

# 基于不同测试终点的土壤锌毒性阈值及预测模型

陈世宝\*, 林 蕾, 魏 威, 刘继芳, 马义兵 (中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 国家土壤肥力与肥料效益监测站网, 北京 100081)

**摘要:** 采用基质诱导硝化(PNR)、大麦根伸长、西红柿及小白菜生长毒性测试方法, 结合 Log-logistic 模型, 对我国 16 种典型土壤中锌(Zn)的毒性阈值( $EC_x$ )进行了测定, 同时对 Zn 毒性与土壤主要影响因子间的量化关系及其预测模型进行了研究。结果表明: 我国土壤中 Zn 的毒性阈值在不同测试物种间存在较大差异, 以小白菜、大麦、西红柿及土壤微生物(PNR)测试的  $EC_{10}$  均值分别为 322, 356, 336, 297 mg/kg, 以土壤微生物测试最低, 以大麦根伸长测定结果最高;  $EC_{50}$  均值则分别为: 846, 1471, 1160, 768 mg/kg。不同测试方法对土壤中 Zn 毒性的敏感性顺序为: 土壤微生物(PNR) > 西红柿 > 小白菜 > 大麦, 而不同测试方法的稳健性顺序则相反, 表明 PNR 法是土壤 Zn 毒害最敏感的测试方法, 而西红柿则是对土壤 Zn 污染胁迫最敏感的植物品种; 不同毒性测试结果显示,  $EC_{50}$  阈值的测定结果要敏感于  $EC_{10}$ , 而  $EC_{10}$  测定结果的变异系数普遍大于  $EC_{50}$  的测定结果。pH 值是影响土壤 Zn 毒性阈值最为重要的因子, 而基于土壤 pH 值、CEC、有机碳含量的归趋化预测模型可以很好地预测土壤中 Zn 的生态风险阈值。

**关键词:** 锌; 生物测试; 基质诱导硝化; 毒性阈值; 预测模型

**中图分类号:** X53      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-6923(2013)05-0922-09

**Comparative study of Zn-toxicity thresholds in 16 Chinese soils as determined by different bioassay endpoints and its predicted models.** CHEN Shi-bao\*, LIN Lei, WEI Wei, LIU Ji-fang, MA Yi-bing (National Soil Fertility and Fertilizer Effects Long-term Monitoring Network, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China). *China Environmental Science*, 2013,33(5): 922~930

**Abstract:** The toxicity thresholds ( $EC_x$ ,  $x=10,50$ , the effective concentration causing 10% and half inhibition) of Zn in sixteen Chinese soils were determined using log-logistic distribution models with four different toxicity bioassay endpoints, i.e., the potential nitrification rate (PNR) test, the barley root elongation assay (BRE), tomato (TGT) and bok choy (BGT) phytotoxicity test respectively, the quantitative relationship between the  $EC_x$  of Zn in soils and the main physic-chemical (e.g. pH, CEC and org-C etc) was also quantitatively measured, and the toxicity based predicted models of Zn in soils were developed. The results indicated that toxicity thresholds of Zn varied significantly among the different bioassay endpoints. The toxicity thresholds of  $EC_{10}$  of bok choy growth toxicity, barley root elongation, tomato growth toxicity and potential nitrification rate test were 322, 356, 336 及 297 mg/kg, respectively, the lowest  $EC_{10}$  was observed with potential nitrification rate test while the highest with barley root elongation test. The determined  $EC_{50}$  of the same order of bioassay endpoints were 846, 1471, 1160 and 768 mg/kg respectively. In general, the sensitivity of the bioassay endpoints followed the order of: the potential nitrification rate test > tomato phytotoxicity test > bok choy phytotoxicity test > the barley root elongation test, while the test stability reversed. The result implied that the microbe were the most sensitive organism responded to the Zn toxicity and the tomato was the most sensitive plant among the tested crops. In terms of the applicability, the  $EC_{50}$  values were more sensitive than that of  $EC_{10}$ , while the larger variation coefficient was observed with  $EC_{10}$  test. The pH value was the most important factor affecting the bioavailability of Zn in soils; the environmental risk can be well predicted by the normalization models developed on the pH, CEC and organic carbon contents of the soils.

**Key words:** zinc; bioassay endpoints; potential nitrification rate (PNR); toxicity thresholds ( $EC_x$ ); predicted models

收稿日期: 2012-09-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21077131, 41271490); 农业部农业公益性行业专项(200903015)

\* 责任作者, 研究员, chenshibao@caas.cn

不同的评价终点对于污染物毒性测试结果的应用性和风险评价目标是否代表了生态系统的特征至关重要. 目前, 针对环境污染物评价终点的选择往往具有很大的偶然性, 从而导致风险评价结果不确定性增加<sup>[1]</sup>. 就土壤中重金属污染物而言, 仅基于保护一定数量物种(如 HC<sub>5</sub> 或 HC<sub>10</sub>) 的生态效应法所得出的土壤环境质量基准值往往不能提供暴露于不同剂量重金属污染物对不同物种毒害效应的信息, 因此, 基于不同物种生物毒性指标的测试方法逐渐成为环境监测和健康风险评价的重要组成部分<sup>[2]</sup>.

