

玉米生长指标对土壤外源铜镍毒害的敏感性比较研究

郭雪雁, 左余宝, 陈世宝, 王诗宇, 马义兵

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

摘要:在重金属污染土壤的生态风险评价中,评价指标的确定至关重要,为此在田间试验条件下研究了不同添加水平的 Cu 和 Ni (0、50、100、200、400、800、1 600、3 200 mg·kg⁻¹)对玉米的毒害效应,并比较了玉米生长指标对 Cu 和 Ni 毒害的敏感性。结果表明,在相同的添加水平下 Ni 对玉米的毒害高于 Cu;对 Cu 和 Ni 而言,苗期各项指标的敏感性依次为叶面积>株高>出苗率或可见叶数。与其他指标相比,叶面积是判别 Cu 和 Ni 污染最敏感的指标。苗期的株高、成熟期籽粒和秸秆的干重,这 3 项指标的敏感性接近,是较为敏感的指标,而出苗率和可见叶数与其他指标相比敏感性较差。因此,苗期株高和叶面积可以作为 Cu 或 Ni 毒害的评价指标。同时,两茬玉米的研究结果表明,土壤中的 Cu 对两茬玉米毒害的差异不显著,而土壤中的 Ni 对两茬玉米毒害的差异显著,说明 Ni 在石灰性土壤中的老化效应明显。

关键词: Cu; Ni; 毒性效应; 土壤污染; 玉米

中图分类号: X503.231 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)09-1777-07

Comparison of Sensitive Endpoints of Maize Growth to the Toxicity of Copper and Nickel Added to Soil

GUO Xue-yan, ZUO Yu-bao, CHEN Shi-bao, WANG Shi-yu, MA Yi-bing

(Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The realistic endpoints are very important in ecological risk assessment of soils contaminated with heavy metals. In the present study, a field trial was carried out to study the toxicity of Cu and Ni added to soils to maize plant growth and to compare the sensitivity of different assessment endpoints for maize growth to Cu or Ni toxicity with a wide range of Cu or Ni added to soil (0, 50, 100, 200, 400, 800, 1 600, 3 200 mg·kg⁻¹). The results showed that Ni is more toxic to maize growth than Cu at the same application rates. Based on the assessment of the toxicity of copper and nickel to maize plant growth, the sensitivity of endpoints of seedling growth was in the order leaf area>plant height>seedling emergence rate or leaf number. Leaf area was the most sensitive endpoint of the four evaluated. The endpoints of plant height, grain yield and straw biomass were sensitive to Cu or Ni toxicity. Seedling emergence rate and leaf number are the least sensitive endpoints. Therefore, leaf area and plant height can be used as bioindicators of copper- and nickel-contaminated soils. Also, the results about the change in the toxicity of Cu and Ni with two successive crops indicated that there was no significant difference in Cu toxicity, while a significant decrease in Ni toxicity, which indicated a significant aging effect of Ni.

Keywords: Cu; Ni; toxicity; soil contamination; maize

随着工业化、城镇化和工农业废弃物的排放,农田土壤中 Cu 和 Ni 的积累速率和污染报道在不断增加^[1-6]。尤其是集约化养殖业的发展以及富铜饲料添加

剂的应用,土壤生态风险日益加剧,因此研究土壤外源铜和镍的生态风险评价指标尤为重要。利用高等植物生长状况评价土壤污染程度,是土壤生态风险评价的重要方法之一^[7-11]。通过剂量-效应关系可以确定重金属对土壤生态系统中生物的危害程度,从而确定土壤中重金属最大允许浓度或临界含量,为控制重金属进入土壤生态系统,确保生态安全提供量化指标^[12]。然而现有的土壤重金属剂量与植物毒性效应关系的报道大都建立在短期盆栽试验的基础上^[13-15],缺乏田

收稿日期: 2009-01-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20677077;40620120436); 中国博士后科学基金资助项目(20070420436)

作者简介: 郭雪雁(1975—),女,陕西勉县人,博士,主要从事重金属的生物可利用性和重金属污染的生态风险评价方面的研究。E-mail: gxy_hsl@163.com

通讯作者: 马义兵 E-mail: ybma@caas.ac.cn

田间试验的数据。土壤中重金属的毒性不仅与土壤性质有关^[6],而且对于同一植物,不同的评价指标对毒性的敏感性也不相同^[7]。

玉米是我国的一种重要粮食作物,因此本文研究了在田间试验条件下不同添加水平的 Cu 和 Ni 对玉米生长的各项指标的毒害,通过分析相应的剂量-效应关系,筛选出具有土壤污染指示作用的敏感指标,为土壤中 Cu 和 Ni 农田污染预警与评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 试验区概况

