替代黑麦幼苗测定土壤中重金属生物有效性的研究

孟昭福, 张增强, 薛澄泽, 唐新保

(西北农林科技大学西农校区生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 采用室内培养实验方法, 对用于土壤中重金属生物有效性测定的黑麦的替代植物进行了研究, 结果表明, 小麦由于结果和黑麦比较接近, 而且种子易于得到, 因此是黑麦的较佳替代植物。经试验小麦幼苗的生长期为 14 d。

关键词: 重金属生物有效性; 黑麦幼苗法; 替代植物

中图分类号: S131.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0267(2001)05-0337-04

Determination of Bioavailability of Heavy Metals in Soil by Wheat Young Seedlings in stead of Rye

MENG Zhao-fu, ZHANG Zeng-qiang, XUE Cheng-ze, TANG Xin-bao

(Northwest Science - Technology University of Agriculture and Forest, Shanxi Yangling, 712100 China)

Abstract: It has been recognized that determination of heavy metal bioavailability (HMB) in soil is of academically importance. The rye seedling method has more advantages in determination of HMB compared with other procedures at present. The present study using wheat seedling rather than rye was done, because utilization of rye as test material has been recognized as some limitation. The results showed that wheat seedling was an ideal substituted plant of rye, as the plant exhibited an absorbing ability on 5 heavy metals similar to rye, and the seed was easier to be gained than others; and the growth period was as long as 14 days.

Keywords: heavy metal bioavailability; rye seedling methoda; substituted plant

由于土壤中重金属以多种形态存在, 只有生物有效态的重金属才能进入植物体内, 以重金属的生物有效性指标能更好地表征土壤中重金属向植物体内的转移趋势, 因此快速、准确测定土壤中重金属的生物有效性是十分必要的。

有效态重金属占重金属总量的百分率称之为重金属的生物有效性。重金属生物有效性的测定目前主要采用培养试验法和化学浸提法。培养试验法周期长, 受环境因素影响多(如降水、光照、温度、病虫害等), 控制较难, 费时费力且费钱, 应用受到一定限制。化学浸提法简单, 但是它必须经植物培养试验加以统计检验, 证明其有良好的相关性以后才可以应用。

1923年 Neubauer 和 Schneider 提出的黑麦幼苗法(又称 Neubauer 法), 是一种植物短期密集吸收的方法。它使用了密集种植技术, 以大量的高等植物幼苗(100株)在控制温度、水分、光照等条件下生长在少量土壤(100g)(种子数目: 土壤克数 = 1:1)及纯净

石英砂的混合物中, 由于黑麦幼苗根系十分发达, 根与土壤充分接触, 在短时间(2周)内耗尽了土壤中各元素的有效成分, 所以可测定土壤中元素的生物有效性。用它来测定元素在植物不同部位的含量, 有助于了解元素在各部位的累积情况。该法在农业化学中曾广泛用于测定土壤中有效 P、K 的情况。薛澄泽(1995)将黑麦幼苗法应用于环境化学领域测定污染元素的生物有效性, Petruzzeli(1987)也曾利用小麦幼苗法对粉煤灰中重金属的生物有效性进行了测定。

由于黑麦种子在我国较难得到, 在环境化学研究中是否可以采用其它植物来代替黑麦, 以及替代植物与黑麦在测定重金属生物有效性方面是否有差异还未见系统研究。寻找一种易于得到的植物幼苗代替黑麦进行重金属生物有效性的测定, 一方面保留了幼苗法快速、准确的优点, 又有利于幼苗法作为一种标准方法得到推广。

本文的目的在于寻找一种可以用来代替黑麦幼苗的植物进行重金属生物有效性的测定。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收稿日期: 2000-10-10

作者简介: 孟昭福(1968—), 男, 西北农林科技大学讲师, 硕士, 主要从事土壤环境保护方面的研究工作。

植物种子 黑麦 (*Secale cereale* L.), 品种为法国黑麦; 小麦 (*Triticum aestivum* L.), 品种为小偃 22 号; 大麦 (*Hordeum vulgare* L.), 品种为变色大麦; 燕麦 (*Avena fatua* L.), 品种为青海野燕麦; 油菜 (*Brassica campestris* L.), 品种为甘油 5 号; 谷子 (*Setaria italica* (L.) Beauv.); 绿豆 (*Phaseolus radiatus* L.); 玉米