针对土壤中不同重金属生物毒性测试方法中, 基于土壤微生物活性指标测试的基质诱导硝化法(PNR)因具有时间短、灵敏度高、准确性强等优点, 被广泛应用于土壤中不同污染物质毒性测试; 而针对敏感性不同的植物毒性测试方法由于易操作、重现性好的特点, 常应用于土壤环境污染物的监测和风险管理<sup>[3-4]</sup>. 在对污染物的环境风险评价中, 应用单物种毒性测试的外推技术虽然在评估污染物毒性效应时起到了一个很好的预知作用, 但该方法在外推过程中往往存在很多不符合实际情况的假设. 因此, 较严格的环境风险评估应该从生态系统的多角度来描述不同物种的污染水平和毒害效应, 并对不同毒性测试方法所得出的剂量-效应(EC<sub>x</sub>)进行归一化处理, 以保护一定物种的生态安全为前提, 推导出不同污染物的环境风险阈值(PNEC), 最终为生态风险管理及环境质量标准的制定提供科学的基础数据.

锌(Zn)是植物生长发育所必需的微量元素, 但 Zn 过量时则又会导致土壤退化以及作物产量和品质的降低. 近年来, 随着畜禽粪便、化肥农药及污水灌溉等农业源重金属污染的加剧, 我国土壤中 Zn 污染以不同程度快速蔓延, 从而影响到生态安全和人类健康<sup>[5-6]</sup>. 土壤重金属污染由于具有长期性和隐蔽性特点, 对重金属污染土壤进行不同物种的毒性阈值测定十分必要, 这也是量化重金属污染物环境风险的重要手段. 本文选择了我国具有代表性的 16 种不同性质土壤, 结合有害化学物质在环境中生物毒性测试的剂量-效应关系及对数-逻辑斯蒂克(Log-logistic distribution)

分布模型, 分别采用了基质诱导硝化、大麦根伸长、西红柿及小白菜等 4 种毒性测试方法, 测定了不同土壤中添加外源 Zn 对土壤中微生物及不同植物毒性的毒性阈值(EC<sub>x, x=10,50</sub>), 同时对土壤主控因子和 Zn 毒性阈值之间的量化关系及 Zn 毒性的预测模型进行了研究, 以期为我国 Zn 污染土壤的环境风险评价和土壤环境质量标准的修订提供科学依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤和植物

供试土壤: 根据我国土壤 pH 值及有机质分布频率的地带性特征, 采集了全国范围内 16 个省(地区)的典型农田土壤. 具体取样地点及土壤理化性质见表 1, 所有土样风干后均过 2mm 的尼龙筛后待用. 供试植物为: 大麦(*Hordeum vulgare*)、西红柿 (*Lycopersicon esculentum*)、小白菜 (*Brassica rapa var. chinensis*).

### 1.2 试验方法

1.2.1 不同浓度外源锌污染土壤的制备 根据土壤 Zn 毒性剂量-效应预备实验结果, pH<4.5 的土壤添加 Zn 浓度为 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000mg/kg, pH4.5~7.5 的土壤添加浓度为 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600mg/kg, pH>7.5 的土壤 Zn 添加浓度为 0, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600, 2400mg/kg. 具体添加方法: 按照每种土壤的 70% 最大田间持水量(MWHC)分别向土壤中喷施不同体积 ZnCl<sub>2</sub> 的母液, 充分搅拌均匀后平衡 2 周, 以获得不同浓度梯度的 Zn 污染土壤. 使用原子吸收分光光度法(AAS/FAAS: Varian AA 240FS+GTA)测定土壤中 Zn 的准确含量, 以国家标准土壤(GSS-6)作为标准进行测定质量控制.

1.2.2 土壤中 Zn 对大麦根伸长毒性测定(ISO 11269-1) 根据 ISO 11269-1 大麦根伸长毒性试验的标准方法<sup>[7]</sup>, 取风干土壤样品 360g, 分别装入根生长筒内(直径 35mm、高 120mm 的 PVC 管, 底部封住, 留 4 个小空隙供土壤空气交换, 3 次重复. 培养杯设计参照 ISO 11296-1, 保持最大持水量(MWHC)的 70% 培养 7d 后, 种植预发芽(胚根 <2mm)的大麦种子 4 颗到根生长筒内后置于人

工气候箱中进行培养.生长条件为白天 14h (22℃), 夜间 10h(18℃),光照强度为 24000lm/m<sup>2</sup>,湿度为 70%,保持整个试验过程中土壤含水量为最大持水量的 70%,5d 后收集大麦根,清洗后测量每个重复内每株大麦的根长,记录均值,利用逻辑斯蒂克分布模型进行毒性的剂量-效应关系测定.

**1.2.3 土壤中 Zn 对小白菜/西红柿毒性盆栽试验(ISO,2005)<sup>[8]</sup>** 取各浓度风干土壤样品 300g,装入植物生长盆内(实验设 3 个重复),保持最大持水量的 70%培养 7d 后,种植培育发芽(胚根 <5mm)的西红柿及小白菜种子后置于温室中生长,白天为 14~16h (28℃~36℃),夜间为 8~10h (16℃~26℃),保持整个试验过程中土壤含水量为最大持水量的 70%,生长 21d 后收获,称重烘干的小白菜与西红柿地上部分生物量,同时测定小白菜与西红柿茎叶中 Zn 的含量.

**1.2.4 土壤中 Zn 对微生物毒性测定(基质诱导硝化试验)** 参考文献[9]方法进行.基质诱导硝化采用 SAN<sup>++</sup>连续流动分析仪(SKALAR,公司,荷兰) 进行测定.PNR 的测定方法如下:取 7.0g 不同 Zn 污染土壤于 50 mL 塑料离心管中进行微宇

宙培养,设 3 个重复(编号 1,2,3).培养条件为黑暗、通风,(20±2)℃恒温,通过称重添加去离子水维持土壤湿度在最大田间持水量 70%.14d 预培养后,其中 1 号样品用于提取 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.方法为:离心管中加入 35mL 1.0mol/L KCl 溶液,100r/min, 15℃,振荡 60min,3000r/min 离心 10min,然后用定量滤纸过滤至 15mL 离心管,测定前用针管和 0.45μm 滤膜过滤.该过滤液用于硝态氮测定.测得的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>值记为 N1. 2 号、3 号样品添加 0.5mL 0.044mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,继续培养 28d.培养结束后,重复上述操作,添加 KCl 溶液、振荡、离心,测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量,并将平均值记为 N<sub>2</sub>.

