

Cu、Cd、Pb、Zn、As 复合污染对灯心草的生理毒性效应

孙 健¹, 铁柏清^{1*}, 钱 湛¹, 杨余维¹, 毛晓茜¹, 赵 婷¹, 罗 荣², 青山勋²

(1 湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2 冈山大学资源生物科学研究所, 日本仓敷 710-0046)

摘 要: 通过盆栽试验, 以现行土壤环境质量标准为浓度设置依据并结合实际污染土壤研究了不同处理水平的 Cu、Cd、Pb、Zn、As 5 种重金属复合污染对灯心草生长、叶绿素含量及保护酶系统的影响。实验结果表明: 5 种重金属复合污染对灯心草地上部生长有一定程度的抑制作用, 在土壤环境质量二级标准上限值处灯心草地上部生物量减产 9.15%, <10%, 但地下部生物量减产趋势不明显。复合重金属污染抑制灯心草的光合作用使叶绿素含量减少、叶绿素 a/b 值降低。在接近土壤环境质量标准低浓度设计范围内, 灯心草 3 种保护酶有逐渐被激活的趋势, 表现出一定的协调性共同抵制重金属的毒害。但在高浓度处理水平下, 酶活性遭到抑制。生长在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中的灯心草地上部生物量分别下降 28.23% 和 37.1%, 但 POD、SOD 和 CAT 3 种酶活性均高于对照。通过应用综合生态环境效益法, 以灯心草为指示植物可以将土壤环境质量二级标准上限值设定为土壤中 5 种重金属的临界毒性效应值。

关键词: 灯心草; 复合重金属; 胁迫; 生长; 生理生化指标; 临界毒性效应

中图分类号: Q142; Q945; X171

随着工农业生产活动的高度发展, 重金属污染及环境生态问题已严重关系到经济的持续发展及生物健康。土壤中重金属元素污染已成为影响土壤环境质量的主要因素, 受到土壤学家及环境科学家的普遍关注^[1]。一般情况下, 重金属因其化学性质相似而常常伴生, 表现为多种重金属复合污染土壤的现象。由于这些重金属元素之间的加和、协同、拮抗等效应使重金属污染的评价和监测更加复杂^[2]。常见的复合污染如矿山开采、污泥农用、废水灌溉、污染灰尘沉降等都将加重土壤重金属污染^[3-4]。Cd、Pb、Cu、Zn、As 5 种重金属元素可代表采矿及冶炼厂所排污水和大气的典型污染物, 由其导致大面积的土壤污染给我国农业生产和人们身体健康造成了极大的不利影响。据研究表明: Cu、Cd、Pb、Zn、As 5 种重金属在环境中的行为表现为协同作用^[5]。重金属复合污染的协同作用对环境安全有重大威胁, 也使得利用复合污染研究成果评价化合物潜在毒性及制定某些元素背景值具有重要意义。目前有关复合重金属污染对植物生态毒理效应的研究主要集中于陆生及水生植物, 而对湿地植物的研究还涉及较少。从重金属元素种类来看, 绝大多数也仅限于二三种元素之间的复合作用, 4 种以上重金属复合污染的报道还相对较少^[6]。同时抗性生理学研究发现, 干旱、盐碱、低温、重金属等各种逆境与作物生长发育及其体内抗氧化保护系统等生理生化指标

变化是判断植物对重金属耐抗性大小一个很好的依据^[7]。

灯芯草(*Juncus effuses*) 别名: 野席草、灯草、水灯心, 是席草类、莎草科蒲草属、多年生草本作物, 在我国分布较广。灯心草以其经济、药用价值高而广泛应用于医药和民用工业, 在利用其治理城市污水方面也有相关报道^[8-9]。本文以 Cu、Cd、Pb、Zn、As 5 种重金属作为复合胁迫因子, 以现行土壤环境质量标准为浓度设置依据, 研究 5 种重金属对灯心草生长、叶绿素含量以及抗氧化酶 (SOD、CAT、POD) 系统的影响, 探讨其对灯心草的联合生理毒害机制及该 5 种重金属的土壤临界毒性效应值, 为制定土壤环境容量, 利用灯芯草进行重金属污染土壤的治理、修复和污染区生态系统的重建提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与植物