试验在中国农业科学院山东陵县试验站进行。试验区(37°20'N, 116°38'E, 海拔 20 m)属暖温带半湿润半干旱季风气候区。近 60 年(1951—2007 陵县气象站)气象资料表明,年平均气温为 12.9℃,大于 0℃积温 4 750~5 000℃,日照时数 2 592 h,无霜期为 208 d,年平均降水量 547.5 mm,年蒸发量 2 000 mm,地下水埋深 2.7~3.0 m。

1.1.2 供试土壤和植物

供试土壤为典型潮土,其表层(0~20 cm)的基本理化性质为:粘粒/粉粒/砂粒=18/18/64,属于砂质壤土;耕层土壤有机质、硝态氮、铵态氮、速效磷、速效钾的含量分别为 1.25%、5.0 mg·kg⁻¹、22.9 mg·kg⁻¹、15.8 mg·kg⁻¹ 和 68.9 mg·kg⁻¹。pH 值为 8.9(水土比为 1:5),电导率为 111.8 μS·cm⁻¹^[18];阳离子交换量为 8.33 cmol·kg⁻¹^[19];CaCO₃ 含量为 6.17%;总 N 含量为 0.08%;铁氧化物的含量为 644.2 mg·kg⁻¹。供试植物为玉米(浚单 20,购自山东陵县种子公司)。

1.2 试验方法

田间试验外源 Cu 和 Ni 的添加浓度参考实验室内植物毒性实验的结果^[20],添加浓度分别为 0、50、100、200、400、800、1 600、3 200 mg·kg⁻¹。Cu 和 Ni 分别使用氯化铜及氯化镍(化学纯试剂),在第一茬玉米播种前一次性施入土壤。每个处理的金属盐与根层土壤(0~20 cm)充分混匀,48 h 后进行播种,每个处理设 2 个重复。试验在 32 个小区进行,每个小区长、宽各为 2 m,小区面积为 4 m²,小区布置采用随机排列。作物轮作为玉米-小麦。氮、磷、钾肥施用按当地习惯进行,玉米只施用氮肥,尿素施用量为 225 kg N·hm⁻²,仅在小喇叭口期一次性追施(条施,深度 3~5 cm)。小麦施用尿素、过磷酸钙和硫酸钾,施用量分别

为 225 kg N·hm⁻²、120 kg P₂O₅·hm⁻²、150 kg K₂O·hm⁻²。磷钾肥全部作底肥施用,氮肥分两次施用,底肥和追肥各占 1/2(追肥在小麦拔节期施用)。玉米每小区种 30 穴,每穴 5 粒种子,播种后灌水,灌水量平均每小区 0.45 m³。在 4~5 叶期每穴定苗 1 株。玉米 6 月 10 日播种,9 月 18 日收获,生长期为 98 d。试验于 2007 年 6 月开始,于 2008 年 9 月结束。统计两茬玉米出苗率、大喇叭口期株高、总叶数和叶面积,以及收获后籽粒和秸秆的干重。

(1) 出苗率计算

出苗率=(每个小区总苗数/150)×100%

(2) 株高与可见叶数测定

每个小区选 5 株具有代表性幼苗,用直尺测量每株从土壤表面至茎顶端的距离即株高,并统计每株叶子总数,求其平均值。

(3) 叶面积测定

每个小区选 5 株具有代表性幼苗,求每株玉米总叶面积的平均值。叶面积用系数法计算^[21]:

叶面积=叶长×最大叶宽×0.8(0.8 为叶面积系数)

(4) 生物量测定

玉米收获后,称量每个小区玉米籽粒和秸秆的风干重。风干样品在 70℃烘干 48 h,测定含水率,计算小区玉米籽粒和秸秆的干重。

1.3 数据分析

剂量-效应曲线拟合根据 log-logistic 方程^[22]进行:

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

y 代表各评价指标的数值, x 为土壤中添加 Cu 和 Ni 浓度的自然对数, y₀ 与 b 是拟合参数, a 为 lgEC₅₀。式中利用拟合曲线求出不同评价指标的 EC₁₀ 和 EC₅₀ 值(EC₁₀ 或 EC₅₀ 分别为与对照相比植物生长受到 10% 或 50% 抑制时土壤中外源 Cu 或 Ni 的浓度),具体拟合通过 Excel 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 Cu 和 Ni 对玉米的毒性效应