**1.2.5 测定方法<sup>[10]</sup>** 土壤 pH 值是 0.01mol/L CaCl<sub>2</sub>按照土/水=1:5 条件下,振荡 4h 后测定;电导率是土水比为 1:5 条件下测定;阳离子交换量使用非缓冲的硫脲银方法测定;有机碳含量以总碳与无机碳含量之差获得;土壤质地通过沉降法测定.土壤中多元素含量使用电感耦合等离子体发色光谱仪(ICP-OES,耶拿公司,德国)测定;植物体中 Zn 含量测定使用原子吸收光谱仪(AAS,Varian AA 240FS+GTA).

表 1 不同土壤的基本理化性质

Table 1 Basic physico-chemical properties of the soil tested

代号	采集地点	土壤类型	pH 值(CaCl <sub>2</sub> )	阳离子交换量(cmol <sup>+</sup> /kg)	有机碳(%)	黏粒含量(%)	全锌(mg/kg)
1	海口	砖红壤	4.12	8.75	1.51	66.1	57.4
2	邵阳	红壤	4.54	7.47	0.87	46.1	75.6
3	海伦	黑土	5.36	33.62	3.03	40.4	53.5
4	嘉兴	水稻土	6.40	19.31	1.42	41.2	90.6
5	杭州	水稻土	6.72	12.84	2.46	38.9	119.3
6	重庆	紫色土	7.02	22.31	0.99	27.3	106.8
7	广州	水稻土	7.25	8.33	1.47	25.3	33.6
8	灵山	棕壤	7.27	22.72	4.28	19.9	68.9
9	呼兰浩特	黑钙土	7.29	22.71	2.66	37.1	44.2
10	公主岭	黑土	7.31	28.82	2.17	44.6	62.8
11	石家庄	褐土	7.49	11.72	1.00	21.4	53.8
12	杨凌	垆土	7.56	8.46	0.62	27.5	56.5
13	廊坊	潮土	7.61	6.36	0.60	10.1	33.8
14	郑州	潮土	7.65	8.51	1.57	16.3	44.5
15	张掖	灌漠土	7.71	8.08	1.02	19.6	56.3
16	德州	潮土	7.78	8.33	0.69	17.6	46.6

### 1.3 数据处理

土壤中 Zn 对潜在硝化速率(PNR)的影响根据式(1)进行计算:

$$PNR = V \frac{N_2 - N_1}{X \times m} \quad (1)$$

式中:V 为 KCl 的体积,mL;m 为土壤样品的质

量,  $g; N_2$  和  $N_1$  为 N 的含量,  $mg/L; X$  为培养天数,  $d$ .  
剂量-效应曲线的拟合

1) 根据逻辑斯蒂克分布模型(Log-logistic distribution)进行拟合<sup>[11]</sup>.

$$y = \frac{y_0}{1 + e^{(b(x-M))}} \quad (2)$$

式中:  $y$  分别各处理水平下的相对潜在硝化速率, %或西红柿和小白菜生物量相对干重或大麦相对根伸长, %;  $x$  为实际测量土壤中 Zn 含量,  $mg/kg$  的对数;  $y_0, b$  为拟合参数;  $M$  为  $EC_x(x=10, 50)$  的对数. 所拟合的曲线来测定不同评价终点所得的毒性阈值( $EC_{50}$  和  $EC_{10}$ ).  $EC_{50}$  和  $EC_{10}$  分别为不同评价终点方法中测定指标降低至未污染土壤的 50% 和 10% 时土壤中 Zn 的浓度.

2) 当低剂量毒物刺激效应发生时, 采用 Schabenberger 等<sup>[11]</sup>的低剂量毒物刺激效应

(hormesis) 曲线拟合[式(3)], 通过 Tablecurve 2D V5.01 软件来完成.

$$Y = \frac{a + bX}{1 + \left\{ \frac{k}{100 - k} + \left( \frac{100}{100 - k} \right) \frac{bc}{a} \right\} \exp[d \ln X / c]} \quad (3)$$

式中:  $y$  是各测试指标的相对量, %;  $x$  是土壤中实测 Zn 的浓度,  $mg/kg$ ;  $a, b, c, d$  是方程参数. 当  $k$  为 10、50 时, 参数  $c$  定义为  $EC_{10}$  及  $EC_{50}$ ,  $mg/kg$ .

### 1.4 统计分析

所有实验数据均采用 Excel 2007 和新复极差法(LSD 法)进行不同处理间的显著性方差分析(Genstat 6 for Windows)<sup>[12]</sup>.

