

# 黄棕壤添加重金属的毒性评价及其 临界浓度确定

顾宗濂 吴留松 谢思琴 周德智

(中国科学院南京土壤研究所, 210008)

## 摘 要

在连续盆栽水稻、小麦的过程中研究了加入黄棕壤的 Cu、Cd、Pb 的毒性(发光细菌法)。结果表明,当以水提取黄棕壤中三元素,浓度低,不显毒性,这与水提取红壤的结果相反;当以  $0.1\text{mol L}^{-1}$  HCl 提取黄棕壤中三元素,则浓度明显提高而显示毒性。在相关显著水平  $p = 0.01$  的基础上建立了土壤金属浓度与剩余发光度(毒性指标)优化拟合方程。规定含金属土壤的临界剩余发光度为 90% ( $EC_{90}$ )。据此,估算出黄棕壤中 Pb、Cu、Cd 的临界浓度( $\mu\text{g/g}$ 土)分别为: 488—587, 17.8—25.3, 1.11—2.12。

**关键词** 生物毒性, 重金属污染

人们关注水体中重金属的毒性由来已久。历史上曾用鱼法<sup>[1]</sup>、溞(Daphnia)法、敏感微生物法和呼吸强度法等<sup>[2,3]</sup>评价环境中污染物的急性毒性。相对而言,以鱼法最为灵敏,因而被列入各国环境生物监测规范。70年代末, Bulich, A. A.<sup>[4]</sup>研究了一种以发光细菌(Photobacterium)冻干制剂为基础的仪器测毒性法(MICROTOX法),此法以其灵敏、快速、价廉而胜过鱼法,在世界广为流传。80年代初,笔者在本所研制了国产第一代简化的同类仪器,并用该仪器先后研究了重金属或农药污染的水体<sup>[5]</sup>、土壤<sup>[6]</sup>毒性。该法评价物质生物毒性的基础在于发光细菌对毒物显示负效应,且发光度与毒物浓度呈负相关<sup>[7]</sup>。据此求出细菌发光半抑制剂量( $EC_{50}$ )。依据  $EC_{50}$  比较物质毒性大小<sup>[8]</sup>。

本文仍将应用发光细菌测毒法,研究加入黄棕壤的 Cu、Cd、Pb 的急性生物毒性,将所获结果在数理分析基础上作出评价,并从生物毒性的角度确定三元素在黄棕壤中的临界浓度。

## 一、材料和方法

1. 土样的采集和处理: 在江苏省长江南岸的下蜀和长江以北的盱眙、湖北省孝感三地未垦殖的黄棕壤,采集 0—20cm 土样。三地土样分别风干、粉碎、混匀、装盆,每盆 3 公斤。

2. 盆栽试验: 按下列浓度逐盆给土样加元素。

(1) 土壤 + Cu ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ): CK, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mg/kg 土。

(2) 土壤 + Cd ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ): CK, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 mg/kg 土。

(3) 土壤 + Pb ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ): CK, 125, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000mg/kg土。

每地黄棕壤每个处理均重复二盆。各盆均于1987年6月栽种晚稻, 9月收割后继种小麦, 至1988年5月收获。种植期间, 各盆按同一低肥水平管理。

3. 测定项目: (1) 急性生物毒性 于1987年水稻分蘖期和1988年小麦收获期分别采土样, 用国产 DXY-1 型毒性测试仪按美国 MICROTOX 仪说明书<sup>[6]</sup>所述方法测定土样提取液 15 分钟毒性。(2) 土壤金属形态 按 Miller W. P. 和 Mcfee W. W. 所述方法<sup>[7]</sup>提取土壤中水溶态和  $0.1\text{mol L}^{-1}$  可提取态 Cu、Cd、Pb, 用 P.E. 380 型原子吸收分光计测定。