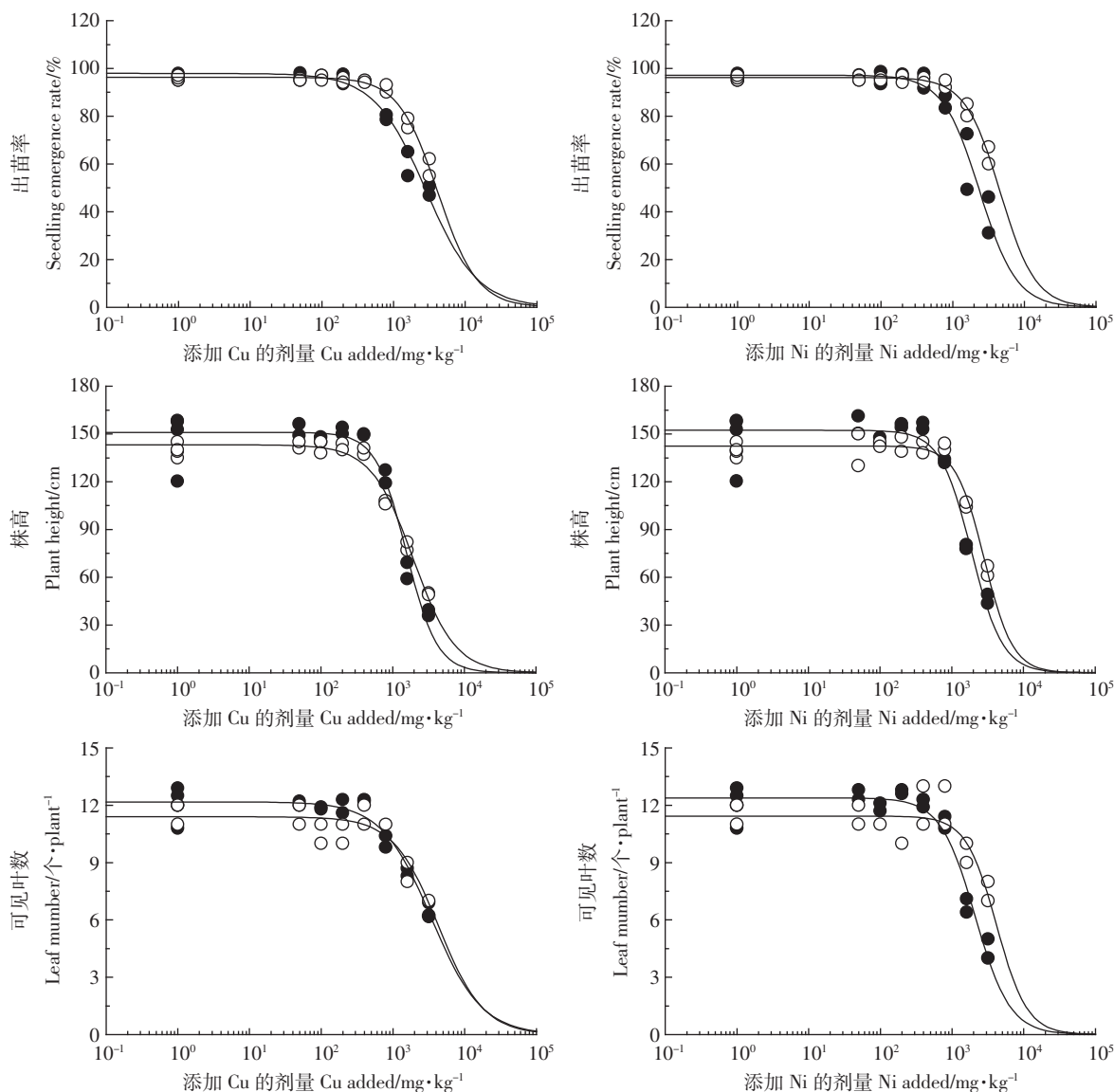
不同添加剂量的 Cu 和 Ni 对玉米的出苗率、株高、叶面积、可见叶数、以及籽粒和秸秆干重的影响如图 1 所示。研究表明,随着土壤中 Cu 和 Ni 污染程度的加剧,对玉米生长产生了不同程度的毒性效应。在 Cu 或 Ni 的添加浓度都小于 400 mg·kg⁻¹ 时,与对照相比,玉米的出苗率、株高、叶面积、可见叶数、以及籽粒和秸秆干重没有明显的影响(图 1),但当 Cu

或 Ni 的添加浓度都 $\geq 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 上述各项指标明显地受到抑制, 随着土壤中 Cu 或 Ni 浓度的增大, 抑制程度也增大(图 1)。在 Cu 或 Ni 最高浓度($3\,200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)时, 与对照相比, 玉米出苗率降低了 50% 以上, 叶子失绿、植株矮小、茎和叶瘦小, 籽粒产量减少了 70% 以上。以第一茬玉米的结果为例, 在 Cu、Ni 的最高浓度($3\,200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)时, 与对照相比, 对可见叶数、出苗率、株高、叶面积以及籽粒和秸秆干重的抑制率, Cu 分别达 45.5%、49.4%、74.5%、85.4%、70.2% 和 60%; 而 Ni 分别达 62.6%、60%、68.5%、92.3%、90.7% 和 73%。其中 Cu 和 Ni 对叶面积的抑制率最大, 其次为株高、籽粒和秸秆的干重, 出苗率和可见叶数接近。通过 Cu 和 Ni 对各项指标的抑制程度可以看出, 在相同的添加水平下, Ni 对第一茬玉米