## 2 结果与讨论

### 2.1 基于不同测试终点的土壤中锌的毒性阈值

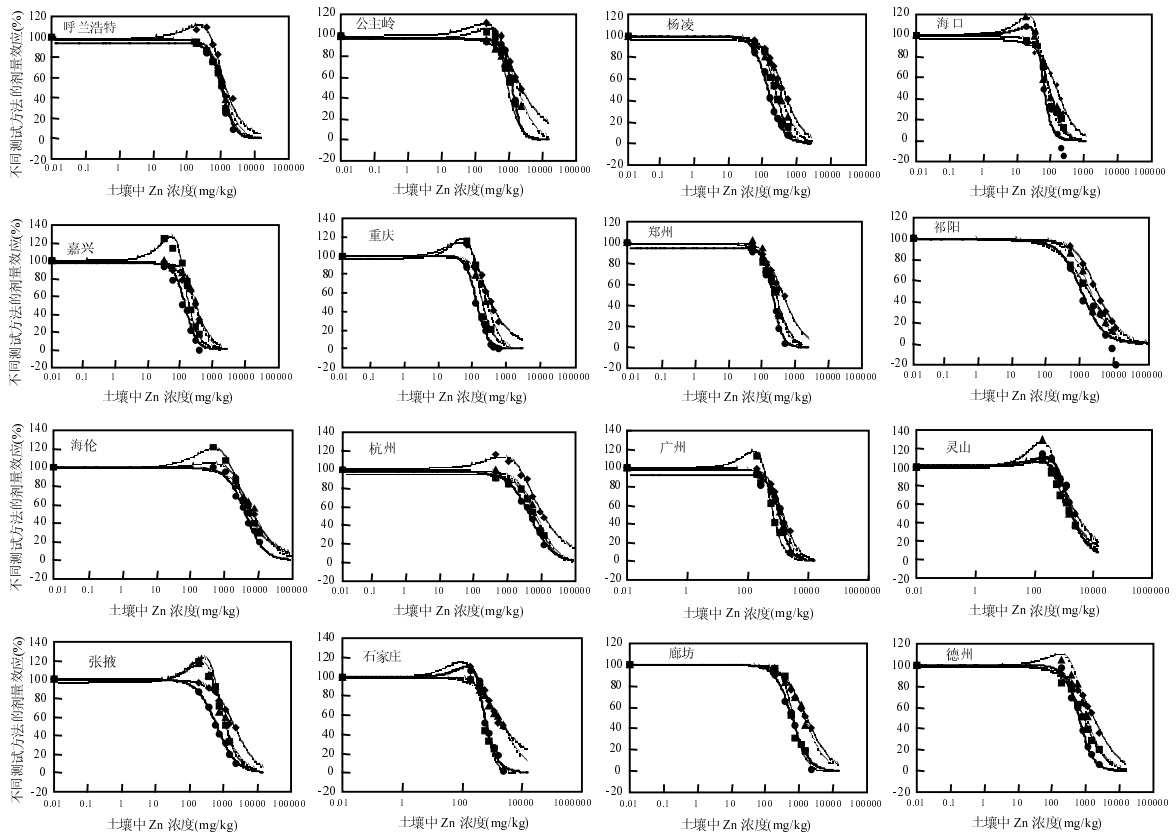


图 1 基于不同测试方法测定的我国土壤中外源锌毒性的剂量-效应曲线

Fig.1 Dose-response curve of Zn to different toxicity test endpoint in Chinese soils

● PNR      ■ 小白菜      ▲ 西红柿      ◆ 大麦

污染物毒性阈值  $EC_x$  通常通过 Log-normal、Log-logistic、Weibull 等函数拟合出的“S”型剂量-效应曲线获得.在众多拟合剂量-效应曲线的函数中,Log-logistic 函数因为能较好拟合实际生物效应而被广泛应用<sup>[13-14]</sup>.根据基质诱导硝化(PNR)、大麦根伸长、西红柿及小白菜生长毒性测试测试结果,利用逻辑斯蒂克分布模型拟合的土壤中 Zn 对不同物种毒性的剂量-效应关系见图 1.从图 1 可以看出,随着土壤中 Zn 浓度的逐渐增加,Zn 对不同物种的毒性也均逐渐增加.在相同 Zn 污染浓度条件下,同一种土壤中不

同测试物种对 Zn 污染胁迫的反应有较大差异(不同曲线纵坐标百分数大小差异).此外,不同毒性测试方法在土壤中低浓度 Zn 条件下,均产生一定的低剂量刺激(hormesis)效应,而这种低剂量刺激效应在不同测试方法中也表现出明显的差异,其中以小白菜测试表现的低剂量刺激效应程度(与对照相比测试指标的百分数)最为明显,最高达到 132.4%(嘉兴土壤),其次是大麦,最高达 127.2% (重庆土壤),低剂量刺激效应程度差异性顺序总体表现为:小白菜~大麦>西红柿>土壤微生物.