供试土壤有 3 种: 空白土壤、铅锌尾矿污染土壤和矿毒水污染土壤, 其基本理化性质见表 1。空白土壤采自湖南农业大学教学实习基地, 为红壤性水稻土; 污染土壤均采自湖南省郴州市苏仙区东河流域, 该区域的农业土壤由于长期受上游有色金属矿洗矿废水的污染, 特别是 1985 年特大山洪将东坡 120 万 t 的尾砂

①基金项目: 中日合作丰田基金项目(Toyota Fund D01-B3-010)和湖南农业大学科技创新基金 (040PT02) 资助。

* 通讯作者

作者简介: 孙健 (1980—), 男, 湖南怀化人, 硕士研究生, 主要从事环境污染治理和修复等方面的研究工作。E-mail: sunjian472@163.com

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soils in pot cultivation

供试土壤	pH	有机质 (g/kg)	CEC (cmol/kg)	重金属背景 (mg/kg)				
				Cd	Pb	Cu	Zn	As
空白土壤	5.50	21.26	8.64	0.16	18.35	15.69	2.49	3.29
铅锌尾矿污染土壤	4.47	12.90	14.45	4.10	764.74	95.57	372.75	180.25
矿毒水污染土壤	4.12	11.80	12.78	2.53	147.50	34.00	245.20	87.71

坝冲垮,尾矿砂覆盖于该区域的农田上,造成农田土壤被重金属严重污染,其上生长的粮食作物和其他作物的产量明显下降,并不同程度地存在品质问题^[10]。供试植物为典型的湿生植物:灯心草,野外采集。

1.2 盆栽实验

盆栽实验于湖南农业大学农业环境保护研究所实验基地进行,周边无重金属污染源。供试土壤经自然风干、捣碎、剔除杂物后过 2 mm 筛,同时测定其基本理化性质及重金属含量背景值。于 30 cm × 20 cm 陶瓷盆中装土 5 kg,按预先设置的浓度(表 2)将各重金属分别以 CdCl₂·2.5H₂O、Pb(NO₃)₃、CuCl₂·2H₂O、Zn(NO₃)₂·6H₂O、Na₂HAsO₄·7H₂O 等金属盐形式添加于每盆中,各重金属盐用去离子水完全溶解后借助喷雾器均匀施加。同时按盆栽作物对养分的需求(即 N 200

mg/kg、P₂O₅ 100 mg/kg、K₂O 150 ~ 200 mg/kg),分别加入尿素、磷酸二氢钾和硫酸钾 400、200、300 mg/kg,喷施去离子水充分混匀后平衡 1 周,作为模拟不同浓度的重金属污染土壤。于 2005 年 3 月 2 日从野外采集长势一致的灯心草用蒸馏水洗净根系上粘附的土壤和杂质后分别于每盆中移栽 90 株,并将每株在距土面 5 cm 处剪断,待其重新生长。试验期间定期浇水,保持 70% 的田间持水量。生长 40 天后取植株相同部位茎叶,用蒸馏水洗净、揩干,用于测定各项生理生化指标。待其继续生长至 120 天后收获,沿土表剪取地上部,测量株高并观察记录其分蘖数,同时洗出根系。在 105℃ 下杀青 30 min,70℃ 烘干,称量地上部和地下部干重。所得实验数据均为 3 次测定结果的平均值,数据处理采用 DPS 3.01 中文数据统计软件进行方差分析和多重比较。

表 2 盆栽试验处理元素和水平 (mg/kg)

Table 2 Treatment designing of the pot cultivation

处理水平	Cd	Pb	Cu	Zn	As
CK	0	0	0	0	0
1	0.1	100	33	83	10
2	0.3	300	100	250	30
3	0.9	900	300	750	90
4	1.2	1200	400	1000	120
5	2.53	147.5	34	245.2	87.71
6	4.10	764.74	95.57	372.75	180.25
土壤环境质量	二级≤0.3	≤300	≤100	≤250	水田≤25 旱地≤30
标准 GB15618-95	三级≤1.0	≤500	≤400	≤500	水田≤30 旱地≤40

注:处理水平 1 和处理水平 4 根据土壤环境质量标准按浓度梯度设置;处理水平 2 相当于土壤环境质量二级标准上限值^[13];处理水平 5 为郴州矿毒水污染土壤中重金属含量;处理水平 6 为郴州铅锌尾矿污染土壤中重金属含量。

