各评价终点受到 50% 与 10% 抑制时土壤中 Zn 的含量。

1.4 统计分析

数据采用 Excel 2010、SPSS 19.0、Origin 9.0 等软件进行分析。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Basic physic-chemical properties of the tested soils

采集地点 Soil site		经纬度 Longitude, Latitude	pH (H ₂ O 1:2.5)	阳离子交换量 capacity (cmol·kg ⁻¹)	有机碳 (OC) (%)	黏粒含量 (<2 μm) (%)	Zn 背景含量 (mg·kg ⁻¹)
海口 (砖红壤) Haikou (Latosol)		19°55'N, 110°29'E	4.93	8.75	1.51	66.1	57.4
祁阳 (红壤) Qiyang (Red Soil)		26°45'N, 111°52'E	5.31	7.47	0.87	46.1	75.6
嘉兴 (水稻土) Jiaxing (Paddy soil)		30°77'N, 120°76'E	6.72	19.33	1.42	41.2	90.6
杭州 (水稻土) Hangzhou (Paddy soil)		30°26'N, 120°25'E	6.80	12.82	2.46	38.9	119.3
广州 (红壤) Guangzhou (Red soil)		23°10'N, 113°18'E	7.27	8.30	1.47	25.3	33.6
公主岭 (黑土) Gongzhuling (Black soil)		42°40'N, 124°88'E	7.82	28.80	2.17	44.6	62.8
石家庄 (潮土) Shijiazhuang (Fluovo-aquic soil)		38°03'N, 114°26'E	8.19	11.71	1.01	21.4	53.8
廊坊 (潮土) Langfang (Fluovo-aquic soil)		39°31'N, 116°44'E	8.84	6.36	0.60	10.1	33.8

2 结果

2.1 基于大麦总根长测试终点的 Zn 毒性剂量效应曲线

不同污染土壤中, 基于 Zn 污染对大麦根尖数、总根长、根表面积和根平均直径的测定值, 利用 Log-logistic 函数拟合出 Zn 对不同大麦根微形态的剂

量-效应曲线, 并在此基础上经过计算获得基于不同测试终点的 EC_x ($x=10, 50$) 值。从测定数据结果看出, 不同根微形态测试指标中, 根尖数指标最为敏感。在植物根系发育中, 相对于总根长、根表面积和根平均直径指标而言, 根尖生长时对外部环境的胁迫更为敏感^[22]。图 1 为基于大麦根根尖数的 Zn 对大麦毒性的

剂量-效应关系曲线, 大麦根总长、根表面积和根平均直径的剂量-效应曲线没有列出。由图 1 可看出, Zn 对大麦根尖发育的毒性随着土壤中 Zn 浓度的升高而增加, 表现为相对根尖数的降低, 而不同性质土壤中, 相同浓度 Zn 对大麦根尖发育产生的毒性效应有显著差异。总体而言, 在产生相同毒性的条件下, 土壤 pH

及有机碳含量较低的土壤的剂量-效应拟合曲线越靠左, 也即土壤中 Zn 的阈值越小, 这说明土壤中 Zn 的毒性越高。在有机质含量较高的 2 种土壤 (公主岭黑土与杭州水稻土) 中, 在 Zn 低浓度 ($<200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 条件下, 产生了低剂量刺激效应, 最大刺激效应 (相对根尖数%) 达到 112%。