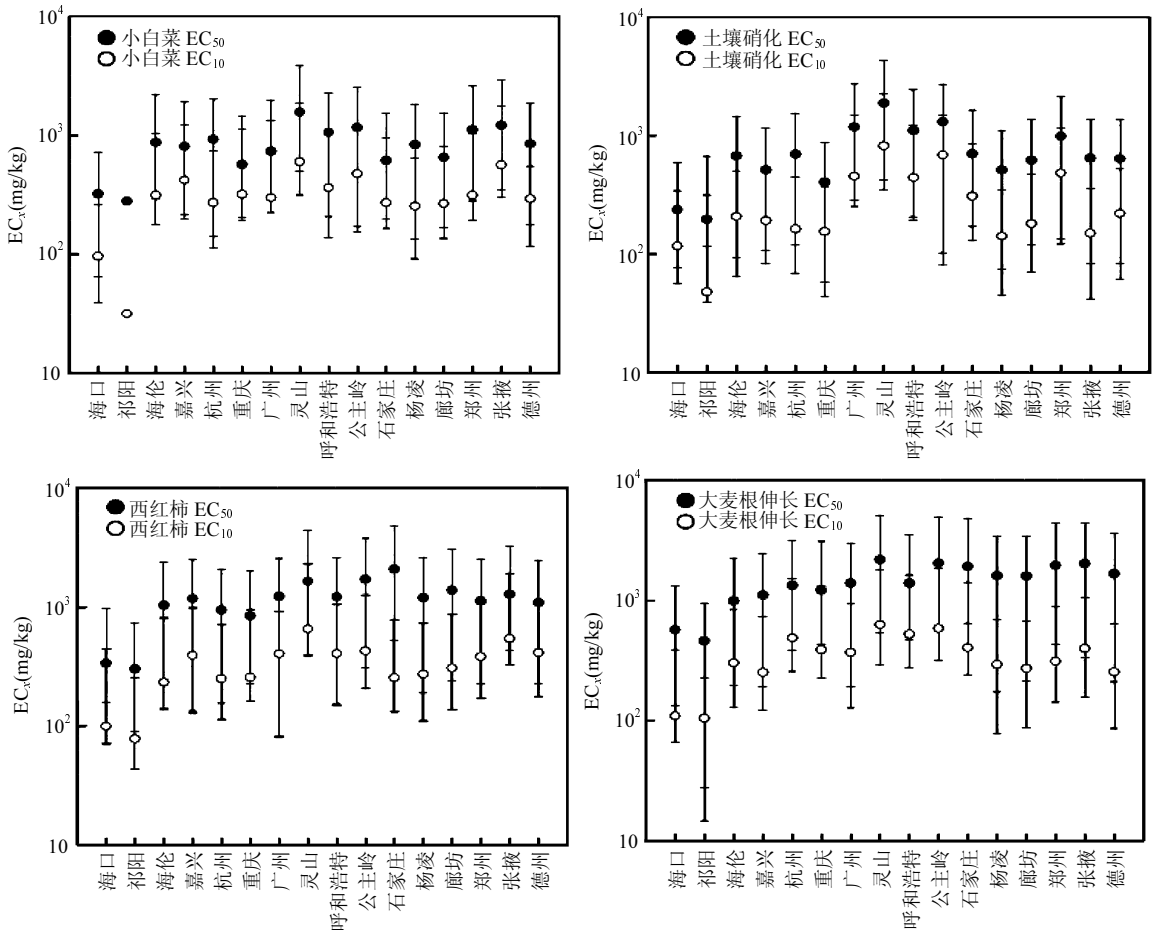


图2 基于不同测试方法测定的不同土壤中锌的毒性阈值( $EC_{50}$ , $EC_{10}$ ,mg/kg)及其±95%的置信区间

Fig.2 Toxicity thresholds ( $EC_{50}$ , $EC_{10}$ ) and its 95% confidence interval of Zn (mg/kg) in soils determined by different toxicity test endpoints

根据上述 16 种土壤中 Zn 生物毒性的剂量-效应曲线拟合结果,分别得到基于 4 种生物指标的锌

的毒性阈值  $EC_{50}$  和  $EC_{10}$  及其 95%的置信区间(图 2).测试结果表明,16 种不同土壤中 Zn 的毒性阈值

在不同测试物种间存在较大差异,以  $EC_{10}$  为例,以小白菜、大麦、西红柿及土壤微生物测试范围分别为:36~596,105~629,78~656 及 48~815mg/kg,测试的  $EC_{10}$  均值分别为:322,356, 336 及 297mg/kg,以土壤微生物测试(PNR)最低,以大麦根伸长测定结果最高(图 3),以  $EC_{50}$  的结果与  $EC_{10}$  类似。

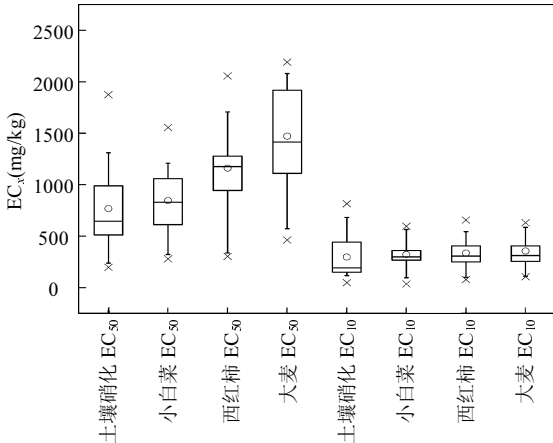


图 3 不同测试方法测定的土壤中 Zn 毒性阈值  
Fig.3 Comparison of toxicity thresholds ( $EC_{50}$ ,  $EC_{10}$ , mg/kg) of Zn in soils and its x% confidence interval as determined by different test endpoints

×最大值和最小值; I 10%~90%百分比;□ 25%~75%百分比;—中值,○均值

## 2.2 不同毒性阈值测定方法的敏感性与变异性

### 2.2.1 敏感性差异

不同毒性测试方法的敏感性差异对环境中有毒物质的生态风险评价及其基准值的确定具有重要意义<sup>[5,15]</sup>。本研究中,毒性测试方法的敏感性定义为同一种土壤中,利用不同毒性测试方法测定的  $EC_x(x=10$  或  $50$  等)值大小差异, $EC_x$  值越小则表明该测试方法越敏感。本实验将 4 种不同测试方法在 16 种土壤中测试的  $EC_{50}$ 、 $EC_{10}$  的敏感性进行了比较,研究结果表明,PNR 测定的  $EC_{10}$  值分别有 72.2%,66.7%和 66.7%的土壤类型小于大麦根伸长、小白菜及西红柿毒性所测定的  $EC_{10}$  值;而就  $EC_{50}$  值而言,不同测试方法敏感性差异更大(敏感性百分数为不同处理的土壤测试得出的相同抑制浓度的  $EC_x$  值的大小得出),PNR 法在 100%土壤比大麦根伸长法敏感,有 93.8%土壤比西红柿毒性测定法敏感,有 87.5%的土壤比小白菜测定结果敏感。由此可以推