的毒性比 Cu 大。

2.2 不同评价指标对 Cu 和 Ni 毒性的敏感性比较

用对数模型对图 1 中的数据进行拟合, 得到的毒性阈值列于表 1 和表 2。结果表明, 毒性阈值受评价指标的影响, 不同评价指标得到的毒性阈值有较大的差别。对 Cu 来说, 对于出苗率、株高、叶面积、可见叶数、籽粒干重和秸秆干重 6 项评价指标, 第一茬玉米 EC_{50} 为 $1\,074 \sim 3\,437 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 不同评价指标 EC_{50} 最大有 3.2 倍的差别; 第二茬玉米为 $1\,174 \sim 4\,290 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 不同评价指标 EC_{50} 最大有 3.7 倍的差别。除出苗率外, 两茬玉米 EC_{10} 有 5 项评价指标的 95% 的置信区间重合, 无显著性差异。 EC_{50} 也有 3 项指标未达到 5% 的显著性水平。对 Ni 来说, 不同评价指标第一茬和第二茬 EC_{50} 分别在 $1\,217 \sim 2\,381$ 和 $1\,495 \sim 4\,625 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,



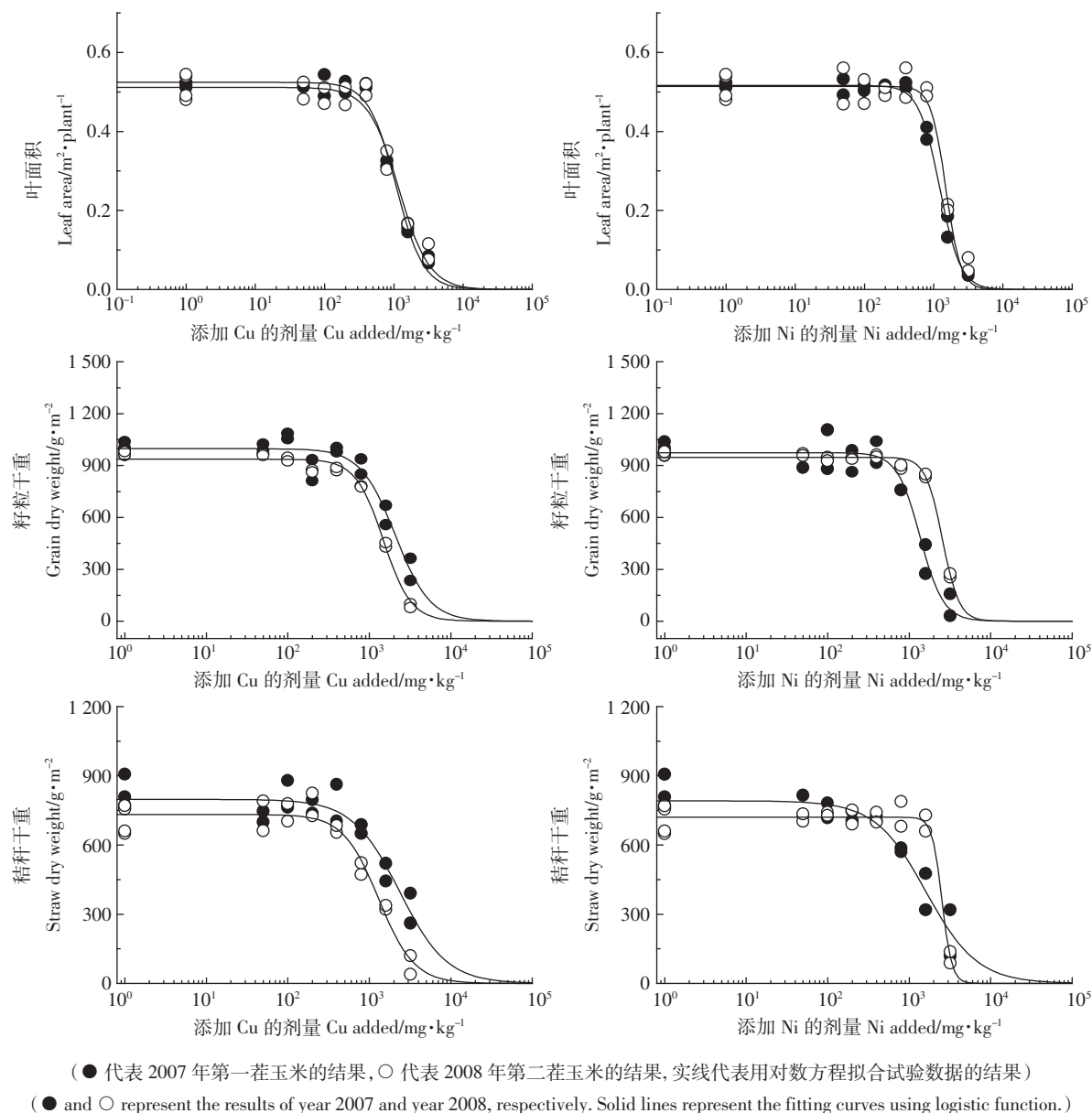
图 1 外源 CuCl_2 和 NiCl_2 在田间试验条件下对玉米生长各项指标的剂量-效应曲线