1.3 各项生理生化指标测定方法

灯心草叶绿素总含量(叶绿素a+叶绿素b)的测定:丙酮和乙醇浸提法^[11],分别在波长 644 nm 和 662 nm 处用分光光度法测定。SOD 酶活性的测定:化学比色法。按照从南京建成生物工程研究所购买的试剂盒的顺序测定(U/(ml·FW))。CAT 酶活性的测定:

分光光度法,按照从南京建成生物工程研究所购买的试剂盒的顺序测定(U/(ml·FW))。POD 酶活性的测定:愈创木酚法^[12](Δ470 nm/(min·g·FW))。试验结果为 3 次结果平均值。数据处理采用 Microsoft Excel 作图和 DPS 3.01 中文数据统计软件进行方差分析、多重比较。

2 结果与分析

2.1 复合重金属胁迫对灯心草生长的影响

2.1.1 复合重金属胁迫对灯心草分蘖的影响 表 3 显示, 在土壤环境质量二级标准上限值浓度范围内, 灯心草分蘖数与 CK 相比无显著差异, 而且处理水平 1

高于 CK, 说明该重金属浓度处理水平对灯心草分蘖数具有一定的促进作用。当土壤中重金属浓度超过土壤环境质量二级标准上限值后, 灯心草分蘖数开始显著低于 CK ($P<0.05$)。铅锌尾矿和矿毒水污染对灯心草分蘖数的抑制均达到了显著程度, 且铅锌尾矿污染的抑制作用大于矿毒水污染。

表 3 复合重金属胁迫对灯心草总分蘖数、株高、地上部干重和地下部干重的影响 (平均值 $\pm$ 标准差, $n=3$)

Table 3 Effects of compound stress of Cu, Cd, Pb, Zn and As on total tiller number, plant height, dry weights of shoots and roots of *Juncus Effuses*

处理水平	总分蘖数 (株/盆)	株高 (cm)	地上部		地下部	
			干重 (g/盆)	下降幅度 (%)	干重 (g/盆)	下降幅度 (%)
CK	120 $\pm$ 4.04a	63.87 $\pm$ 1.42a	21.75 $\pm$ 0.51a	—	4.43 $\pm$ 0.11a	—
1	124 $\pm$ 4.58a	60.10 $\pm$ 1.71b	20.99 $\pm$ 0.33a	3.49	4.25 $\pm$ 0.10ab	4.06
2	117 $\pm$ 3.06a	58.53 $\pm$ 2.07b	19.76 $\pm$ 0.47b	9.15	4.12 $\pm$ 0.15bc	7.00
3	109 $\pm$ 3.51b	51.58 $\pm$ 2.13c	14.04 $\pm$ 0.40d	35.45	4.04 $\pm$ 0.24bc	8.80
4	79 $\pm$ 2.52d	41.88 $\pm$ 2.84d	9.58 $\pm$ 0.64e	55.95	3.84 $\pm$ 0.22c	13.32
5	103 $\pm$ 6.66b	51.92 $\pm$ 2.21b	15.61 $\pm$ 0.44c	28.23	3.99 $\pm$ 0.35bc	9.93
6	88 $\pm$ 3.06c	50.25 $\pm$ 1.56c	13.86 $\pm$ 0.31d	37.10	3.95 $\pm$ 0.11c	10.84

注: 同列不同字母表示用 LSD 方法测试时在 $P<0.05$ 水平上的差异显著性, 下同。

2.1.2 复合重金属胁迫对灯心草株高的影响 从表 3 可知, 复合重金属胁迫对灯心草株高的影响程度较大。即使在土壤环境质量二级标准上限值浓度范围内株高与 CK 相比也有显著性差异, 分别比 CK 下降了 5.90% 和 8.36%。当土壤中重金属浓度超过土壤环境质量二级标准上限值后, 株高下降更快。表明 5 种重金属对灯心草株高的影响存在剂量-效应关系。生长在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中的灯心草株高与 CK 比较, 受抑制情况与分蘖数相似。