4. 数据处理: 按马青华所述方法<sup>[8]</sup>对试验数据进行方差分析的 F 测验和 LSR 测验。

## 二、结果和讨论

### (一) 供试黄棕壤的基本性状

表 1 列举了三地黄棕壤的基本性状。从该表见, 三地土壤全 N、全 P、全 K 均差异不大, 不会造成肥力水平的实质性差异。细粘粒 ( $<0.001\text{mm}$ ) 的比例, 三个土样均介于 40—60%, 均属粘土<sup>[9]</sup>。有机质、代换量、代换性盐基 (Ca、Mg、K、Na 总量) 均有盱眙土 > 孝感土 > 下蜀土的趋势, 而 pH 趋势则相反。这些差异有可能对三地土壤纳污能力或金属毒性缓冲能力产生影响。

表 1 供试黄棕壤的基本性质

Table 1 Basic nature of yellow-brown earth tested

采样地 Sampling location	pH	有机质	全 N	全 P	全 K	代换量	代换性盐基	饱和度	机械组成 (%)	
		Organic matter	Total nitrogen	Total phosphorus	Total potassium	Exchange capacity	Exchangeable base	Saturation	Mechanical composition	
		(g kg <sup>-1</sup> soil)				(cmol kg <sup>-1</sup> soil)		(%)	<0.01 (mm)	<0.001 (mm)
下蜀	7.26	4.50	0.43	1.37	21.30	12.40	17.48	70.90	24.90	48.10
孝感	6.78	6.50	0.50	0.39	16.80	14.55	20.90	69.60	28.10	52.60
盱眙	5.85	11.30	0.80	0.61	15.30	18.60	21.46	86.70	30.70	47.60

### (二) 添加金属的黄棕壤的毒性

1. 添加金属的黄棕壤的水提取液毒性: 一般认为, 以不溶性吸附态或沉淀态存在于土壤的环境化学物质是不具生物毒性的, 只当土壤溶液中化学物质含量超过某一临界浓度时, 才会产生毒害作用<sup>[10]</sup>。从表 2 看出, 供试三地黄棕壤在 1987 年添加系列浓度 Cu、Cd、Pb 并种稻后, 由于该类土壤对金属离子的吸附能力很强, 致水溶态金属浓度很低, 其范围值为 ( $\mu\text{g/g}$  土):

Cu ND—0.28, Pb 0.01—2.85,

Cd ND—0.191

在土壤水提取液金属浓度如此低下的情况下, 土壤溶液显示无毒, 三元素毒性指标 (发光水平) 无明显下降, 剩余发光度 (T%) 达到 93.3% 以上。

在土壤溶液金属浓度很低、显示不出毒性的情况下, 浓度和剩余发光度负相关性很差,

表 2 添加金属土壤水提液浓度  $C$  与毒性  $T$  关系(1987 年水稻)Table 2 The water extract's concentration,  $C$ , of Soil added with metals in relation to the toxicity,  $T$  (paddy rice, 1987)

添加金属浓度 concentration of metal added ( $\mu\text{g/g soil}$ )	下蜀土 Xiasbu soil		孝感土 Xiaogan Soil		盱眙土 Xuyi Soil	
	( $C \mu\text{g/g Soil}$ )	( $T \%$ )	( $C \mu\text{g/g Soil}$ )	( $T \%$ )	( $C \mu\text{g/g Soil}$ )	( $T \%$ )
Cu						
CK	0.04	100.0	0.02	100.0	0.06	100.0
100	0.05	108.3	0.06	83.4	0.06	155.9
200	ND	108.3	0.08	96.9	0.07	139.6
300	0.09	104.5	0.05	103.5	0.15	134.9
400	0.16	98.3	0.07	115.0	0.14	169.0
500	0.22	99.2	0.02	104.5	0.20	146.5
600	0.19	97.5	0.06	110.9	0.21	136.5
700	0.28	100.0	0.03	105.7	0.25	158.0
$r$	-0.707		-0.048		0.368	
$p$	<0.05		>0.05		>0.05	
Cd						
CK	ND	100.0	0.197	100.0	0.068	100.0
0.5	ND	97.7	0.122	107.7	0.018	98.6
1	ND	102.3	0.092	97.0	ND	164.7
2.5	0.098	96.4	ND	77.7	ND	92.3
5	ND	98.7	ND	89.3	0.002	99.1
10	0.035	104.5	ND	90.9	0.076	93.5
25	0.028	109.2	ND	87.2	ND	94.3
50	0.051	101.3	ND	95.2	0.034	98.4
100	0.091	101.3	0.063	104.7	0.071	94.0
$r$	-0.0677		0.677		-0.334	
$p$	>0.05		>0.05		>0.05	
Pb						
CK	0.65	100.0	0.35	100.0	0.80	100.0
125	2.43	119.4	1.36	93.2	0.55	98.4
250	2.85	69.8	0.44	108.0	0.84	98.7
500	0.80	115.0	0.80	113.1	0.53	105.2
1000	1.50	89.6	0.07	87.8	1.43	76.1
2000	0.26	80.0	0.01	88.3	1.08	108.2
3000	1.63	74.6	1.47	89.6	1.52	80.6
4000	0.43	81.8	1.59	92.1	1.36	90.3
$r$	-0.0399		-0.066		-0.768	
$p$	>0.05		>0.05		<0.05	