Figure 1 The dose-response curves of added Cu and Ni for maize growth

第一茬和第二茬分别有 1.9 倍和 3 倍的差别。与第一茬玉米相比,第二茬玉米 Ni 的 EC_{10} 和 EC_{50} 都有所增大。6 项评价指标中,两茬玉米 Ni 的 EC_{50} 差异都达到 5% 的显著性水平, EC_{10} 也有 3 项指标达到 5% 的显著性水平。

EC_{50} 相对于 EC_{10} 有较窄的置信区间, 能较精确地反映毒性阈值, 故把 EC_{50} 作为比较各项评价指标对 Cu 和 Ni 毒性敏感性的基准。对 Cu 来说, 在出苗率、株高、叶面积和可见叶数 4 项评价指标中, 叶面积 EC_{50} 最小, 第一茬玉米 EC_{50} 为 $1\,074\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 其次株高 EC_{50} 为 $1\,559\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 出苗率 EC_{50} 为 $2\,837\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;

总叶数相对其他评价指标, EC_{50} 最大 ($3\,437\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 但和出苗率相比差异不显著。因此可以看出, 上述评价指标对 Cu 毒害的敏感性差异较大, 敏感性顺序为: 叶面积 > 株高 > 出苗率、可见叶数。第二茬玉米的结果也反映了上述敏感性顺序。用籽粒和秸秆干重作为 Cu 毒害的评价指标, 两茬玉米的结果表明两者敏感性不存在显著差异。对 Ni 来说, 综合两茬玉米的结果 (表 2), 叶面积的 EC_{50} 最小, 是最敏感的评价指标; 籽粒干重, 秸秆干重和株高的 EC_{50} 基本没有显著性差异, 敏感性接近; 而出苗率 EC_{50} 最大, 但与可见叶数 EC_{50} 没有显著性差异。因此对 Ni 毒害各项评价指标

表 1 玉米生长 Cu 害的毒性阈值,括号内的预测区间为毒性阈值 $\pm 95\%$ 的置信区间Table 1 Toxicity thresholds for Cu added to soil (EC_{10} and EC_{50} in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) derived from the field trials.The ranges given in parentheses are $\pm 95\%$ confidence intervals

评价指标	2007 年		2008 年	
	EC_{10}	EC_{50}	EC_{10}	EC_{50}
出苗率	459(319~660)	2 837(2 401~3 352)	1 032(857~1 242)	4 159(3 734~4 632)
株高	530(369~762)	1 559(1 316~1 847)	441(338~574)	1 939(1 729~2 175)
叶面积	395(313~500)	1 074(960~1 201)	384(269~548)	1 174(1 000~1 379)
可见叶数	590(366~952)	3 437 (2 716~4 349)	877(447~1 721)	4 290(2 907~6 330)
籽粒烘干重	711(472~1 070)	2 074(1 757~2 448)	631(517~769)	1 486(1 376~1 605)
秸秆烘干重	542(287~1 023)	2 345(1 798~3 059)	435(288~657)	1 303(1 076~1 577)

注:如果两个数值的 95%的置信区间不重合,说明这两个数值之间的差别达到了显著性差异 ($P<0.05$)。下同。

表 2 玉米生长 Ni 害的毒性阈值,括号内的预测区间为毒性阈值 $\pm 95\%$ 的置信区间Table 2 Toxicity thresholds for Ni added to soil (EC_{10} and EC_{50} in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) derived from the field trials.The ranges given in parentheses are $\pm 95\%$ confidence intervals

评价指标	2007 年		2008 年	
	EC_{10}	EC_{50}	EC_{10}	EC_{50}
出苗率	650(437~966)	2 381(2 008~2 824)	1 342(1 121~1 606)	4 625(4 075~5 249)
株高	627(433~909)	1 883(1 575~2 252)	1 042(817~1 329)	2 844(2 544~3 178)
叶面积	571(470~656)	1 217(1 141~1 299)	867(643~1 169)	1 495(1 348~1 657)
可见叶数	615(433~873)	2 096(1 779~2 469)	1 459(818~2 605)	4 290(2 884~6 369)
籽粒烘干重	666(472~941)	1 366(1 178~1 584)	1 529(1 381~1 692)	2 564(2 456~2 676)
秸秆烘干重	372(180~768)	1 685(1 298~2 187)	1 861(1 395~2 482)	2 528(2 198~2 908)