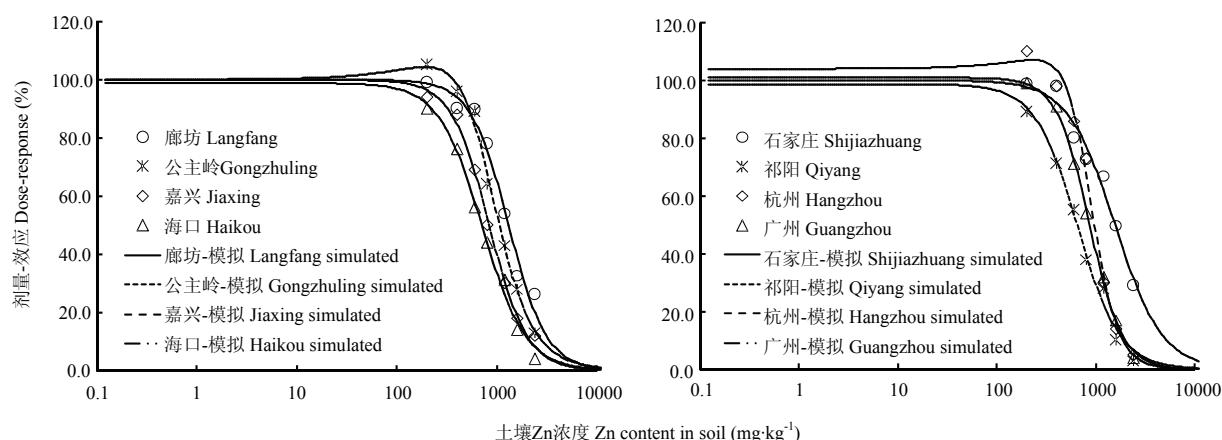


图 1 土壤中 Zn 对大麦根尖毒性的剂量-效应关系曲线

Fig.1 Dose-responsive curve of Zn to barley total root tips in different soils

2.2 基于不同测试指标的 EC_x 值及其比较

表 2 为不同性质土壤中 Zn 对大麦根尖数毒性的阈值及其 95% 置信区间。由表 2 可知, 不同性质土壤测定的 Zn 对大麦根尖数的毒性阈值差异较大。不同性质土壤中, EC_{10} 与 EC_{50} 范围分别为 $106\text{--}386 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $469\text{--}953 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最大和最小分别相差 2.64 倍和 1.03 倍, 最小 EC_{10} 的土壤为祁阳的红壤, 而最大值为碱性

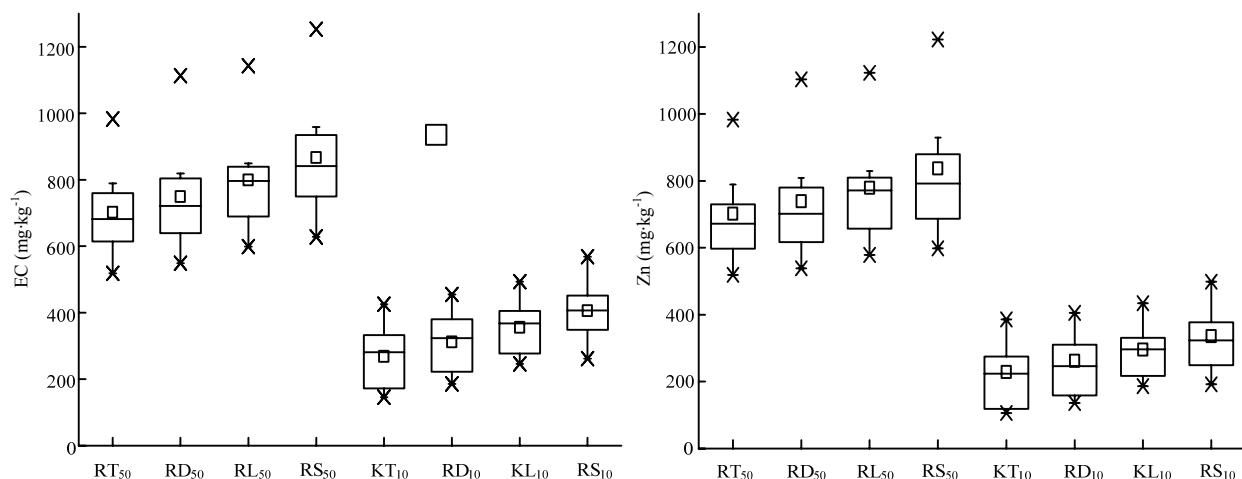
的潮土 (河北廊坊); EC_{50} 的情况与 EC_{10} 的类似。基于大麦根系的根总长、根表面积及平均直径的测定结果没有单独列出, 只在图 2 中列出不同测试终点的结果比较。

根据上述 8 种土壤中 Zn 的生物毒性剂量-效应曲线拟合结果, 得到基于 4 种不同根微形态指标的毒性阈值 EC_{10} 和 EC_{50} (图 2)。图 2 表明, 8 种不同土壤

表 2 不同土壤中 Zn 对大麦根尖数的毒性阈值及其 95% 置信区间

Table 2 Toxicity threshold (EC_{10} and EC_{50}) of Zn in soils derived from the number of barley root tips and its 95% confidence intervals ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