(*Zea mays* L.), 品种为陕资 1 号。以上种子除谷子来自于陕西省农科分院, 绿豆和玉米为市售外, 其余来自于西北农业大学农学系标本区。

污灌#土, 采自西安红旗机械厂北污灌区, 深度 0—20 cm, 风干, 过 1 mm 尼龙筛, 理化性质见表 1。

石英砂为市售产品, 粒径 100 目。先以 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

表 1 污灌#土理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of soils undergoing wastewater irrigation

pH	OM /%	速效 N /mg · kg ⁻¹	速效 P /mg · kg ⁻¹	速效 K /mg · kg ⁻¹	CaCO ₃ /%	CEC	EC /μS · cm ⁻¹	Cd /μg · kg ⁻¹	Pb /mg · kg ⁻¹	Cu /mg · kg ⁻¹	Zn /mg · kg ⁻¹	Ni /mg · kg ⁻¹
8.73	2.10	64.5	20.3	92.7	6.86	17.9	210	858	54.8	61.9	75.0	42.6

注: 1. 土壤理化性质均采用常规分析方法; 2. 重金属 Cd、Cu、Pb、Zn、Ni 以王水 - HClO₄ 法消解, 火焰或石墨炉原子吸收法测定, 分析过程采取了质量控制措施。3. CEC 的单位: mmol · 100g⁻¹ 土。

HCl 浸泡 24 h, 中间搅动数次, 然后以自来水洗至 pH = 7, 再以去离子水洗至无 Cl⁻ 反应, 105 °C 烘干, 备用。

试验器皿, 选用 φ11.5 cm × 7 cm 塑料盆用作试验器皿。使用前以洗涤剂清洗内外壁, 用自来水冲净, 在 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 中浸泡 24 h 以去除可能存在的杂质, 然后用自来水冲净, 再以去离子水冲洗 5 遍, 晾干, 备用。

另外准备 6 mm × 65 mm 玻璃管作加水之用。玻璃管用 5% Na₂CO₃ 洗净, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 浸泡 24 h, 依次用自来水、去离子水冲净, 烘干, 备用。

1.2 操作步骤

将植物种子用 0.1% HgCl₂ 溶液表面消毒, 用去离子水洗净并以去离子水浸泡 2—3 h, 然后移入垫有五层湿润白纱布的白磁盘中, 于 (20 ± 2) °C 恒温培养箱催芽 12—18 h。

称取土壤 100 g 与 50 g 石英砂充分混合均匀, 平铺于试验器皿中, 中间插入玻璃管作加水用, 将表面弄平, 再称取 50 g 石英砂均匀铺在其上。用滴定管通过中间玻璃管加入 50.0 mL 去离子水。用镊子选取大小均匀一致且均出芽 (露白) 的种子 (麦类及谷子、油菜均为 100 粒 · 盆⁻¹, 绿豆为 50 粒 · 盆⁻¹, 玉米 40 粒 · 盆⁻¹), 均匀点在盆中砂面上, 然后在其上均匀铺入适量石英砂, (绿豆、麦类上铺 200 g 石英砂, 玉米铺 250 g 石英砂, 油菜、谷子上铺 150 g 石英砂)。弄平, 再用滴定管补入 30 mL 去离子水。称重并记录, 然后用洁净玻璃板 (12 cm × 12 cm) 盖在盆上, 盆缘用火柴棒垫起以利通气。没有土壤的对照盆装法同上, 仅首先在盆底倒入 200 g 石英砂。试验设 4 次重复。将盆置于培养小室内, 调节温度为 (20 ± 2) °C, 用日光灯 + 白炽灯 (光照度为 4 000 lx) 照射, 控制光照时间, 小室应