2.1.3 复合重金属胁迫对灯心草地上部干重的影响

重金属对植物影响的最终结果是反映在生物产量上的。国家土壤环境容量协作组通过应用生态环境效应法于 1991 年制定了以作物产量为依据来确定土壤临界含量的标准。标准规定将植物生物量或产量减少 5%~10% (灯心草由于产量数额小取高限) 土壤有害物质的浓度作为土壤有害物质的最大允许浓度^[14-15]。由表 3 可知, 随着土壤中复合重金属浓度的升高, 灯心草地上部生物量呈减产趋势。处理水平 1 与 CK 相比没有显著差异, 只比 CK 下降了 3.49%, 从处理水平 2 便开始显著低于 CK。虽然在土壤环境质量二级标准上限值处 (处理水平 2) 灯心草地上部生物量相对于 CK 下降显著, 但减产幅度为 9.15% ($<10\%$)。据此,

可以初步将土壤环境质量二级标准上限值设定为土壤中 5 种重金属对灯心草的毒性效应临界值。同时对灯心草分蘖数-地上部干重和株高-地上部干重的回归分析, 结果表明灯心草分蘖数、株高和地上部干重呈显著正相关 (相关系数分别为 0.921 和 0.935)。因此, 可以认为复合重金属胁迫对灯心草地上部干重的影响主要是通过影响其分蘖数和株高造成的。同时发现生长在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中的灯心草地上部生物量分别减产 27.91% 和 36.23%, 主要也是复合重金属污染对灯心草分蘖数和株高两项生长指标影响累积的结果。这对利用灯心草修复重金属污染土壤具有一定的参考价值。

2.1.4 复合重金属胁迫对灯心草地下部干重的影响

由表 3 的数据分析可知, 虽然在浓度梯度设置范围内, 随着复合重金属浓度的升高灯心草地下部干重呈下降趋势, 但从减产幅度 (4.06%~13.32%) 来看, 其受各重金属处理水平的影响程度比地上部干重小。在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中生长的灯心草地下部干重也仅分别比 CK 减少了 9.93% 和 10.84%。推测原因有两点: 一可能是由于灯心草地下部生物量较小, 从而导致其产量变化不明显; 二可能是由于灯心草地下部对复合重金属胁迫的抗性较强。具体原因还需进

一步研究其根系生理生化指标的变化情况予以探明。同时在盆栽过程中进一步发现灯心草的主根系深入土层较深,且须根密生于整个土壤层。这一点对于将灯心草应用于尾矿地区的植被重建、固土和固砂蓄水极其有利。

2.2 复合重金属污染对灯心草生理生化指标的影响

2.2.1 复合重金属污染对灯心草叶绿素含量的影响

叶绿素含量在一定程度上反映了光合作用的水平,植物叶片中叶绿素含量与光合速率、营养状况等密切相关,因此常用叶绿素含量的高低来表征植物在逆境下受伤害的程度。由表 4 可见,在整个重金属浓度梯度设置范围内,灯心草叶绿素含量随复合重金属处理浓度的增加而下降明显。即使在土壤环境质量二级标准上限值处也受到较大程度的影响,叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量和叶绿素总含量分别下降了 12.31%、6.83%、11.38% 与 CK 相比差异性显著 ($P<0.05$)。高浓度处理水平 4 (Pb、Cu、Zn、Cd、As 含量超过了土壤环境质量三级标准) 下降幅度最大,叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总含量分别比 CK 减少了 39.76%、25.08% 和 36.12%,植物失绿症状明显。生长在矿毒水污染土壤和铅锌尾矿污染土壤中的灯心草叶绿素合成

也受到了很大程度的抑制 ($P<0.05$),这可能是由于污染土壤中超量 Cd、Pb、As 的联合毒害作用所致。从表 4 还可以看出,在浓度梯度设置范围内,灯心草叶绿素 a 和叶绿素 b 之间的比值除处理水平 1 外亦随着复合重金属浓度梯度的升高而降低,相对于 CK 都达到了显著程度 ($P<0.05$)。这就表明灯心草叶绿素 a 的变化幅度明显大于叶绿素 b,叶绿素 a 比叶绿素 b 对复合重金属胁迫更为敏感,也说明了在相同处理条件下叶绿素 a 所受到的伤害比叶绿素 b 大。这可能与重金属首先破坏叶绿素 a 有关^[16]。Woolhouse^[17]认为:随着叶片的衰老,植物叶绿素含量逐渐下降,叶绿素 a 比叶绿素 b 下降得更快,叶绿素 a/b 可以作为叶片衰老的标志,同时也是衡量叶片感受重金属胁迫相对敏感的一个生理指标。也有许多实验表明,作物叶绿素总量、叶绿素 a、叶绿素 b 的含量随着土壤 Cu、Pb、Cd、Hg、As 含量增加而降低。Zeng 等^[18]曾报道高浓度 La 对油菜叶绿素 a 有明显抑制作用,对叶绿素 b 影响不大,叶绿素 a/b 随着土壤 La 浓度增加而下降,其研究与本文比较一致。本次试验中灯心草叶绿素含量及叶绿素 a/b 值随着复合重金属浓度的增高下降明显,说明复合重金属胁迫加速了灯心草叶片的老化。