土壤地点 Soil site	土壤类型 Soil type	EC_{10}	95%置信区间 95% confidence interval	EC_{50}	95%置信区间 95% confidence interval
廊坊 Langfang	潮土 Fluvo-aquic soil	386	200-627	953	817-1102
石家庄 Shijiazhuang	潮土 Fluvo-aquic soil	311	198-453	789	711-1016
公主岭 Gongzhuling	黑土 Black soil	275	177-401	730	649-941
广州 Guangzhou	红壤 Red soil	258	159-386	691	598-864
杭州 Hangzhou	水稻土 Paddy soil	224	131-331	672	583-811
嘉兴 Jiaxing	水稻土 Paddy soil	147	124-302	582	506-785
祁阳 Qiyang	红壤 Red soil	118	101-236	557	471-646
海口 Haikou	砖红壤 Latosol	106	65-201	469	351-593



RT₅₀: 根尖数 EC₅₀ EC₅₀ to number of root tips; RD₅₀: 根平均直径 EC₅₀ EC₅₀ to the average diameter of root; RL₅₀: 根总长 EC₅₀ EC₅₀ to total root length; RS₅₀: 根表面积 EC₅₀ EC₅₀ to root surface area; RT₁₀: 根尖数 EC₁₀ EC₁₀ to number of root tips; RD₁₀: 根平均直径 EC₁₀ EC₁₀ to the average diameter of root; RL₁₀: 根总长 EC₁₀ EC₁₀ to total root length; RS₁₀: 根表面积 EC₁₀ C₁₀ to rootsurface area

×: 最大值和最小值; I: 10%-90%置信区间值; □: 25%—75%置信区间值; —: 中值; □: 平均值

×: The maximum and minimum value; I: Values of 10%-90% confidence interval; □: Values of 25%-75% confidence interval; —: Mid-value; □: Mean value

图 2 基于不同测试终点测定的土壤中 Zn 毒性阈值

Fig. 2 Comparison of toxicity thresholds (EC₅₀, EC₁₀) of Zn in soils and its x% (x=10, 90) confidence interval as determined by different test endpoints (mg·kg⁻¹)

中各根微形态指标毒性阈值差异较大, 例如根尖数、根总长、根表面积及根平均直径对应的 EC₁₀ 的范围分别为: 106—386、186—434、192—499 和 136—405 mg·kg⁻¹, 平均值分别为: 228、295、335 和 261 mg·kg⁻¹, 而 EC₅₀ 的范围分别为: 519—983、579—1123、598—1 223 和 540—1 130 mg·kg⁻¹, 平均值分别为: 702、779、837 和 739 mg·kg⁻¹。在 2 种不同抑制率 (EC₁₀、EC₅₀) 测定结果中, 均以根尖数毒性阈值的均值为最小, 而以根表面积测定的阈值最大, 说明在不同的根系微形态测定指标中, 植物根尖发育受污染物胁迫反应最为敏感。

2.3 基于不同根微形态进行 Zn 毒性阈值测定结果的差异性

2.3.1 敏感性差异 不同测定指标对 Zn 毒性的敏感

性差异对于重金属环境风险评价具有重要意义^[21]。本文将不同测定指标对重金属的敏感性定义为: 在同一种土壤中, 不同测定指标对应的毒性阈值 EC_x 的差异, EC_x 越小, 则敏感性越强, 反之, EC_x 越大, 则敏感性就越弱。由图 2 可知, 在 EC₁₀、EC₅₀ 测定的结果中, 4 种根微形态对土壤 Zn 毒性的敏感性从强到弱(毒性阈值 EC_x 由小到大)依次为: 根尖数>根平均直径>根总长>根表面积。

2.3.2 变异性差异 不同测试终点的变异性是污染物环境风险评价的主要影响因子之一。土壤 Zn 对重金属不同根微形态毒性阈值的平均值及对应的变异性系数如表 3 所示。不同微形态对应的 EC₁₀ 均值大小顺序为: 根尖数<根平均直径<根总长<根表面积, 不

表 3 不同根微形态对 Zn 毒性的敏感性及其毒性阈值的变异数

Table 3 Comparison of different mean toxicity thresholds (EC₁₀, EC₅₀) and the variation coefficient