敏感性大小为:叶面积>籽粒干重、秸秆干重、株高>可见叶数、出苗率。

3 讨论

据很多文献报道,过量的 Cu 和 Ni 对植物产生毒害,阻碍植物的生长,扰乱光合作用,降低生物产量等^[23-26]。Baccouch 等^[23]指出 Ni 毒导致玉米生物量减少,叶子萎黄,甚至枯死。Xu 等^[26]报道随着土壤中 Cu 浓度的增大,水稻产量呈指数下降。由于植物根部与污染土壤直接接触,金属毒害的首要部位是植物根部。Leep^[27]发现高浓度 Cu 会导致根冠细胞分裂受抑制,从而导致根生长停止;Seregin 等^[28]指出,与其他重金属相比,阻止侧根的生长是 Ni 毒的典型特征。由于根系是植物吸收水分和营养元素的主要位点,根损害直接影响植物生长和发育,导致叶面积变小,蒸腾作用下降。

本研究中,当 Cu 或 Ni 的添加浓度 $\geq 400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,随着添加浓度增大,叶面积减小最为明显,所以叶面积是判别 Cu、Ni 玉米毒害的最敏感指标,这与文献报道的结果是一致的^[28-29]。同时还发现在 Cu、Ni

的添加量高于 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,不仅叶片面积显著减小,叶子也逐渐变黄。这主要是由于 Cu 和 Ni 的毒害还扰乱光合作用,抑制叶绿素合成或破坏叶绿素,导致叶子失绿。Filotheou 等^[29]也发现,受 Cu 毒害的牛至(Oregano)叶肉细胞中的叶绿体的数量及体积显著下降。王友保和刘登义^[31]研究发现小麦叶片中叶绿素含量与 Cu 含量显著相关,认为可能是由于植物体内过量的 Cu 使得叶绿体酶活性比例失调,叶绿素分解加快,同时 Cu 局部积累过多,与叶绿体中蛋白质上的巯基结合,或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} ,使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而导致失活。叶片是植物光合作用和蒸腾作用的主要器官,叶面积减小和光合作用减弱,直接导致植物生长的能量供给减少,从而导致植株矮小,作物减产等症状。

本研究中观察到在相同的添加水平下,与 Cu 相比,Ni 对第一茬玉米表现了更强的毒害,这可能有以下两个方面的原因:第一,Cu 和 Ni 理化性质的差异导致土壤中 Cu 和 Ni 的生物可利用性不同。在碱性土壤上,添加的 CuCl_2 和 NiCl_2 大部分分别以沉淀 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{CO}_3$ 、 $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 和 NiCO_3 、 $\text{Ni}(\text{OH})_2$ 的形式滞留

在土壤中,还有一部分被土壤吸附固定。由于 NiCO_3 和 Ni(OH)_2 溶解度远大于相应的 $\text{Cu(OH)}_2\text{CO}_3$ 和 Cu(OH)_2 溶液度,而且土壤对 Cu 的吸附固定能力比 Ni 强^[32],因此在 Cu 和 Ni 相同的添加水平下,土壤溶液中生物可利用性 Cu 的浓度要小于 Ni 的浓度。第二,玉米对 Cu 和 Ni 吸收转运能力不同。植物从土壤中摄取过量的 Cu 大部分积累在根部,仅有一少部分向地上部输送^[33],而与 Cu 相比, Ni 更容易传输到地上部的叶子中^[34],对叶绿素含量影响更大,从而表现了更强的毒性。

Cu 对两茬玉米毒害差异不显著,而 Ni 对第二茬玉米的 EC_{10} 和 EC_{50} 都显著增大,说明 Ni 在石灰性土壤中的老化效应明显。Ma 等^[35-36]研究结果表明,土壤 pH 是影响添加到土壤中 Cu 老化快慢的最重要的因素。Daoust 等^[37]的研究结果也表明,对于 pH 为 7.5 的有机质土壤, Cu 的毒性随时间而降低,但对于有机质含量低的土壤, Cu 的毒性随时间变化不大。本研究中 Cu 对两茬玉米毒害差异不显著,这可能是由于土壤的 pH 为 8.9,属于碱性有机质含量低的土壤,当 Cu 添加到土壤后,大部分以 $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ 和 Cu(OH)_2 的形式在土壤上沉淀,还有部分 Cu 以吸附的形式滞留在土壤中。因此当 Cu 添加到土壤后,起初发生快速老化,随后老化速度非常缓慢。李波等^[20]通过实验室内在此类土壤上西红柿的生长试验发现,淋洗对西红柿 Cu 毒害的毒性阈值没有显著影响,并通过测定淋洗和不淋洗土壤中 Cu 的总量,发现淋洗对 Cu 的总量影响不大。因此玉米生长期间因雨水淋洗而损失掉的铜并不多,这也可能是土壤中的 Cu 对两茬玉米毒害差异不明显的另一个原因。与 Cu 不同,土壤中的 Ni 对第二茬玉米的毒性明显降低。Oorts 等^[38]的研究结果也表明,淋洗和老化都能显著降低 Ni 的毒害。Ni 的溶解性随老化而降低,与其他金属相比,老化对土壤中 Ni 的溶解性影响较大^[39-40]。因此 Ni 的溶解性降低以及因雨水淋洗而损失掉大量的 Ni 是观察到土壤中的 Ni 对两茬玉米毒害存在显著差异可能的原因。