表 4 灯心草叶绿素对复合重金属胁迫的响应 (平均值 $\pm$ 标准偏差, $n=3$)

Table 4 Response of chlorophyll of *Juncus Effuses* to compound stress of heavy metals in soil

处理水平	叶绿素 a		叶绿素 b		叶绿素 a/b	叶绿素 a + 叶绿素 b	
	含量	下降幅度	含量	下降幅度		总含量	下降幅度
	(mg/(g·FW))	(%)	(mg/(g·FW))	(%)		(mg/(g·FW))	(%)
CK	19.09 $\pm$ 0.128a	—	6.30 $\pm$ 0.019a	—	3.03	25.39 $\pm$ 0.110a	—
1	18.47 $\pm$ 0.044b	3.25	6.03 $\pm$ 0.076b	4.29	3.06	24.51 $\pm$ 0.051b	3.47
2	16.74 $\pm$ 0.101c	12.31	5.87 $\pm$ 0.099c	6.83	2.85	22.50 $\pm$ 0.242c	11.38
3	13.85 $\pm$ 0.046e	27.45	5.56 $\pm$ 0.054e	11.75	2.49	19.41 $\pm$ 0.009e	23.55
4	11.50 $\pm$ 0.32f	39.76	4.72 $\pm$ 0.032f	25.08	2.44	16.22 $\pm$ 0.006g	36.12
5	15.10 $\pm$ 0.073d	20.38	5.73 $\pm$ 0.018d	9.05	2.64	20.83 $\pm$ 0.054d	17.96
6	13.69 $\pm$ 0.025e	27.97	4.96 $\pm$ 0.084e	21.27	2.76	18.65 $\pm$ 0.064f	26.55

2.2.2 灯心草 POD 酶对复合重金属胁迫的响应 由表 5 可以看出,在重金属浓度梯度设置的处理水平 1 ~ 处理水平 3 的范围内,随着复合重金属胁迫浓度的递增,灯心草 POD 酶活性被不同程度地激活,处理水平 2 出现抗性高峰,增幅为 13.13% ~ 29.46%。处理水平 4 酶活性受到抑制,比 CK 下降了 15.15%。POD 酶活性上升的原因可能是复合重金属胁迫下灯心草体内产生的过氧化物增加诱导的结果。而当重金属处理浓度的进一步增加,有毒物质超过了 POD 酶正常的催化

能力后则导致其活性的下降,后果是使植物体内 H_2O_2 过量积累,进而对植物体内的膜系统造成潜在的氧伤害。由表 5 还可以看出矿毒水胁迫对灯心草 POD 酶活性的激活作用要大于铅锌尾矿胁迫。在矿毒水胁迫下灯心草 POD 酶活性比 CK 上升了 12.96%,而在铅锌尾矿胁迫下 POD 酶活性只上升了 5.28%。

2.2.3 灯心草 SOD 酶对复合重金属胁迫的响应 由表 5 可知,在重金属浓度梯度设置范围内,灯心草体内 SOD 酶活性随着复合重金属胁迫程度的增强呈先

升后降的变化趋势。处理水平 1 和处理水平 2 酶活性有被激活的趋势,但变化幅度不是很大,分别比 CK 上升了9.91% 和 18.97%。从处理水平 3 (重金属含量超过了土壤环境质量二级标准 2 倍)开始酶活性便逐渐受到抑制,处理水平 4 达到最低值,仅为 CK 的 73.15%。与 POD 酶情况类似,铅锌尾矿胁迫对灯心草 SOD 酶活性的影响仍然大于矿毒水,对酶均有激活作用。在二者胁迫下灯心草 SOD 酶活性分别高出CK 4.85% 和 12.11%。从 SOD 酶活性的整个动态变化趋势来看,相对于 POD 酶变化较为平缓,其抗性高峰出现在处理水平 2 (相当于土壤环境质量二级标准上限值),在处理水平 3 处酶活性便开始低于 CK 值。这就