$T$ ——剩余发光度,  $r$ ——相关系数,  $p$ ——相关显著水平。

通常  $p > 0.05$  (表 2)。

这一结果与以往用红壤样品所做的结果完全相反<sup>④</sup>。由于红壤对金属离子吸附能力

差,在同样添加金属浓度下,水提取液金属浓度和毒性均达明显危害作物生长的水平。提示土壤类型不同,金属进入土壤后土壤水溶液显示的毒性可以差异很大,因而在利用改良上应有所区别。

2. 对添加金属的黄棕壤用  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提取液毒性:许多环境学家将  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提取出来的土壤金属称之为有效态金属,认为该部分金属对植物或其它生物有毒性效应<sup>[1]</sup>。笔者后来的研究也证实了这一点。从表 3 可知,以黄棕壤添加 Cu、Cd 后盆栽小麦为例,尽管黄棕壤水溶态 Cu、Cd 浓度和毒性都极低,似乎不该造成小麦减产,但因  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 可提取性 Cu、Cd 浓度和毒性均相当高,还是导致严重减产。

$0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 比水提取的土壤金属毒性高得多,其范围值( $\mu\text{g/g}$  土)为(表 4):

Cu 3.25—142.8 Pb 0.30—72.01

Cd 0.194—29.12

在这种情况下, $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提取液的金属浓度与剩余发光度的线性负相关性比水提取液大为提高。就 Cu、Cd、Pb 而言,负相关显著水平一般均可达到  $P < 0.05$  或  $< 0.01$ 。

表 3  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 土壤可提取金属毒性对植物的有效性(以黄棕壤为例)

Table 3 Availability of the toxicity of metal extractable by  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl on plants (As an example by the yellow brown earth)

土壤添加金属浓度 ( $\mu\text{g/g}$ 土) Concentration of metal added to soil	水溶态 Water-Soluble form			$0.1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl 可提取性 Extractable form by $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl			小麦减产* (%) Yield decrease of wheat
	毒性 ( $r$ ) Toxicity	浓度 ( $\mu\text{g/g}$ 土) Concentration	浸出率 (%) Rate of extraction	毒性 ( $r$ ) Toxicity	浓度 ( $\mu\text{g/g}$ 土) Concentration	浸出率 (%) Rate of extraction	
Cu							
600	0.0	ND <sup>1)</sup>		19.4	112.2	13.7	-62.8
400	—	—		—	—	—	-22.4
300	0.0	ND		5.62	59.9	20.0	—
200	—	—		—	—	—	-17.9
150	0.0	ND		3.61	21.2	14.1	—
100	—	—		—	—	—	-14.8
75	0.0	0.3	0.4	1.50	7.7	10.2	—
CK	0.0	ND		0.00	ND		
Cd							
200	0.098	1.6	0.8	1.54	83.3	41.7	—
100	0.000	0.1	0.1	0.41	37.9	37.9	-72.7
50	0.082	ND		0.26	14.6	29.2	-95.1
25	0.060	ND		0.062	7.4	29.7	+7.8
10	—	—		—	—	—	+28.3
CK	0.000	ND		0.00	ND		