封闭以防外界光照入。每天通过称重用滴定管经玻璃管加去离子水补充损失的水分。在试验后期每天加水两次。盆的位置每天倒换, 使受光均匀。

播种 14 d 后, 将器皿内幼苗带着泥沙一起移于 1 mm 孔径尼龙筛上, 手持幼苗, 用自来水冲去根部的泥沙, 将全苗用去离子水洗净, 然后用剪刀在种子附近直接剪断。幼苗及根系在 60 °C 分别烘干, 称重。

植物样品采取干灰化法消解, Cd、Pb、Cu、Zn、Ni 测定采用日立 180 型原子吸收分光光度计测定, 其中 Cd、Pb 采用石墨炉法, Cu、Zn、Ni 采用火焰法, Zeeman 效应校正背景吸收。分析过程中采取插入标准的方法进行了分析质量控制。

1.3 试验设计

下述试验各处理均设 4 个重复。

1.3.1 幼苗初步筛选试验

根据 8 种植物生长情况、生物量、株高、根系穿透土壤情况对植物进行初步筛选。试验设污灌#土 100 g 和石英砂空白两个处理。

1.3.2 污灌区土壤重金属吸收总量测定 (幼苗筛选)

设污灌#土 100 g 处理, 植物种类依 1.3.1 结论, 测定 Cd、Pb、Cu、Zn、Ni 吸收量, 同时作石英砂空白试验。

1.3.3 吸收时间试验

试验设吸收时间 10、14、20、25 d 4 个处理。植物种类依 1.3.2 结论, 土壤处理同 1.3.1, 测定 Cd、Pb、Cu、Zn、Ni 吸收量。

2 结果与讨论

2.1 幼苗的初步筛选

试验结果见表 2。

可以看出, 在 14 d 期间, 谷子、油菜生长缓慢, 株

表2 植物幼苗生长情况

Table 2 Growth of the plant young seedlings

植物	株高/cm		干重/g					
	空白	土壤	空白			土壤		
			根	茎	全苗	根	茎	全苗
黑麦	21	25	1.32	1.22	2.54	1.82	1.57	3.39
小麦	14	22	1.38	0.82	2.20	2.87	1.87	4.74
大麦	17	20	1.68	1.11	2.79	1.89	1.88	3.77
燕麦	17	24	2.18	1.42	3.60	2.26	2.13	4.39
绿豆	10	16	0.16	1.01	1.17	0.37	1.48	1.85
玉米	7	19	5.00	0.95	5.95	4.58	2.07	6.66
谷子	4	6	-	-	0.21	-	-	0.32
油菜	2.5	8	-	-	0.24	-	-	0.30

注: 1. 根干重包括种子残余。2. 玉米种子空白及土壤处理 14 d 内营养未耗完, 外观尚饱满。3. 燕麦、大麦根干重包括麦壳干重。

高、干重明显低于其它作物, 这是由于这两种植物种子较小, 可供幼苗初期生长的营养较少的缘故。绿豆根部生物量较低, 但全苗生物量尚可。玉米的生物量较大, 但在两个处理中, 玉米种子的营养均未耗尽, 籽粒尚饱满。4 种麦类从地上部、根部的生物量来看均为 1 g 左右, 而且种子营养已基本耗尽, 因此由作物生长及生物量情况来看, 以 4 种麦类为最佳。

表3 污灌区土壤中植物各部位对重金属的吸收

Table 3 Absorption of different parts of the plant on heavy metals in soils of sewage irrigation