根微形态 Root micromorphology	EC ₅₀ 平均值 Mean value (mg·kg ⁻¹)	EC ₅₀ 变异系数 Coefficient of variation (EC ₅₀)	EC ₁₀ 平均值 Mean value (mg·kg ⁻¹)	EC ₁₀ 变异系数 Coefficient of variation EC ₁₀
根尖数 Number of root tips	702	0.200	228	0.335
根平均直径 Average diameter of root	739	0.232	261	0.367
根总长 Total root length	779	0.209	295	0.285
根表面积 Root surface area	836	0.225	335	0.276

同测试终点的变异性系数中, EC₁₀的根平均直径测定变异系数最大; EC₅₀ 测定平均值的顺序与 EC₁₀ 的相同, 但变异性系数并没有明显规律, 表现为根平均直径的最大, 根尖数的最小。通过比较还发现, EC₁₀的变异系数要普遍大于 EC₅₀ 的测定结果。在利用 Log-logistic 函数拟合出的“S”型剂量-效应曲线获得毒性阈值 EC₁₀、EC₅₀过程中, EC₁₀位于较为平缓的曲线上段即斜率较小, 生态反应率随物质浓度的增大缓慢降低, 而 EC₅₀位于陡直的曲线中段, 物质浓度稍有增减即可引起生态反应率剧烈的变化, 故 EC₁₀较 EC₅₀通常具有更大的变异性^[23]。

2.4 基于根尖毒性的土壤中 Zn 毒性预测模型

污染土壤中重金属毒性阈值与土壤主要性质间的关系及其预测模型, 是进行重金属污染土壤管理和风险评价的基础。表 4 为基于大麦根尖毒性测试终点的 EC₅₀ 值与土壤性质间相关性分析结果, 土壤 pH、阳离子交换量 (CEC) 及有机碳 (OC) 含量与土壤中 Zn 的毒性阈值 EC_x 呈现出正相关关系。影响土壤中 Zn 的毒性阈值 EC_x 最重要的因子为土壤 pH, 其他依次 OC、CEC。由表 4 知, pH 与大麦根尖数毒性阈值 EC₅₀ 的偏相关系数高达 0.879, OC 的相关系数为 0.434, 此研究结果与前人的研究结论相似^[21]。同样的, 大麦的根表面积、平均直径等指标与土壤性质及 Zn 的毒性阈值间也有类似的相关关系。

表 4 基于土壤主控因子与 Zn 毒性阈值的多元回归方程

Table 4 The multiple regression equation of soil properties affecting toxicity thresholds of Zn in soils (partial correlation coefficients and prediction models)

回归方程 Regression equation	决定系数 Correlation coefficient (R^2)
Log(EC ₅₀) = 0.308pH+4.820	0.620
Log(EC ₅₀) = 0.304pH+0.108OC+4.685	0.696
Log(EC ₅₀) = 0.305pH + 0.004CEC +0.114OC+4.683	0.723

pH, CEC 及 OC 分别为土壤 pH、阳离子交换量及有机碳含量
pH, CEC and OC were soil pH value, cation exchange capacity and organic carbon content respectively

3 讨论

随着对污染土壤风险管理要求的不断提高, 针对重金属污染土壤的环境风险评价中, 生态风险评价的内容也在不断的深入。经济合作与发展组织 (OECD) 对污染土壤的风险评价提出了更高层次的风险评价^[24],

要求毒性测试中要包含尽量多的测试物种和测试终点、增加敏感的测试终点, 而且指标的选择也不能是简单的死亡, 因为研究表明, 一个物种的不同组织器官对毒物的敏感性存在着较大的差异^[20]。有研究表明^[20-21], Zn 作为植物生长必须的元素之一, 在较低浓度时能促进生物生长代谢, 而当浓度较高时, 又会对植物产生一定毒害作用, 例如抑制植物根系对土壤营养元素的吸收, 干扰 Fe 元素的代谢进而导致植物缺 Fe 性失绿等。污染土壤中重金属的毒性受多种因子控制, 包括土壤 pH、阳离子交换量 (CEC) 及土壤中胶体的种类和数量等。目前, 针对 Zn 污染土壤的环境风险研究中, Zn 污染带来的生态风险是关注的热点, 而在不同的生态测试终点中, 根系微形态的毒性测试是植物生长毒性测试的主要指标之一。在重金属污染土壤中, 探明植物根系发育的不同测试终点 (如根尖数、根长、根面积与根直径等) 对重金属的毒性胁迫反应间是否存在敏感性差异以及敏感性顺序对重金属污染土壤的生态风险评价具有重要意义。本研究选择大麦作为模式作物, 基于剂量-效应关系模型测定了 Zn 胁迫条件下大麦根尖数、根长、根面积与根直径的毒性反应, 不同测试指标间的敏感性顺序结果表明, 在 4 种不同的根系微形态指标中, 植物根系的根尖对 Zn 毒性最为敏感, 其次为根平均直径、总根长和根表面积, 此结果为 Zn 污染土壤毒性测试增加敏感的测试终点提供了重要的参考依据。