\* 负值表示减产,正值表示增产。

1) 未检出,下同。

表 4 添加金属土壤  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提取液浓度  $C$  与毒性  $T$  关系(1987 年水稻)Table 4 The  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl extract's concentration,  $C$ , of Soil added with metals in relation to the toxicity,  $T$  (Paddy rice, 1987)

添加金属浓度 Concentration of metal added ( $\mu\text{g/g}$ soil)	下蜀土 Xiashu soil		孝感土 Xiaogan soil		盱眙土 Xuyi soil	
	( $C$ $\mu\text{g/g}$ $\pm$ )	( $T$ %)	( $C$ $\mu\text{g/g}$ $\pm$ )	( $T$ %)	( $C$ $\mu\text{g/g}$ $\pm$ )	( $T$ %)
Cu						
CK	0.50	100.0	0.25	100.0	ND	100.0
100	14.25	49.9	6.50	56.9	3.25	35.7
200	32.50	31.3	16.00	25.5	12.75	26.4
300	53.50	17.0	38.00	13.8	26.50	23.4
400	76.00	4.5	70.00	14.1	39.25	17.2
500	102.00	4.2	94.25	11.6	56.50	13.4
600	119.75	1.9	129.00	5.7	66.75	9.6
700	142.75	0.9	139.25	9.6	99.25	9.2
$r$	-0.839		-0.726		-0.923	
$p$	<0.01		<0.05		<0.01	
Cd						
CK	0.136	100.0	0.086	100.0	ND	100.0
0.5	0.510	90.6	0.194	102.5	0.682	111.4
1	0.692	93.2	0.218	102.5	0.636	92.9
2.5	1.328	86.2	0.538	90.7	0.798	68.3
5	1.806	95.3	1.262	101.3	1.666	65.1
10	4.770	60.3	3.232	104.7	3.358	63.7
25	10.212	87.7	9.116	98.8	6.814	57.4
50	15.940	71.6	15.120	80.6	13.140	52.1
100	29.110	40.2	24.370	68.9	25.320	46.2
$r$	-0.840		0.892		-0.693	
$p$	<0.01		<0.01		<0.05	
Pb						
CK	0.00	100.0	ND	100.0	0.91	100.0
125	0.31	102.7	1.10	101.5	1.06	94.3
250	0.52	102.7	1.51	84.8	1.51	68.9
500	0.79	95.4	2.44	80.7	4.07	87.6
1000	2.12	95.6	8.11	84.4	13.06	70.4
2000	9.86	58.1	27.37	49.3	29.31	38.3
3000	28.08	44.2	36.48	42.6	52.44	21.9
4000	48.72	27.2	72.01	19.6	69.35	17.2
$r$	-0.940		-0.941		-0.936	
$p$	<0.01		<0.01		<0.01	

考虑到 1987 年种稻后土壤水提取液即显示不出毒性,则在 1988 年连续种麦(即经过更长时期土壤对金属离子的吸附)后更无可能显示毒性,因此该年种麦后直接测定土壤  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提取液毒性,得到了与上一年种稻后类似的趋势。  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl 提

取的三元素浓度范围值( $\mu\text{g/g}$  土)分别为(表 5):

Cu 1.22—111.25 Pb 0.41—59.18

Cd 0.11—31.14

表 5 添加金属土壤  $0.1\text{mol L}^{-1}$  HCl 提取液浓度  $C$  与毒性  $T$  关系(1988 年小麦)

Table 5 The  $0.1\text{mol L}^{-1}$  HCl extract's concentration,  $C$ , of soil added with metals in relation to the toxicity,  $T$  (wheat, 1988)