处理	根					茎					全苗				
	Cd	Pb	Cu*	Zn**	Ni	Cd	Pb	Cu	Zn**	Ni	Cd**	Pb	Cu*	Zn**	Ni
燕麦	417 ^a	350 ^a	19.2 ^b _B	68.8 ^b _B	6.3 ^a	428 ^{ab} _A	257 ^a	15.4 ^a	64.7 ^a _A	3.1 ^a	846 ^a _A	607 ^a	34.6 ^b _B	133.0 ^a _A	9.4 ^a
黑麦	407 ^a	759 ^a	37.9 ^a _A	87.9 ^a _A	10.7 ^a	451 ^a _A	333 ^a	14.0 ^a	47.3 ^b _B	1.7 ^a	859 ^a _A	1 093 ^a	52.1 ^a _A	135.0 ^a _A	12.4 ^a
大麦	403 ^a	395 ^a	22.0 ^b _B	58.7 ^b _B	10.8 ^a	413 ^b _A	697 ^a	12.6 ^a	40.9 ^b _B	2.0 ^a	816 ^a _A	1 092 ^a	34.7 ^b _B	99.7 ^b _B	12.8 ^a
小麦	385 ^a	740 ^a	23.2 ^b _{AB}	56.2 ^b _B	6.3 ^a	434 ^{ab} _A	569 ^a	17.9 ^a	39.3 ^b _B	1.8 ^a	819 ^a _A	1 309 ^a	41.2 ^b _{AB}	95.5 ^b _B	8.2 ^a

注: 数据后缀的小、大写字母不同者, 分别表示在 5%、1% 水平上具有显著性差异, 下表同。Cu、Zn、Ni 单位为 μg ; Cd、Pb 单位为 ng , 表 4 同。

茎、根、全苗在 4 种植物之间均无差异。Cu 的吸收差异主要在黑麦中, 黑麦对于 Cu 的吸收能力在根、全苗中要强于其它 3 种麦类。Zn 的情况则较为复杂, 但可以看出, 燕麦、黑麦在茎、根中 Zn 含量顺序刚好相反, 而在全苗则无显著性差异, 说明二者对 Zn 的吸收能力相似, 而差别则在于 Zn 在地上部、根部分配不同。大麦、小麦在污灌#土中对 Zn 的吸收行为相似。可以看出, ① 不同植物、同一植物的不同部位对于不同重金属表现出了不同的吸收特点, 这与前人结果相同^[2,4,9]。② 黑麦对于 5 种重金属的吸收根、全苗均属于高吸收的植物, 证明了黑麦幼苗确实属于测量重金属生物有效性较佳植物, 从根系穿透土壤情况来看, 可以看出这与黑麦根系密度要优于其它 3 种麦类有关, 因而验证了 Neubauer 方法原理的正确性。③ 燕麦、大麦、小麦之间除了在 Zn 的吸收上略有差异外,

由作物根系对土壤穿透情况观察结果表明, 谷子、油菜由于生长缓慢, 根部短且稀疏, 不能在土壤中充分穿透; 绿豆属于主根系植物, 其根部分支少且短, 与土壤接触不充分; 玉米的根系较发达, 而且较粗, 在土壤中穿插盘结成盘状, 但根间空隙较大, 明显地与土壤接触并不充分。4 种麦类的根系均为发达的须根系, 根部分支多且细微, 在土壤中绵密地交织成网状, 与土壤能充分接触。

幼苗的选择要综合考虑幼苗生长速度、生物量及根系发达情况。从以上分析可以看出, 黑麦等 4 种麦类适于作生物有效性分析的试材。

2.2 4 种植物在污灌区土壤上对重金属的吸收(幼苗筛选)

以黑麦幼苗作为标准, 利用小麦、燕麦、大麦在污灌区土壤中吸收重金属的量与黑麦幼苗比较进行综合筛选, 找出一种适合于作幼苗试验的植物, 并用以代替黑麦进行土壤中重金属的生物有效性测定。4 种植物幼苗在污灌#土所吸收重金属总量见表 3。

污灌#土中重金属的吸收情况的多元及一元方差分析结果表明, 4 种麦类对 Cd、Pb、Ni 吸收, 无论其

对其余 4 种重金属的吸收均无差异。在 Zn 的吸收上, 茎、根、全苗吸收的 Zn 的总量, 燕麦略高小麦、大麦, 但 3 种植物测定结果与黑麦较为接近。由于小麦在污灌#土中与黑麦较为接近, 再加上小麦种子易于得到, 因此选择小麦作为黑麦的替代植物。