根系是重金属进入植物的首要屏障, 土壤重金属对植物的毒害最先由根部开始。研究发现, 在重金属 Zn 污染土壤中, 植物根尖对 Zn²⁺毒性最为敏感, 受到伤害也最明显, 其次是侧根发育受到抑制^[21-22, 24]。本文对 8 种不同性质土壤中 Zn 胁迫对大麦根系微形态毒性测试结果与上述报道基本一致。有学者通过重金属砷对小麦生长影响的研究发现, 随着砷浓度增加, 小麦出现次生根数减少, 根体积变小, 根干重减轻等症状, 这可能是由于砷影响了小麦根的正常伸长和下扎的缘故^[25]; 在植物根冠中, 根细胞膜对外界环境变化比较敏感, 其稳定性是细胞进行正常新陈代谢的基础。重金属的胁迫可以增加细胞膜的通透性, 使细胞内电解质等外渗, 进而降低细胞的活性甚至导致死亡, 最终影响到植物根系的生长^[26]; 有研究表明, 重金属能够对细胞的超微结构产生一定损伤, 例如有研究者曾用一定浓度重金属离子溶液处理车前草, 发现细胞出现叶绿体类囊体膨胀, 外膜断裂, 核膜破裂等情况^[27]。

污染土壤中, 重金属的植物有效性受多种土壤性质的影响, 其中包括 pH、有机质及阳离子交换量等。本文所选用的 8 种土壤中, 不同土壤性质具有明显差异。其中, 海口、祁阳二个地点土壤为酸性土壤, 嘉兴、杭州为中性土壤, 而广州、公主岭等为碱性土壤。土壤 pH 与有机质含量是影响重金属生物毒性的两个重要因素。土壤中 pH 升高, 土壤溶液中能够与重金属竞争吸附点位的 H^+ 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 等阳离子含量降低, 而土壤中水合氧化物、黏土矿物及有机质等的负电荷含量增加, 土壤吸附与保持重金属离子的能力随之加强, 重金属的生物有效性也就随之下降^[28]; 土壤有机质主要是通过络合作用对重金属的生物有效性产生影响的^[27]。因而通常在有机质含量较高的土壤中, 重金属的生物有效性就相对较低, 即有机质含量与重金属的生物有效性呈负相关关系。所以, 在其他条件一致情况下, 有机质含量越高的土壤, 重金属的毒性阈值也就越高, 这与本实验结果一致。在进行不同性质土壤中重金属风险评价中, 基于不同性质的重金属毒性阈值预测模型对评估污染土壤中重金属生态风险具有重要意义。本文基于根不同微形态毒性测定结果表明, 土壤性质可以影响 Zn 的植物毒性, 其中影响土壤中 Zn 毒性阈值变化的主要理化因子为土壤 pH, 而土壤阳离子交换量 (CEC) 和土壤有机碳含量 (OC) 影响相对较小。因此, 在评价土壤中 Zn 对植物的毒性时, 除 Zn 浓度外, 还需考虑土壤本身性质之间的差异, 应根据土壤性质的不同制定相应的评价指标体系。

4 结论

4.1 外源添加 Zn 进行 Zn 对大麦根生长毒性测试结果表明, 土壤 Zn 对不同根微形态的毒性阈值存在较大差异, 以 EC₁₀ 测定结果为例, 根尖数测定结果均值最低, 其次为根平均直径和总根长, 根表面积的最高, EC₅₀ 测定结果与之类似。

4.2 不同根微形态对 Zn 毒性的敏感性顺序为根尖数 > 根平均直径 > 总根长 > 根表面积, 即根尖数对土壤 Zn 毒性最敏感。此外, EC₁₀ 测定结果的变异系数要普遍大于 EC₅₀ 的测定结果。