添加金属浓度 Concentration of metal added ( $\mu\text{g/g}$ soil)	下蜀土 Xiashu soil		孝感土 Xiaogan soil		盱眙土 Xuyi soil	
	( $C$ $\mu\text{g/g}$ 土)	( $T$ %)	( $C$ $\mu\text{g/g}$ 土)	( $T$ %)	( $C$ $\mu\text{g/g}$ 土)	( $T$ %)
Cu						
CK	0.17	100.0	0.00	100.0	2.50	100.0
100	1.79	100.0	1.22	81.8	5.50	58.4
200	3.84	38.5	17.84	16.6	7.25	12.9
300	26.25	10.2	25.90	4.83	12.75	2.24
400	56.25	1.57	41.50	9.27	27.25	0.90
500	77.50	1.05	60.00	1.06	43.50	0.30
600	98.50	0.92	86.75	0.76	47.50	0.53
700	84.25	0.75	90.50	1.54	111.25	0.00
$r$	-0.807		-0.754		-0.515	
$p$	<0.05		<0.05		>0.05	
Cd						
CK	0.12	100.0	0.00	100.0	0.00	100.0
0.5	0.14	96.9	0.17	98.8	0.11	100.1
1	0.21	96.9	0.20	95.5	0.15	114.6
2.5	0.33	100.0	0.57	94.0	0.26	108.0
5	0.66	100.0	0.93	85.3	0.65	97.3
10	1.57	109.1	1.58	92.2	0.96	97.9
25	4.22	89.6	5.30	77.0	3.43	86.4
50	24.92	61.3	21.03	60.5	17.35	62.7
100	31.14	56.9	29.60	38.6	28.93	48.9
$r$	-0.967		-0.971		-0.961	
$p$	<0.01		<0.01		<0.01	
Pb						
CK	0.06	100.0	0.33	100.0	0.47	100.0
125	0.49	108.3	0.41	102.3	0.64	103.2
250	0.53	110.2	0.95	104.2	1.00	101.3
500	0.87	108.3	1.55	105.2	3.12	109.7
1000	2.08	93.0	3.79	101.3	6.28	99.3
2000	6.79	98.3	12.55	108.3	20.71	75.2
3000	14.20	92.3	37.58	40.7	33.99	38.7
4000	25.11	46.7	52.33	27.5	59.18	22.4
$r$	-0.916		-0.961		-0.974	
$p$	<0.01		<0.01		<0.01	

表明总体上比上一年的浓度有所下降。0.1mol L<sup>-1</sup> HCl 提取液的金属浓度与剩余发光度的线性负相关性,在趋势上也与上一年完全雷同,Cu、Cd、Pb 可达  $p < 0.05$  或 0.01 负相关显著水平。

计算机优化拟合建立的相关方程发现,无论 1987 年种稻或 1988 年种麦,土样添加金属的 0.1mol L<sup>-1</sup> HCl 提取液毒性与添加金属浓度有高度相关性,相关显著水平均达  $p = 0.01$  (表 6)。这表明,对于黄棕壤来说,以阳离子存在的土壤有效态金属(即土壤 0.1mol L<sup>-1</sup> HCl 提取的金属) Cu、Cd、Pb,其毒性与土壤金属添加量密切相关;土壤添加金属(或被外来金属污染)后产生的毒性主要来自有效态金属而不是水溶态金属,至少在观察的二年中是如此。这种相关性的存在,也为根据土壤添加金属浓度与添加金属土壤的 0.1mol L<sup>-1</sup> HCl 提取液毒性的相关方程,求出 EC<sub>50</sub> (T<sub>50</sub>) 以评价毒性,或求出 EC<sub>10</sub> (T<sub>10</sub>),以确定土壤金属临界浓度(土壤环境允许的浓度),建立了基础。

表 6 添加金属土壤 0.1mol L<sup>-1</sup> HCl 提取液毒性与浓度相关性

Table 6 Correlation between the concentration of metal added and the toxicity of extract by 0.1 mol L<sup>-1</sup> HCl from the soil.