前人在植物营养元素有效性测定方面对黑麦幼苗法进行研究时, 也认为不同植物具有不同的吸收土壤营养元素的能力^[6,7], 但同时也认为作物幼苗根系发达, 对土壤充分穿透是定量测量的依据^[7,10]。因此依据在污灌区土壤中小麦的吸收行为, 选择小麦作为替代黑麦的植物幼苗是合理的。Petruzelli^[8]利用小麦幼苗对粉煤灰中 Cd、Pb、Cu、Zn、Ni、Cr 进行有效性测定就是对这一结论的支持。

2.3 吸收时间影响

2.3.1 吸收时间空白试验

结果见表4。多元及一元方差分析表明,在10—25 d生长期中,Cd、Pb、Cu在茎、根、全苗中,Zn在全苗中总量可以近似认为不随时间变化而变化,但在10—20 d生长期中,存在着Zn在茎、根之间重新分配

现象。因此,小麦空白可以认为从20 d起体内各部位金属含量均趋于不变,如果仅考虑全苗的话,则10—25 d期间体内重金属含量均为一定。

从上述空白试验结果可以看出,空白处理中小麦

表4 不同生长时间空白处理小麦幼苗中重金属量

Table 4 Contents of heavy metals in wheat young seedlings at various growth stages in control soil

处理	时间/d	茎					根					全苗				
		Cd*	Pb	Cu	Zn**	Ni	Cd*	Pb	Cu*	Zn**	Ni	Cd*	Pb	Cu*	Zn	Ni
空白	10	81.3 ^{ab} _{AB}	597 ^a	5.1 ^a _A	21.3 ^c _C	—	148 ^a _A	1 500 ^b _A	8.4 ^a _{AB}	99.8 ^a _A	—	230 ^a _A	2 100 ^b _A	13.5 ^b _B	121 ^a _A	—
	14	98.8 ^a _A	668 ^a	8.6 ^a _A	27.0 ^b _B	—	116 ^{ab} _A	1 955 ^{ab} _A	7.9 ^a _{AB}	91.4 ^b _B	—	215 ^a _{AB}	2 620 ^{ab} _A	16.4 ^{ab} _A	118 ^a _A	—
	20	83.7 ^{ab} _{AB}	635 ^a	9.5 ^a _A	33.4 ^a _A	—	86.0 ^b _B	2 020 ^{ab} _A	5.6 ^b _B	81.1 ^c _C	—	169 ^b _B	2 650 ^{ab} _A	15.0 ^b _A	115 ^a _A	—
	25	68.7 ^b _B	826 ^a	9.4 ^a _A	36.8 ^a _A	—	135 ^a _A	2 370 ^a _A	9.0 ^a _A	80.6 ^c _C	—	204 ^{ab} _{AB}	3 190 ^a _A	18.3 ^a _A	117 ^a _A	—
			Cd	Pb	Cu**	Zn**	Ni	Cd	Pb	Cu**	Zn**	Ni	Cd	Pb	Cu**	Zn**
土壤	10	373 ^a	284 ^a	11.8 ^b _B	38.3 ^c _C	—	448 ^b _A	338 ^a	21.1 ^a _{AB}	71.8 ^a _A	8.49 ^a	822 ^a	622 ^a	32.9 ^b _B	110 ^b _B	8.49 ^a
	14	404 ^a	258 ^a	11.8 ^b _B	46.1 ^b _B	—	483 ^a _A	296 ^a	18.4 ^b _B	65.7 ^a _{AB}	8.09 ^a	887 ^a	554 ^a	30.2 ^b _B	111 ^b _B	8.09 ^a
	20	390 ^a	241 ^a	12.9 ^b _B	46.7 ^b _B	—	453 ^b _A	309 ^a	17.6 ^b _B	57.7 ^b _B	6.59 ^a	843 ^a	551 ^a	30.6 ^b _B	104 ^b _B	6.59 ^a
	25	380 ^a	211 ^a	16.5 ^a _A	57.9 ^a _A	—	476 ^{ab} _A	341 ^a	22.6 ^a _A	71.8 ^a _A	7.71 ^a	856 ^a	553 ^a	39.1 ^a _A	129 ^a _A	7.71 ^a
			Cd	Pb	Cu**	Zn**	Ni	Cd	Pb	Cu**	Zn**	Ni	Cd	Pb	Cu**	Zn**