4.2 相关关系分析表明, 土壤 pH、有机碳 (OC)、阳离子交换量 (CEC) 与 Zn 的毒性阈值 EC_x ($x=10, 50$) 呈正相关关系, 其中土壤 pH 为最重要的影响因子, 偏相关系数均达到极显著水平 ($P<0.01$), 其次为 OC、CEC, 基于土壤 pH、OC、CEC 等主要因子可以较好预测土壤中 Zn 的毒性阈值。

References

- [1] SANUDERS A V, CRAIG W J, BAINES S K. Zinc and vegetarian diets. *The Medical Journal of Australia*, 2012, 1(2): 17-21.
- [2] 李荣华, 沈锋, 李晓龙, 张增强. 陕西某铅锌冶炼厂区及周边农田重金属污染土壤的稳定化修复理论与实践. *农业环境科学学报*, 2015, 34(7): 1269-1276.
- [3] LI R H, SHEN F, LI X L, ZHANG Z Q. The theory and practice of the stabilization of heavy metal contaminated soil in a lead zinc smelting plant and its surrounding field soil in Shaanxi. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(7): 1269-1276. (in Chinese)
- [4] 宋伟, 陈百明, 刘琳. 中国耕地土壤重金属污染概况. *水土保持研究*, 2013, 4(15): 922-930.
- [5] SONG W, CHEN B M, LIU L. Soil heavy metal pollution of cultivated land in China. *Research of Soil and Water Conservation*, 2013, 4(15): 922-930. (in Chinese)
- [6] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准: 食品中污染物限量. GB 2762-2012.
- [7] Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standards. GB 2762-2012.
- [8] 宋宁宁, 黄锦孙, 郭雪雁, 程旺大, 张红梅, 王伯仁, 韦东普, 马义兵. 土壤铜植物毒害的不同评价终点和室内外测定差别研究. *生态毒理学报*, 2014, 9(4): 689-698.
- [9] SONG N N, HAUNG J S, GUO X Y, CHENG W D, ZHANG H M, WANG B R, WEI D P, MA Y B. Differences between laboratory and field tests for phytotoxicity of copper in soils using different assessment endpoints. *Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(4): 689-698. (in Chinese)
- [10] US EPA. Framework for application of the toxicity equivalence methodology for polychlorinated dioxins, furans and biphenyls in ecological risk assessment. EPA/630/P203/002A (External Review Draft), 2003.
- [11] LANDIS W G, DURDA J L, BROOKS M L, JAMES W. Ecological risk assessment in the context of global climate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2013, 32(1): 79-92.
- [12] 王小庆, 韦东普, 黄占斌, 马义兵. 物种敏感性分布在土壤中镍生态阈值建立中的应用研究. *农业环境科学学报*, 2012, 31(1): 92-98.
- [13] WANG X Q, WEI D P, HUANG Z B, MA Y B. Application of species sensitivity distribution in deriving of ecological threshold for nickel in soils. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(1): 92-98. (in Chinese)
- [14] 宋文恩, 陈世宝. 基于水稻根伸长的不同土壤中镉(Cd)毒性阈值 (EC_x) 及预测模型. *中国农业科学*, 2014, 47(17): 3434-3443.
- [15] SONG W E, CHEN S B. The toxicity thresholds (EC_x) of cadmium (Cd) to rice cultivars as determined by root-elongation tests in soils