断,在土壤 Zn 毒性的敏感性测定中,不同毒性测定方法间存在显著性差异,而即使是相同测试方法中,基于不同毒性水平( $EC_x$ )间的敏感性也不相同,其中以  $EC_{50}$  测定结果要敏感于  $EC_{10}$ ,而在剂量-效应关系研究中, $EC_{10}$ (10%有效抑制浓度)通常被用来推导基于不同风险程度的环境质量基准值<sup>[15]</sup>,因此,将污染物不同毒性阈值  $EC_{50}$  与  $EC_{10}$  间进行相互转换过程中的毒性测定敏感性差异将是研究环境质量基准中急需解决的问题。总体而言,不同测试方法对污染土壤中 Zn 毒性反应的敏感性顺序(毒性阈值  $EC_x$  由低到高)表现为:土壤微生物(PNR)>西红柿>小白菜>大麦。由此可推断,在上述 4 种不同测试方法中,土壤 PNR 法是土壤 Zn 毒害最敏感的测试方法,而小白菜则是对土壤 Zn 污染胁迫最敏感的植物品种。

### 2.2.2 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<sup>[2]</sup>。在本研究中,4 种不同测试终点对 16 种不同的土壤测定毒性阈值的平均值及其对应的变异性大小见表 2。研究结果表明,4 种不同测试终点测定的  $EC_{50}$  平均值大小顺序为:大麦根伸长>西红柿生长>小白菜生长>潜在硝化速率(PNR),其中,PNR 方法测定的  $EC_{50}$  平均值与大麦根伸长及西红柿生长所测定的结果达到显著性差异( $P<0.05$ ),而基于 16 种土壤  $EC_{50}$  值的变异性大小顺序则相反;不同测试终点测定的  $EC_{10}$  平均值大小顺序及测定结果的变异性顺序与  $EC_{50}$  值类似。

表 2 不同测试终点的平均毒性阈值及变异系数  
Table 2 Comparison of different mean toxicity thresholds ( $EC_{50}$ ,  $EC_{10}$ , mg/kg) and the variation coefficient

测试终点	$EC_{50}$ 平均值 (mg/kg)	$EC_{50}$ 变异系数	$EC_{10}$ 平均值 (mg/kg)	$EC_{10}$ 变异系数
潜在硝化速率	768 a	0.562	297 a	0.735
小白菜生长	846 ab	0.390	322 a	0.451
西红柿生长	1160 b	0.385	336 a	0.443
大麦根伸长	1471 c	0.351	356 a	0.422

注:字母代表5%水平上,利用新复极差法(LSD法)进行多重比较结果,同行中字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )

另外,对 4 种不同毒性测试方法的稳健性(本研究中稳健因子定义为测试终点在未污染的土

壤中变异系数的倒数)进行了分析,研究结果表明(表 3),不同测试方法的稳健性顺序为:大麦根伸长>西红柿生长>小白菜生长>PNR,可见,PNR法是在对照样品间最易变的终点指标,除了 Zn 污染胁迫外,PNR 测定指标更易受到土壤性质及环境因子等其他因素的影响。

表 3 不同测试终点在 16 种对照土壤中的测定指标值

Table 3 Determined indexes of the different test endpoints of Zn in the 16 unamended soils

测试终点	潜在硝化速率 [mgN/(kg·d)]	小白菜生 物量(g/盆)	西红柿生 物量(g/盆)	大麦根伸长 (cm)
最小值	0.67	0.10	0.15	8.85
最大值	10.63	0.35	0.46	18.84
平均值	6.85	0.21	0.31	13.78
稳健因子	2.2	3.3	3.7	3.8

本研究中,土壤硝化(PNR)法对锌毒性比其他高等植物指标更为敏感,这已经被很多研究所证明<sup>[16-17]</sup>。Broos 等<sup>[16]</sup>比较了 5 种生物终点指标检测土壤锌毒性的敏感性顺序为:土壤硝化>基质诱导呼吸>植物生长量和固氮作用>基质诱导呼吸(24,48h 后的呼吸)>基础呼吸;而类似研究结果也表明了土壤硝化为对锌污染最敏感的指标之一<sup>[18]</sup>。目前,虽然土壤硝化法具有较大的变异性特点,但仍然常被应用于欧洲土壤中重金属污染的监测与评价<sup>[19-20]</sup>。高等植物指标的稳健性较高,但是却不及微生物敏感,此结果说明在重金属生态风险评价中,生物评价指标在稳健性和敏感性之间往往有负相关关系,即敏感度越高,其变异

性也越大<sup>[16,21]</sup>。但目前采用的单一生物毒性测试方法往往均有一定的局限性,因此,评价终点的选择应尽量考虑多物种测试方法,并且考虑测试终点的生态关联性和生物易感性等多种特点,这样才能够更全面而准确评价污染土壤中重金属的生态风险。