金 属 Metal	土 壤 Soil	浓度 C 与剩余发光度 T 的优化拟合方程 Optimum quasi-conjunction equation of concentration (C) with remanent luminosity (T)	r	R
前 茬 (水 稻) Preceding crop (rice)				
Pb	下 孝 肝	$T = 107.3e^{-0.0003C}$	-0.984	0.972**
		$T = 109.4e^{-0.0004C}$	-0.968	0.950**
		$T = 90.61 - 0.021C$	-0.951**	
Cd	下 孝 肝	$T = 91.03 - 0.485C$	-0.830**	
		$T = 102.1e^{-0.0003C}$	-0.926	0.908**
		$T = 91.18 - 25.00LgC$	-0.931	0.930**
Cu	下 孝 肝	$T = 106.9e^{-0.0001C}$	-0.989	0.988**
		$T = 158.6 - 54.9LgC$	-0.931	0.931**
		$T = \frac{1}{0.00814 + 0.000143C}$	-0.984	0.949**
后 茬 (小 麦) Succeeding crop (wheat)				
Pb	下 孝 肝	$T = 110.4 - 0.0116C$	-0.842**	
		$\log T = 2.081 - 0.000138C$	-0.890	0.890**
		$T = 128.4e^{-0.0004C}$	-0.964	0.922**
Cd	下 孝 肝	$T = 101.3e^{-0.0004C}$	-0.924	0.918**
		$T = 96.43e^{-0.0001C}$	-0.994	0.988**
		$T = 105.5e^{-0.0003C}$	-0.976	0.969**
Cu	下 孝 肝	$T = 149.8e^{-0.0007C}$	-0.945	0.901**
		$T = 3256866.8C^{-2.30}$	-0.936	0.996**
		$T = 14.83 + \frac{6108}{C}$	-0.974	0.974**

\*\*— $p = 0.01$  显著水平, r—相关系数, R—全相关系数。

(三) 以细菌发光半抑制剂量( $EC_{50}$ )比较毒性

1. 相同土壤下不同金属的毒性: 从表 7 看出, 不论 1987 年种稻还是 1988 年种麦, 除个别情况下, 土壤添加金属的  $EC_{50}$  次序均为  $Pb > Cu > Cd$ , 因而其毒性顺序应相反,  $Cd > Cu > Pb$ ; 即毒性以  $Cd$  最高,  $Pb$  最低; 这是土壤潜在毒性, 具有长期效应。

2. 相同金属下不同土壤的毒性: 表 7 还显示, 不论  $Cu$ 、 $Cd$ 、 $Pb$  中何种金属, 1987 年种稻后的土壤添加金属  $EC_{50}$  均以盱眙黄棕壤最小, 示毒性最强; 1988 年种麦后的  $EC_{50}$  顺序有所改变,  $Cu$ 、 $Cd$  以孝感黄棕壤最小,  $Pb$  仍以盱眙黄棕壤最小。反映种麦后孝感土壤中  $Cu$ 、 $Cd$  毒性急剧升高。

3. 土壤类型和金属类型对毒性的协同影响: 为了探讨不同类型的土壤和金属对毒性大小所可能产生的协同影响, 作了土壤类型间和金属类型间的  $EC_{50}$  两因子方差分析。

表 7 土壤添加金属的  $EC_{50}$  比较Table 7 Comparison of  $EC_{50}$  of metals added to soils

	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/g}$ Soil)	
	1987 年水稻 Paddy rice, 1987	1988 年小麦 Wheat, 1988
土壤 Soils	相同土壤下不同金属的 $EC_{50}$ $EC_{50}$ of different metals under the same soil	
下蜀土	$Pb(2545) > Cu(111.8) > Cd(84.6)$	$Pb(5207) > Cu(126.2) > Cd(110.3)$
孝感土	$Pb(1958) > Cd(183.1) > Cu(95.1)$	$Pb(2768) > Cu(123.9) > Cd(71.4)$
盱眙土	$Pb(1934) > Cu(82.9) > Cd(44.4)$	$Pb(2358) > Cu(196.4) > Cd(91.1)$
金属 Metals	相同金属下不同土壤的 $EC_{50}$ $EC_{50}$ of different soils under the same metal	
$Cu$	下(111.8) > 孝(85.1) > 盱(82.9)	盱(196.4) > 下(126.2) > 孝(123.9)
$Cd$	孝(183.1) > 下(84.6) > 盱(44.4)	下(110.3) > 盱(91.1) > 孝(71.4)
$Pb$	下(2545) > 孝(1958) > 盱(1934)	下(5207) > 孝(2768) > 盱(2358)