在出苗率、株高、叶面积、可见叶数、籽粒干重和秸秆干重 6 项评价指标中,叶面积是 Cu 和 Ni 毒害最敏感的指标,而出苗率是不敏感的指标,这与文献的报道是一致的^[41]。因此当用出苗率作为金属毒性的评价指标时,土壤中 Cu 和 Ni 的毒性可能被低估。苗期株高是一个较为敏感的指标,由株高得到的毒性阈值与籽粒干重和秸秆干重得到的毒性阈值接近,说明苗期的试验结果也可以用于成熟期是否减产的判断依据,能在很大程度上缩短风险评价的时间,因此本研

究的结果具有很重要的实际意义。

参考文献:

- [1] 马海燕,倪吾钟,龙新宪,等. 杭州市郊菜园土壤锌、铜、铅污染状况的调查[J]. 环境与健康杂志, 2000, 17(3): 165-166.
MA Hai-yan, NI Wu-zhong, LONG Xin-xian, et al. Investigation on the vegetable farm soils polluted by zinc, copper and lead in suburb of Hangzhou[J]. *Journal of Environment and Health*, 2000, 17(3): 165-166.
- [2] 单正军,王连生,蔡道基,等. 果园土壤铜污染状况及其对作物生长的影响[J]. 农业环境保护, 2002, 21(2): 119-121.
SHAN Zheng-jun, WANG Lian-sheng, CAI Dao-ji, et al. Pollution of copper in orchard soil and its effects on plant growth[J]. *Agro-Environment Protection*, 2002, 21(2): 119-121.
- [3] Loland J Ø, Singh B R. Copper contamination of soil and vegetation in coffee orchards after long-term use of Cu fungicides[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2004, 69(3): 203-211.
- [4] Pietrzak U, McPhail D C. Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia[J]. *Geoderma*, 2004, 122(2-4): 151-166.
- [5] 石 龙,张 娟,胡梦林. 某镍矿冶炼厂环境污染现状的调查及评价[J]. 白求恩医科大学学报, 1992, 18(2): 200-202.
SHI Long, ZHANG Juan, HU Meng-lin. A survey and evaluation of the present situation of environmental nickel in a nickel smeltery[J]. *Journal of Norman Bethune University of Medical Science*, 1992, 18(2): 200-202.
- [6] 廖晓勇,陈同斌,武 斌,等. 典型矿业城市的土壤重金属分布特征与复合污染评价——以“镍都”金昌市为例[J]. 地理研究, 2006, 25(5): 843-852.
LIAO Xiao-yong, CHEN Tong-bin, WU Bin, et al. Mining urban soil pollution: concentrations and patterns of heavy metals in the soils of Jinchang, China[J]. *Geographical Research*, 2006, 25(5): 843-852.
- [7] ISO 11269-1. 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[S]. 1993.
- [8] ISO 11269-2 (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]. 2005.
- [9] OECD. (Organization for Economic Cooperation and Development). Guideline for the testing of chemicals: terrestrial plant test 208: seedling emergence and seedling growth test (draft document)[S]. Paris, France. 2003.
- [10] USEPA. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850. 4230. Early Seedling Growth Toxicity Test[S]. EPA 712-C-96-347. 1996.
- [11] USEPA. Greene J C, Bartels G L, Warren Hicks W J. Protocols for short-term toxicity screening of hazardous waste sites. EPA/600/3-88/029. 1998.
- [12] 周启星,王美娥. 土壤生态毒理学研究进展与展望[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(1): 1-11.
ZHOU Qi-xing, WANG Mei-e. Researching advancement and prospect of soil ecotoxicology[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 1-11.