表明灯心草 SOD 酶较 POD 酶对外界复合重金属胁迫敏感。SOD 酶是植物体内重要的活性氧防御酶,它的催化反应为: $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ + SOD \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 。正常情况下 SOD 酶活性稳定,植物产生和清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力处于动态平衡^[19]。本研究发现,低浓度的重金属胁迫使灯心草 SOD 酶活性比 CK 高,其原因可能是重金属离子进入植物体内诱发 $O_2^{\cdot-}$ 的生成。SOD 酶活性提高是相应于 $O_2^{\cdot-}$ 增加的一种应急解毒措施,使细胞免受毒害的调节反应。但是当细胞长时间地维持在较高的 $O_2^{\cdot-}$ 浓度下,细胞内的活性物质包括酶也会受到损伤,致使 SOD 酶活性下降。因此, SOD 酶活性的高低与植物的抗逆性之间具有一定的相关性。

表5 灯心草 3 种保护性酶对复合重金属胁迫的响应

Table 5 Response of protective enzyme in *Juncus Effuses* to compound stress of heavy metals

处理 水平	POD 酶		SOD 酶		CAT 酶	
	活性	升降幅度	活性	升降	活性	升降幅度
	(470 nm/(min·g·FW))	(%)	(u/(ml·FW))	幅度 (%)	(u/(ml·FW))	(%)
CK	297.0 ± 3.00e	—	77.48 ± 3.37de	—	12.26 ± 1.06d	—
1	342.5 ± 2.18b	+15.32%	85.16 ± 2.57bc	+9.91%	21.07 ± 1.61ab	+71.86%
2	384.5 ± 3.12a	+29.46%	92.18 ± 2.38a	+18.97%	19.49 ± 2.38b	+58.73%
3	336.0 ± 1.32c	+13.13%	73.21 ± 2.43e	-5.51%	14.29 ± 1.08cd	+16.56%
4	252.0 ± 2.78f	-15.15%	56.68 ± 3.40f	-26.85%	8.52 ± 0.80e	-3.05%
5	335.5 ± 3.12c	+12.96%	86.87 ± 2.99b	+12.11%	23.58 ± 1.67a	+92.33
6	312.67 ± 3.75d	+5.28%	81.24 ± 2.46cd	+4.85%	16.68 ± 1.09c	+36.05%

注:表内“-”表示酶活性的下降,“+”表示酶活性的上升。

2.2.4 灯心草 CAT 酶对复合重金属胁迫的响应 由表 5 可以看出:在复合重金属胁迫下灯心草体内 CAT 酶表现出与前两种酶截然不同的变化情况。在重金属浓度梯度设置范围内,其活性随着复合重金属胁迫浓度升高而呈连续下降的变化趋势。且 CAT 酶出现抗性峰时所对应的复合重金属浓度处理水平也不同。POD 酶和 SOD 酶在处理水平 2 达到一个较小的峰值。而 CAT 酶则在处理水平 1 便达到了一个较大的峰值,比 CK 上升了71.86%。处理水平 2 和处理水平 3,酶活性虽有所下降,但仍高于 CK。与 POD 酶和 SOD 酶一样,高浓度处理水平 4, CAT 酶活性亦比 CK 低,但下降幅度不是很大,仅比 CK 降低 3.05%。与前两种酶表现不同的是,在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中生长的灯心草, CAT 酶活性均大幅度高于 CK,分别比 CK 升高了36.05% 和 92.33%。由此可以看出:在相同浓度处理的复合重金属胁迫条件下,灯心草 3 种抗氧化酶中 CAT 酶表现出更高的敏感性,在抵抗外界复合重金属胁迫中发挥的作用也更大。这一点对利用灯心草治理铅锌尾矿及矿毒水污染土壤具有极大的现