表 8-1 土壤添加金属  $EC_{50}$  两因子方差分析表Table 8-1 Variance analysis table of double factors for  $EC_{50}$  of metal added to soil

作物 Crop	变异原因 Cause of variation	SS	DF	MS	F
1987 年 水稻	土壤间	85300	2	42600	1.00
	金属间	8375000	2	4187500	98.665**
	试验误差	169700	4	42400	
	总和	8630000	8		
1988 年 小麦	土壤间	1565600	2	782800	0.98
	金属间	22142900	2	11071400	13.897*
	试验误差	3186500	4	796600	
	总和	26895000	8		

注: ①  $n_1 = 2, n_2 = 4$  时,  $F_{0.05} = 6.94, F_{0.01} = 18.00$ .

② \*—— $p = 0.05$  显著水平, \*\*—— $p = 0.01$  显著水平。



从表 8-1  $F$  检验看出, 无论 1987 年种稻还是 1988 年种麦, 土壤添加金属的  $EC_{50}$ , 在土壤类型间差异均不显著,  $F$  值均未达  $p = 0.05$  显著水平, 但在金属类型间,  $F$  值均可达到 0.01(1987 年种稻)或 0.05(1988 年种麦)显著水平。为查明金属类型间差异显著性究竟存在于哪几种元素之间, 作了新复极差  $LSR$  测验。结果(表 8-2)表明, 土壤添加金属  $EC_{50}$  差异显著性主要存在于 Pb 与 Cd, Pb 与 Cu 之间, 在 1987 年种稻后达到  $p = 0.01$  显著水平, 在 1988 年种麦后  $p = 0.05$  水平上显著。

表 8-2  $EC_{50}$  差异显著性的  $LSR$  测验结果Table 8-2 Results of  $LSR$  test for diversity significance of  $EC_{50}$ 

作物 Crop	测验项目 Test item	测验结果 Results of test				K	2	3			
						SSR 5%	3.93	4.01			
						SSR 1%	6.51	6.80			
1987 年 水稻	土壤添加 金属平均间	金属	$\bar{X}$	$\bar{X}-96$	$\bar{X}-104$	LSR 5%	467	476			
		Pb	2146	2050**					LSR 1%	774	808
		Cd	104	8							
		Cu	96								
1988 年 小麦		金属	$\bar{X}$	$\bar{X}-90$	$\bar{X}-148$	LSR 5%	2025	2066			
		Pb	3446	3356*	3298*				LSR 1%	3354	3504
		Cu	148	58							
		Cd	90								

\*—— $p = 0.05$  显著水平, \*\*—— $p = 0.01$  显著水平。

#### (四) 土壤金属临界浓度的确定

如何在表 6 建立的相关方程的基础上确定土壤金属临界浓度, 关键还在于规定临界剩余发光度的标准。我们以往对红壤所做的研究, 曾规定以剩余发光度 80% (即细菌发光处于轻度受抑) 和 100% (即细菌发光不受抑) 为二级临界发光度标准<sup>[3]</sup>。按照这个发光度标准所确定的土壤金属临界浓度与按照粮食减产 10% 水平或籽粒卫生标准所确定的土壤金属临界浓度也比较接近。但在此后的实践中发现, 二级临界发光度标准不便应用, 主要缺陷在于所定范围太宽, 容易使人无所适从。因此, 在此间对黄棕壤所作的研究中, 我们将其简化, 提出以剩余发光度 90% ( $EC_{10}$ ) 作为临界发光度标准, 代入表 6 相关方程, 解出土壤添加金属临界浓度 ( $\mu\text{g/g}$  土), 它们的顺序为:

水稻(第一季)  $\text{Pb}(488-587) > \text{Cu}(17.8-25.3) > \text{Cd}(1.11-2.12)$

小麦(第二季)  $\text{Pb}(888-919) > \text{Cu}(91.9-95.9) > \text{Cd}(18.5-19.4)$

由于 MICROTOX 法在国际上统一采用二种测定时间标准<sup>[13]</sup>: 5 分钟和 15 分钟标准。因此, 我们称以上临界浓度为土壤金属临界浓度的 MICROTOX<sub>(15)</sub> 标准。在以 MICROTOX 测定系统为前提下, 所获结果可相互比较。

又因土壤中高浓度重金属大都来源于人类生产活动(矿石开采、冶炼等), 因此上述临界浓度对控制土壤 Pb、Cu、Cd 污染有参考价值。

## 参 考 文 献

- [1] 顾宗藻等, 1983: 用生物发光计测定污染水体生物毒性. 环境科学, 第4卷5期, 30页.
- [2] 吴留松等, 1987: 应用发光细菌监测重金属污染土壤和底泥的总体生物毒性. 土壤, 第19卷3期, 145—147页.
- [3] 熊毅、李庆远主编, 1987: 中国土壤(第二版), 科学出版社.
- [4] 马育华编著, 1982: 试验统计. 204页, 农业出版社.
- [5] 顾宗藻等, 1987: 土壤中镉、砷、铅的微生物效应及其临界值. 土壤学报, 第24卷4期, 318页.
- [6] Peltier, W. & Weber, C. L., 1984: Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Aquatic Organisms, EPA-600/484-000. U. S. Environmental Protection Agency. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, Ohio.
- [7] Dutka, B. J. & Kwan, K. K., 1981: Comparison of three microbial toxicity screening tests with the Microtox test. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 27: 753—757.
- [8] Backman Instruments. Microtox System Operating Manual, 1982: Backman instruments 015—555279. Backman Clinical Diagnostics Division. Carlsbad, Calif.
- [9] Miller, W. P. et al., 1983: Distribution of cadmium, zinc, copper and lead in soils of industrial northwestern Indiana. J. Environ. Qual., 12: 29.
- [10] Welp, G. et al., 1986: Relationships between the solubility and microbial toxicity of environmental chemicals in different soils. Transaction-XIII congress of the international society of soil science. p. 653.
- [11] Koji Jimura, 1981: Chemical forms and behavior of heavy metals. in Heavy Metal Pollution in Soils of Japan. p. 195—215, edited by Kakuzo Kitagishi Ichiro Yamane, Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- [12] Bulich, B. J., 1986. Bioluminescence assays. in Toxicity Testing Using Microorganisms. V. 1, p. 57—74. ed. by Gabriel Bitton and Bernard J. Dutka, CRO Press, Inc., Florida, U. S. A.

## EVALUATION OF TOXICITY OF HEAVY METALS ADDED TO YELLOW-BROWN EARTH AND ESTIMATION OF THEIR CRITICAL CONCENTRATIONS

Gu Zonglian, Wu Liusong, Xie Siqin and Zhou Dezhi

(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing, 210008)

### Summary

The toxicity of yellow-brown earth added with Cu, Cd, or Pb was researched using the MICROTOX method in the process of successively growing of paddy and wheat in a pot experiment. It was confirmed that when three metal elements in yellowbrown earth were extracted by water, their concentrations were too low to display toxicity as contrasted with red soil; but when extracted by  $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ , their concentrations rose obviously and toxicity appeared.

The optimum quasi-conjunction equation between metal's concentration in soil and its remanent luminosity (toxicity index) was founded on the basis of correlation significance at  $p = 0.01$  level. The critical remanent luminosity of soils containing metals was defined as 90% ( $EC_{10}$ ). Accordingly, the critical concentrations of Pb, Cu and Cd in yellowbrown earth (grown with preceding crop) were estimated to be 488—587, 17.8—25.3 and 1.11—2.12 mg/kg soil, respectively.

### Key words

Biotoxicity, Heavy metal pollution