- [13] Rooney C P, Zhao F J, McGrath S P. Phytotoxicity of nickel in a range of European soils: influence of soil properties, Ni solubility and speciation[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 145(2): 596–605.
- [14] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 重金属对土壤中小麦种子发芽与根伸长抑制的生态毒性[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 459–462.
SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, XU Hua-xia, et al. Eco-toxicity of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of wheat in soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4): 459–462.
- [15] 纳明亮, 徐明岗, 张建新, 等. 我国典型土壤上重金属污染对番茄根伸长的抑制毒性效应[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(1): 81–86.
NA Ming-liang, XU Ming-gang, ZHANG Jian-xin, et al. Inhibition effects of Cu, Zn and Pb on root elongation of tomato in three typical contaminated soils of China[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(1): 81–86.
- [16] Rooney C, Zhao F J, McGrath S P. Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(3): 726–732.
- [17] Kapustka L A, Eskew D, Yocum J M. Plant toxicity testing to derive ecological soil screening levels for cobalt and nickel[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(3): 865–874.
- [18] Rayment G E, Higginson F R. Ion-exchange properties. In Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods[M]. Inkata, Melbourne, VIC, Australia, 1992: 137–194.
- [19] Pleyrier J L, Juo A S R. A single-extraction method using silver-thiourea for measuring exchangeable cations and effective CEC in soils with variable charges[J]. *Soil Science*, 1980, 129: 205–211.
- [20] 李波, 马义兵, 刘继芳, 等. 西红柿铜毒害的土壤主控因子和预测模型研究[J]. *土壤学报*, 待刊.
LI Bo, MA Yi-bing, LIU Ji-fang, et al. Major soil factors controlling copper toxicity to tomato in a wide range of Chinese soils and the predictable models[J]. *Acta Pedologica Sinica*, in press.
- [21] 冯冬霞, 施生锦. 叶面积测定方法的研究效果初报[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(6): 150–155.
FENG Dong-xia, SHI Sheng-jin. Research on night measurement methods of leaf area[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(6): 150–155.
- [22] 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.
- [23] Baccouch S, Chaoui A, El Ferjani E. Nickel toxicity: effects on growth and metabolism of maize[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, 21(3): 577–588.
- [24] Ouzounidou G, Mousbakas M, Karataglis S. Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress: growth, mineral content and ultrastructure of roots[J]. *Environmental Experimental Botany*, 1995, 35(2): 167–176.
- [25] Ewais E A. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds[J]. *Biology Plant*, 1997, 39(3): 403–410.
- [26] Xu J K, Yang L X, Wang Z Q, et al. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2006, 62(4): 602–607.
- [27] Leep N W. Copper. Effect of heavy metal pollution on plants. Vol I: Effects of trace metal on plant function[M]. London and New Jersey: Applied Science Publishers, 1981: 111–143.
- [28] Seregin I V, Kozhevnikova A D, Kazyumina E M, et al. Nickel toxicity and distribution in maize roots[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2003, 50(5): 711–717.
- [29] Filotheou H P, Bosabalidis A M, Karataglis S. Effects of copper toxicity on leaves of Oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) [J]. *Annals of Botany*, 2001, 88(2): 207–214.
- [30] Vassilev A, Lidon F, Ramalho J C, et al. Effect of excess Cu on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance[J]. *Journal of Central European Agriculture*, 2003, 4(3): 225–235.
- [31] 王友保, 刘登义. Cu, As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J]. *应用生态学报*, 12(5): 773–776.
WANG Y B, LIU D Y. Effect of Cu, As and their combination pollution on eco-physiological index of wheat [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5): 773–776.
- [32] McBride M B. Reactions controlling heavy metal solubility in soils[J]. *Advances in Soil Science*, 1989, 10: 1–56.
- [33] An Y J. Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay[J]. *Chemosphere*, 2006, 62(8): 1359–1365.
- [34] Page V, Weisskopf L, Feller U. Heavy metals in white lupin: uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant[J]. *New Phytologist*, 2006, 171(2): 329–341.
- [35] Ma Y B, Lombi E, Oliver I W, et al. Long-term aging of copper added to soils[J]. *Environmental Science Technology*, 2006, 40(20): 6310–6317.
- [36] Ma Y B, Lombi E, Oliver I W, et al. Short-term natural attenuation of copper in soils: effects of time, temperature, and soil characteristics[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(3): 652–658.
- [37] Daoust C M, Bastien C, Deschênes L. Influence of soil properties and aging on the toxicity of copper on compost worm and barley[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2006, 35(2): 558–567.
- [38] Oorts K, Ghesquiere U, Smolders E. Leaching and aging decrease nickel toxicity to soil microbial processes in soils freshly spiked with nickel chloride[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, 26(6): 1130–1138.
- [39] Barrow N J. Effects of time and temperature on the sorption of cadmium, zinc, cobalt, and nickel by a soil[J]. *Australia Journal of Soil Research*, 1998, 36: 941–950.
- [40] Brummer G W, Gerth J, Tiller K G. Reaction-kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite. 1. Adsorption and diffusion of metals[J]. *Journal of Soil Science*, 1988, 39: 37–52.
- [41] Ali N A, Ater M, Sunahara G I, et al. Phytotoxicity and bioaccumulation of copper and chromium using barley (*Hordeum vulgare* L.) in spiked artificial and natural forest soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 57(3): 363–374.