实意义。

3 讨论

通过盆栽试验研究 Cu、Cd、Pb、Zn、As 5 种重金属在土壤-植物体系中对灯心草的联合生理毒性效应结果表明:在 5 重金属胁迫下,灯心草地上部生长受抑制明显,但地下部减产趋势不显著。同时灯心草叶绿素含量减少、叶绿素 a/b 值降低,叶绿体膜系统破坏而使叶绿素降解和失活,加速了植物的老化。在重金属浓度梯度设置范围内,随着复合重金属胁迫浓度的增加,灯心草 POD 酶和 SOD 酶活性均呈先升后降的变化趋势, CAT 酶呈下降的趋势。总体来说,在接近土壤环境质量标准低浓度设计下,灯心草 3 种酶活性有逐渐被激活的趋势,表现出一定的协调性,共同抵制重金属的毒害。在高浓度设计下,酶活性普遍受到抑制。生长在矿毒水和铅锌尾矿污染土壤中的灯心草地上部生物量与CK相比分别减产 28.23% 和 37.1%,但 POD 酶、SOD 酶和 CAT 酶酶活性均高于 CK,这表明灯心草在重金属污染土壤治理中有较好的

应用前景。目前,有关土壤重金属临界毒性效应值的确定多采用多体系的综合生态环境效益法。本次试验主要应用了其中的两种判定标准:一种是使用减产临界值,即以生物量(或产量)减少 5%~10% 时的土壤重金属有效浓度作为临界指标。另一种是采用植物生理生化指标的变化来表示污染土壤毒性临界值。对于这方面的报道有很多。雷虎兰等^[20]研究表明,重金属元素对作物根中过氧化氢酶和茎中蔗糖酶的活性有抑制作用,因此也可以以其相对活性降低 25% 及 50% 为限的重金属浓度范围作为重要指标。同时他在研究灰钙土重金属污染对农作物生理生化作用的影响时发现,Cd 对小麦、玉米叶绿素含量的影响都可作为其受影响的指标。当叶绿素含量降至 CK 的 80%~90% 时,土壤重金属浓度与减产 10% 时的浓度接近,因此此时的叶绿素含量可作为农作物可能减产 10% 的诊断指标。依据上述两个判定标准,我们可以以灯心草地上部产量减产 10%、生理生化指标抑制或增加 10% 为依据进行综合比较,采用最低浓度作为土壤中有害物质的最大允许浓度^[21]。从本次实验数据分析来看,这个临界浓度值适合设定为处理水平 2 (相当于土壤环境质量二级标准上限值)。即当污染土壤中 Cd、Pb、Cu、Zn、As 5 种重金属浓度分别 0.3、300、100、250 和 30 mg/kg 时不会对灯心草造成明显不可逆转的生理毒害效应。这对利用灯心草治理和修复复合重金属污染土壤及规模发展灯心草种植产业具有一定的参考价值,以便同时获得最佳的生态效益和经济效益。同时也为土壤环境容量范围的确定提供了参数指标和客观依据。鉴于过去所制订的土壤环境质量和污泥农用标准均是基于单一重金属元素污染试验所订,与实际复合污染状况出入颇大,为此建议今后应以复合重金属污染交互作用及其对植物生态毒性效应为依据,同时结合实际重金属污染土壤作为参照,重新设计试验,以便修正现有各项环境管理标准,更好地为防治土壤污染服务。

参考文献:

- [1] 王作雷,蔡国梁,李玉秀,史学荣,陶华. 土壤重金属的非线性可拓综合评价. 土壤, 2004, 36 (2): 151-156
- [2] Coughtrey PJ, Martin MH. Tolerance of *Holcus Lanatus* of lead zinc and cadmium in factorial combination. New Phytol., 1978, 81: 147-154
- [3] 崔龙鹏,白建峰,史永红,彦事龙,黄文辉,唐修义. 采矿活动对煤矿区土壤中重金属污染研究. 土壤学报, 2004, 11 (6): 896-904
- [4] Hu XF, Wu HX, Hu X, Fang SQ, Wu CJ. Impact of urbanization on Shanghai's soil environmental quality. Pedosphere, 2004, 14 (2): 151-158
- [5] 郑振华,周培疆,吴振斌. 复合污染研究新进展. 应用生态学报, 2001, 12 (3): 469-473
- [6] 宗良纲,丁园. 土壤重金属 (Cu、Zn、Cd) 复合污染的研究现状. 农业生态环境, 2001, 20 (2): 126-128
- [7] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plants. Plant Cell Environ., 1990, 13: 195-206
- [8] 成水平,况琪军,夏宜璋. 香蒲、灯心草人工湿地的研究. I. 净化污水的效果. 湖泊科学, 1997, 9 (4): 351-358
- [9] 黄时达,杨有仪,冷冰,钱俊,任勇,李国文,任朝晖. 人工湿地植物处理污水的试验研究. 四川环境, 1995, 14 (3): 5-7
- [10] 曾清如,杨仁斌,铁柏清,周细红,廖铭长,王小成. 郴县东西河流域重金属污染农田的防治技术和生态利用模式. 农业环境保护, 2002, 21 (5): 428-432
- [11] 沈伟其. 测定水稻叶片叶绿素含量的混合液提取法. 植物生理通讯, 1988, (3): 62-67
- [12] 张志良. 植物生理学实验指导. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1990: 154-155
- [13] 吴燕玉,余国营,王新,梁仁禄. Cd Pb Cu Zn As 复合污染对水稻的影响. 农业环境保护, 1998, 17 (2): 126-128
- [14] 陈怀满. 土壤中化学物质的环境行为与环境质量. 北京: 科学出版社, 2002
- [15] 夏家洪. 土壤环境质量标准详解. 北京: 中国环境科学出版社, 1996
- [16] 任安芝,高玉葆,刘爽. 铬、镉、铅胁迫对青菜叶片几种生理生化指标的影响. 应用与环境生物学报, 2000, 6 (2): 112-116
- [17] Woolhouse HW. Longevity and senescence in plant. Sci. Prog. Oxford, 1974, 61: 23
- [18] Zeng Q, Zhu JG, Cheng HL. Ecophysiological responses of rice to lanthanum accumulation in red earth. Acta Scientiae Circumstantiae, 2003, 23 (1): 17-21
- [19] Migirr LG, Brien PJO. Mechanisms of membrane lipid peroxidation. Recent Advances in Biol. Membrane Studies, 1985: 319-344
- [20] 雷虎兰,高发奎,杨晓辉,许嘉琳. 灰钙土重金属污染对农作物生理生化作用的影响. 农业环境保护, 1994, 13 (1): 12-17
- [21] Kwon YT, lee CW. Application of multiple ecological risk indices for the evaluation of heavy metal contamination in a coastal dredging area. The Science of the Total Environment, 1998, 214 (1-3): 203-210

Eco-Toxicological Effect of Compound Stress of Cu, Cd, Pb, Zn and As on *Juncus Effuses*

SUN Jian¹, TIE Bo-qing^{1*}, QIAN Zhan¹, YANG She-wei¹, MAO Xiao-qian¹, ZHAO Ting¹, LUO Rong², ISAO Aoyama²

(¹ College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

² Research Institute for Bioresources, Okayama University, Kurashiki 710-0046, Japan)

Abstract: Eco-toxicology effects of compound stress of Cu, Cd, Pb, Zn and As on growth, chlorophyll content and protective enzyme of *Juncus Effuses* were studied using pot culture. Concentrations of the heavy metals in the soil were designed according to the State Soil Environmental Quality Standard. Considering practical application, soils contaminated with tailings and wastewater from Lead/Zinc mining were also used in the experiment. Results showed that biomass of the ground part of *Juncus Effuses* was inhabited to a certain degree. When the dosages of the heavy metals added to the soils were close to Grade II Criteria of the State Soil Environmental Quality Standard (GB15618—95), *Juncus Effuses* could still grow normally in appearance though its yield decreased by 10%, however biomass of the underground part was not much affected. With the heavy metal concentration increasing, the content of chlorophyll and the ratios of chlorophyll a/b were decreasing rapidly. POD and SOD activities in *Juncus Effuses* increased first and then decreased afterwards, while CAT activity decreased linearly. In general, the enzyme activities were gradually activated when the concentration of heavy metals was within the lower concentration range of the soil environmental quality which indicated their synergic resistance to heavy metal stress to a certain degree. But the enzyme activities were inhibited when their concentrations got higher. The yield of biomass of the ground part of *Juncus Effuses* growing on the soil polluted by wastewater or tailings of Lead/Zinc mining decreased by 28.23% or 37.1% respectively, but the activities of POD, SOD and CAT were all higher than those in CK. All these suggest that *Juncus Effuses* could be used as an indicator of critical value of the toxic effects of the heavy metals, Cu, Cd, Pb, Zn and As, in soil, set on the basis of the upper limit of Grade II criteria of the State Soil Environmental Quality Standard.

Key words: *Juncus Effuses*, Compound heavy metals, Stress, Growth, Physiological and biochemical index, Critical toxic effect