注:1.“—”表示未检出;2.土壤处理均已扣除相应时间处理空白。

幼苗中重金属主要来源于种籽中原来含有的。考虑到Zn的重新分配以及实际有效性问题,在以后各项小麦试验中应减去相应时间空白处理小麦相应部位中相应重金属的量。

2.3.2 小麦幼苗在不同时间吸收重金属的总量

结果见表4,由茎、根、全苗三者重金属含量的分析结果可以看出,污灌#土Cd、Pb、Ni3种元素的吸收实际上在10 d左右就已基本完成了,而且茎、根、全苗三者是一致的。Cu、Zn两种元素不同时间处理之间差异较大,对于Cu而言,茎中含量在10—20 d略上升,而根中则略下降,从全苗含量看差异不显著,说明对于Cu的吸收在10 d左右已基本完成,在10—20 d时间内,Cu由根部向地上部转移,但是转移量并不大,差异并不显著,故而可以认为10—20 d时段,Cu在茎、根、全苗中吸收量近于恒定。Zn的变化稍为复杂,但总趋势与Cu类似,不同的是在10—20 d时段内,Zn由根部向地上部输送的量是有显著性差异的。因此,从不同吸收时间小麦幼苗茎、根、全苗的重金属总量变化趋势看,以全苗作为重金属有效性的试材在10—20 d具有较好的结果,而若以茎和根作为生物有效性测定的部位则由于Zn的分配问题应选取一固定时间作为重金属有效性的测定时间点。考虑到与黑麦幼苗可比性,故以茎、根、全苗测定重金属有效性生长时间均选择为14 d。前人对于黑麦幼苗的吸收时间并未见到专门研究的报道,不同作者采用的生长时间是不同的,Neubauer^[7]开始采用的是21 d,后来改为17 d^[5]。后人研究中采用时间不一,有14 d^[3]、18 d^[8]

等。生长时间的选择应在充分耗竭土壤中速效态重金属的前提下,尽可能地缩短时间,以满足快速的要求,本实验通过幼苗体内重金属总量的变化选择14 d作为生长时间,也是基于这样一个考虑。

3 结论

3.1 通过对8种植物幼苗的两次筛选,选择小麦作为黑麦幼苗的替代植物。

3.2 通过对不同生长时间小麦幼苗吸收的重金属总量的研究,选择14 d作为小麦幼苗的生长时间。

参考文献:

- [1]薛澄泽,刘俊华,李宗利,等.用黑麦幼苗法测定土壤中污染元素生物有效性[J].环境化学,1995,14(1):32-37.
- [2]鲁如坤,熊礼明,时正元.关于土壤—作物生态系统中镉的研究[J].土壤,1992,24(3):129-132,137.
- [3]A B 索科洛夫主编.谢建昌,等译.土壤的农业化学研究法[M].北京:科学出版社,1957.479-485.
- [4]夏增禄,穆从如,孟佳奇,等.Cd、Zn、Pb及其相互作用对烟草、小麦的影响[J].生态学报,1984,4(3):231-235.
- [5]周鸣铮.土壤肥力测定与测土施肥[M].北京:农业出版社,1988.
- [6]McGeorge W T. Some modification in the Neubauer method[J]. Soil Sci, 1944,58:389.
- [7]Neubauer H, Schneider W. Die nahrungsaufnahme der keimpflanzen ihre anwendung auf die bestimmung des nahrungsgehaltes des boden. Z Pflanzene, Dung u Boden. AZ, 1923. 329-362.
- [8]Petruzzelli G, Cervelli L, Lubrano S. Heavy metal uptake by wheat seedlings grown in fly ash-amended soils[J]. Water Air and Soil Pollution, 1987,32:389-395.
- [9]Sauerbeck D R, Hein A. Water Air and Soil Pollution, 1991,57-58, 861-871.
- [10]Tisdale S L, et al. Soil fertility and fertilizer[M]. 4th ed, New York Collier Macmillan Publishing Company, 1985. 547.