- and its predicted models. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(17): 3434-3443. (in Chinese)
- [10] DING C, ZHANG T, WANG X, ZHOU F, YANG Y, HUANG G. Prediction model for cadmium transfer from soil to carrot (*Daucus carota L.*) and its application to derive soil thresholds for food safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(43): 10273-10282.
- [11] 陈波宇, 郑斯瑞, 牛希成, 赵劲松. 物种敏感度分布及其在生态毒理学中的应用. 生态毒理学报, 2010, 5(4): 491-497.
- CHEN B Y, ZHENG S R, NIU X C, ZHAO J S. Species sensitivity distribution and its application in ecotoxicology. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(4): 491-497. (in Chinese)
- [12] YUAN G L, SUN T H, HAN P, LANG X X. Source identification and ecology risk assessment of heavy metals in topsoil using environmental geochemical mapping: Typical urban renewal area in Beijing, China. *Journal of Geochemical Exploration*, 2014, 136(1): 40-47.
- [13] 陈世宝, 林蕾, 魏威, 刘继芳, 马义兵. 基于不同测试终点的土壤锌毒性阈值及预测模型. 中国环境科学, 2013, 33(5): 922-930.
- CHEN S B, LIN L, WEI W, LIU J F, MA Y B. Comparative study of Zn-toxicity thresholds in 16 Chinese soils as determined by different bioassay endpoints and its predicted models. *China Environmental Science*, 2013, 33(5): 922-930. (in Chinese)
- [14] 张小敏, 张秀英, 钟太洋, 江洪. 中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究. 环境科学, 2014, 35(2): 692-703.
- ZHANG X M, ZHANG X Y, ZHONG T Y, JIANG H. Spatial distribution and accumulation of heavy metal in arable land soil of China. *Environmental Science*, 2014, 35(2): 692-703. (in Chinese)
- [15] 郝汉舟, 靳孟贵, 李瑞敏, 王支农, 韩斌华. 耕地土壤铜、镉、锌形态及生物有效性研究. 生态环境学报, 2010, 19(1): 92-96.
- HAO H Z, JIN M G, LI R M, WANG Z N, HAN B H. Fractionations and bioavailability of Cu, Cd and Zn in cultivated land. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(1): 92-96. (in Chinese)
- [16] 陈世宝, 孙聪, 魏威, 林蕾, 王萌. 根细胞壁及其组分差异对植物吸附、转运 Zn 的影响. 中国环境科学, 2012, 32(9): 1670-1676.
- CHEN S B, SUN C, WEI W, LIN L, WANG M. Difference in cell wall components of roots and its effect on the transfer factor of Zn by plant species. *China Environmental Science*, 2012, 32(9): 1670-1676. (in Chinese)
- [17] 周庆, 欧晓昆, 张志明. 地下生态系统对生态恢复的影响. 生态学杂志, 2007, 26(9): 1445-1453.
- ZHOU Q, OU X K, ZHANG Z M. Effects of belowground ecosystem on ecological restoration: A review. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(9): 1445-1453. (in Chinese)
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- LU R K. *Agricultural Chemical Analysis of Soil*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999. (in Chinese)
- [19] 林蕾, 陈世宝, 刘继芳, 马义兵. 不同老化时间对土壤中外源 Zn 的形态转化及生态毒性阈值(EC_x) 的影响. 应用生态学报, 2013, 24(7): 2025-2032.
- LIN L, CHEN S B, LIU J F, MA Y B. Effects of aging time on the form transformation and ecotoxicity threshold (EC_x) of added Zn in typical China soils. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(7): 2025-2032. (in Chinese)
- [20] 雷炳莉, 黄圣彪, 王子健. 生态风险评价理论与方法. 化学进展, 2009, 21(2/3): 350-358.
- LEI B L, HUANG S B, WANG Z J. Theories and methods of ecological risk assessment. *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2/3): 350-358. (in Chinese)
- [21] DE LANGE H J, SALA S, VIGHI M, FABER J H. Ecological vulnerability in risk assessment-a review and perspectives. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(18): 3871-3879.
- [22] HAWES M C, GUNAWARDENA U, MIYASAKA S, ZHAO X W. The role of root border cells in plant defense. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(3): 128-133.
- [23] 王晓庆, 李菊梅, 韦东普. 土壤中铜和镍的不同毒性阈值间量化关系. 生态毒理学报, 2013, 8(6): 890-896.
- WANG X Q, LI J M, WEI D P. The quantitative relationship of different ecotoxicity thresholds for copper and nickel in soils. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(6): 890-896. (in Chinese)
- [24] OECD. OECD Environment, Monographs 92, Guidance Document for Aquatic Effects Assessment. OECD Publication Service, Paris, France.
- [25] SMOLDERS E, OORTS K, VAN SPRANG P, SCHOEETERS I, JANSEN C R, MCGRATH S P, MCLAUGHLIN M J. Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: Using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, 28(8): 1633-1642.
- [26] COPPOLECCCHIA D, PUGLISI E, VASILEIADIS S, TREVISAN M. Relative sensitivity of different soil biological properties to Zn. *Soil Biology Biochemistry*, 2011, 43(9): 1798-1807.
- [27] SHAHID M, DIMAT C, KHALID S, SCHRECK E. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 325:36-58.
- [28] NAIDU R, BOLAN N S. Contaminant chemistry in soils: Key concepts and bioavailability. *Developments in Soil Science*, 2008, 32(7): 9-37.

(责任编辑 杨鑫浩)