### 2.3 土壤中锌毒性阈值与土壤性质的关系及其预测模型

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,是进行污染土壤管理和风险评价的基础。通过对不同测试方法的 Zn 毒性阈值与土壤主要影响因子(土壤 pH 值,CEC,有机碳等)间的相关分析结果表明(表 4),pH 值是影响土壤锌毒性阈值最为重要的因素,这与前期类似结果相吻合<sup>[22]</sup>。从多元逐步回归方程拟合结果可以看出,土壤 pH 值和有机碳(Org-C)可以很好地预测锌的毒性阈值模型的变异,可以控制基于大麦根伸长试验 EC<sub>50</sub> 模型变异的 92.2%和 EC<sub>10</sub> 模型变异的 86.2%,同样解释了基于土壤硝化测定的 EC<sub>50</sub> 和 EC<sub>10</sub> 模型的 89.3%及 71.1%的变异,而基于小白菜生长试验则分别为 85.9%和 73%,西红柿生长试验则是 79.3%和 84.4%。在土壤 pH 值和有机碳(Org-C)的基础上,增加土壤 CEC 能够在不同程度地提高 Zn 毒性预测模型的准确性(表 4)。这结果表明,不同土壤中锌的毒性阈值的变异性能够被土壤性质(pH 值,Org-C 及 CEC)较好的解释,而土壤主控因子和毒性阈值之间的预测模型可以为我国土壤锌的风险评价提供理论依据。

表 4 基于土壤主控因子与 Zn 的毒性阈值的统计分析(偏相关系数和预测模型)

Table 4 Statistical analysis of soil properties affecting toxicity thresholds of Zn in soils (partial correlation coefficients and predicted models)

测试终点	pH 值	Org-C	CEC	决定系数 R <sup>2</sup>
土壤硝化 PNR(n=16)				
Log(EC <sub>50</sub> )-Zn	0.678**	0.59*	0.369NS	
Log(EC <sub>50</sub> )-Zn=0.166pH+0.168Org-C+1.42				R <sup>2</sup> =0.893
Log(EC <sub>10</sub> )-Zn	0.565*	0.573*	0.411NS	
Log(EC <sub>10</sub> )-Zn=0.174pH+0.196Org-C+0.86				R <sup>2</sup> =0.717
Log(EC <sub>10</sub> )-Zn=0.174pH+0.180Org-C+0.003CEC+0.84				R <sup>2</sup> =0.721
小白菜生长 (n=16)				
Log(EC <sub>50</sub> )-Zn	0.714*	0.518*	0.375NS	
Log(EC <sub>50</sub> )-Zn=0.134pH+0.115Org-C+1.79				R <sup>2</sup> =0.859
Log(EC <sub>50</sub> )-Zn=0.134pH+0.103Org-C+0.002CEC+1.78				R <sup>2</sup> =0.864

续表 4

测试终点	pH 值	Org-C	CEC	决定系数 $R^2$
Log( $EC_{10}$ )-Zn	0.733*	0.366NS	0.410NS	
Log( $EC_{10}$ )-Zn=0.208pH+0.132Org-C+0.802				$R^2=0.730$
Log( $EC_{10}$ )-Zn=0.211pH+0.063Org-C+0.012CEC+0.718				$R^2=0.793$
西红柿生长 ( $n=16$ )				
Log( $EC_{50}$ )-Zn	0.841***	0.21NS	0.268NS	
Log( $EC_{50}$ )-Zn=1.17pH+0.064Org-C+1.76				$R^2=0.793$
Log( $EC_{50}$ )-Zn=1.171pH+0.023Org-C+0.007CEC+1.71				$R^2=0.835$
Log( $EC_{10}$ )-Zn	0.828***	0.316**	0.234NS	
Log( $EC_{10}$ )-Zn=0.184pH+0.095Org-C+1.07				$R^2=0.844$
Log( $EC_{10}$ )-Zn=0.184pH+0.081Org-C+0.002CEC+1.05				$R^2=0.848$
大麦根伸长 ( $n=16$ )				
Log( $EC_{50}$ )-Zn	0.928***	0.156NS	0.089NS	
Log( $EC_{50}$ )= 0.16pH+0.047Org-C+1.96				$R^2=0.922$
Log( $EC_{10}$ )-Zn	0.729**	0.501*	0.467NS	
Log( $EC_{10}$ )= 0.15pH+0.125Org-C+1.26				$R^2=0.862$
Log( $EC_{10}$ )= 0.154pH+0.085Org-C+0.007CEC+1.21				$R^2=0.904$

注:\*\*\*  $P < 0.001$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$ ; NS 为不显著

### 3 结论

3.1 在不同土壤中,低浓度 Zn 对土壤微生物和植物均产生一定的低剂量刺激(hormesis)效应,而这种低剂量刺激效应在不同测试方法中表现出明显的差异性特征,低剂量刺激效应程度差异性顺序总体表现为:小白菜~大麦>西红柿>土壤微生物。

3.2 我国土壤中 Zn 的毒性阈值在不同测试物种间存在较大差异,,不同测试方法对土壤中 Zn 毒性的敏感性顺序为:土壤微生物(PNR)>西红柿>小白菜>大麦.PNR 法是土壤 Zn 毒害最敏感的测试方法,而西红柿则是对土壤 Zn 污染胁迫最敏感的植物品种。

3.3 在相同毒性测试方法中,不同毒性水平( $EC_x$ )间存在明显的敏感性差异,其中  $EC_{50}$  阈值的测定结果要敏感于  $EC_{10}$ 。

3.4 从不同毒性测试方法所得出的 Zn 毒性阈值与土壤主控因子间的多元逐步回归分析结果表明, pH 值是影响土壤锌毒性阈值最为重要的因素;基于土壤 pH 值,CEC,有机碳含量的归趋化预测模型可以很好地预测土壤中 Zn 的生态风险阈值。

#### 参考文献:

[1] USEPA. Framework for application of the toxicity equivalence

methodology for polychlorinated dioxins, furans and biphenyls in ecological risk assessment [R]. EPA /630 /P203 /002A (External Review Draft), 2003.

- [2] 黄圣彪,王子健,乔敏.区域环境风险评价及其关键科学问题[J]. 环境科学学报, 2007,27(5):705-713.
- [3] Oh S M, Park K, Chung K H. Combination of in vitro bioassays encompassing different mechanisms to determine the endocrine disrupting effects of river water [J]. Science of the Total Environment, 2006,354:252-264.
- [4] 骆坚平,李娜,马梅,等.用成组生物效应标记方法定量评价饮用水健康风险 [J]. 环境科学学报, 2007,27(11):1778-1782.
- [5] 魏威,梁东丽,陈世宝.土壤中来源锌对不同植物毒性的敏感性分布 [J]. 生态学杂志, 2012,31(3):538-543.
- [6] 陈世宝,马义兵, Enzo Lombi,等.利用  $^{65}\text{Cu}$  同位素稀释技术测定土壤中 Cu 的 E、L 值 [J]. 化学学报, 2011,69(4):459-465.
- [7] International Organization for Standardization, ISO-11269-1:Soil quality-Determination of the effects of pollutants on soil flora-Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth[S]. Geneva, Switzerland, 2012.
- [8] International Organization for Standardization, ISO-11262-2(2nd edition):Soil Quality-Determination of the effects of Pollutants on Soil Flora -Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Plants [S]. Geneva, Switzerland, 2005.
- [9] ISO (International Organization for Standardization). ISO 14238.Soil Quality-Biological Methods-Determination of Nitrogen Mineralization and Nitrification in Soils and the Influence of Chemicals on These Processes [S]. Geneva, Switzerland Switzerland. 1993.
- [10] 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.



- [11] Schabenberger O, Tharp B E, Kell J J, Penner D. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide does response [J]. *Agronomy Journal*, 1999,91(4):713-721.
- [12] Lawes Agricultural Trust [M]. *Genstat (Release 6.1)*, IACR, Rothamsted, UK 2002.
- [13] Christensen E R, Nybolm N. Ecotoxicological assays with algae: Weibull dose-response curves [J]. *Environmental Science and Technology*, 1985,18:713-718.
- [14] Haanstra L, Doelman P, Voshaar J H O. The use of sigmoidal dose response curves in soil ecotoxicological research [J]. *Plant Soil*, 1985,84(2):293-297.
- [15] Christensen E R, Kusk K O, Nyholm N. Dose-response regression for algal growth and similar continuous endpoints: calculation of effective concentrations [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009,28(4):826-835.
- [16] Broos K, Mertens J, Smolders E. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays: a comparative study [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2005,24(3):634-640.
- [17] Coppolecchia D, Puglisi E, Vasileiadis S. et al. Relative sensitivity of different soil biological properties to zinc [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011,43:1798-1807.
- [18] Giller K E, Witter E, McGrath S P. Heavy metals and soil microbes [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009,41:2031-2037.
- [19] Smolders E, Brans K, Coppens F, et al. Potential nitrification rate as a tool for screening toxicity in metal-contaminated soils [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001,20(11):2469-2474.
- [20] 夏月,朱永官.硝化作用作为生态毒理性指标评价土壤重金属污染生态风险 [J]. *生态毒理学报*, 2007,2(3):273-278.
- [21] Erik S, Jurgen B, Olivar L, et al. Soil properties affecting toxicity of zinc to soil microbial properties in laboratory-spiked and field-contaminated soils [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2004, 23(11):2633-2640.
- [22] Lock K, Janssen C R. Influence of ageing on zinc bioavailability in soils [J]. *Environmental Pollution*, 2003,126(3):371-374.

**作者简介:** 陈世宝(1971-),男,安徽马鞍山人,研究员,博士,主要从事重金属环境行为与环境质量研究.发表论文 60 余篇.

## 自然水域中银纳米粒子的释放特征

由于具有良好的杀菌消毒活性和光电、催化、超导性能,纳米银被广泛应用在原来越多的日常消费品中.纳米银的大量生产和广泛使用增加了其向环境释放的机会,同时增加人体暴露的机会.因此,纳米银粒子对生态系统的影响日益受到关注.进入环境后,零价银原子可能被氧化为自由银离子( $\text{Ag}^+$ ),或者继续以纳米银的形态存在.银在环境中的不同化学形态对应不同的生物学毒性,因此研究纳米银的环境稳定性并预测其生态毒理特性显得十分必要.Dobias 和 Latmani 研究了不同粒径(包括 5nm、10nm 和 50nm)的纳米银在进入河流或湖泊水 4 个月后的银释放特征;并研究了三种不同的封端剂(聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、单宁酸和柠檬酸)对其释放特征的影响.从质量差异考虑,大粒径银纳米粒子远比小粒径粒子难溶于含氧水体;然而使用表面积进行归一化后,不同粒径银纳米粒子的水溶性差异减小,表明表面积是影响银释放的重要因素,初期银的快速释放可能是因为银离子在纳米粒子表面的解吸作用.与 PVP 纳米银和单宁酸纳米银相比,柠檬酸纳米银较不利于银离子的释放.另外,研究者认为氧化溶解过程可能是影响银释放的另一个机制.总体上,小粒径纳米银(5nm、PVP 纳米银和单宁酸纳米银)可以在水体中快速完全溶解,而大粒径纳米银(50nm)作为潜在银离子释放源会在水体中存留较长时间.