

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20140510006

李 波, 马义兵, 王学东. 我国土壤中重金属铜的生物配体模型的建立与应用[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(4): 632-639

Li B, Ma Y B, Wang X D. Development and application of biotic ligand model for copper in Chinese soils [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(4): 632-639 (in Chinese)

我国土壤中重金属铜的生物配体模型的建立与应用

李 波¹, 马义兵^{2,*}, 王学东³

1. 辽宁省农业科学院植物营养与环境资源研究所, 沈阳 110161

2. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081

3. 首都师范大学资源环境与旅游学院, 北京 100048

收稿日期: 2014-631-15 录用日期: 2014-07-30

摘要: 关于重金属污染的风险评价及其预测模型日益成为环境领域的研究热点。近年来, 一种用于预测和评价环境中重金属生物毒性的机理性模型—生物配体模型 (BLM) 被广泛应用于水体及陆地生态系统。本研究以我国土壤的陆地生物配体模型 (TBLM) 建构为目标, 以土壤溶液系统为媒介, 通过 17 种土壤上重金属铜离子与大麦根长的相互作用关系, 发现了土壤中 Cu - TBLM 的主要影响因素为 Cu^{2+} 、 CuOH^+ 、 Mg^{2+} 以及铜离子与大麦根系表面的专性结合能力。基于模型大麦根长预测值与实测值之间的相关关系, 通过数学拟合功能求得 TBLM 中各参数值为 $\log K_{\text{CuBL}} = 4.87$ 、 $\log K_{\text{CuOH}^+} = 7.62$ 、 $\log K_{\text{MgBL}} = 1.91$ 、 $\beta = 0.103$ 、 $\beta = 1.09$ 。本研究所得到的 TBLM 模型能很好地预测我国土壤中铜对大麦根长的毒害程度, 预测值与实测值的相关性达到了 90%。本研究结果不仅可以为我们降低重金属离子生物有效性提供有力的理论借鉴, 更对我国土壤环境质量保护和长期良性可持续发展具有重要意义。

关键词: 铜; 大麦根长; 陆地生物配体模型; 毒性预测

文章编号: 1673-5897(2014)4-632-08 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Development and Application of Biotic Ligand Model for Copper in Chinese Soils

Li Bo¹, Ma Yibing^{2,*}, Wang Xuedong³

1. Institute of Plant Nutrition and Environmental Resources, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161, China

2. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

3. The Key Lab of Resource Environment and GIS, College of Resource Environment & Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048, China

Received 15 May 2014 accepted 30 July 2014

Abstract: The terrestrial biotic ligand model (TBLM) is a newly developed method for evaluating bioavailability of heavy metal ion in soils. Seventeen soil samples covering China were selected in this study by adding a series of Cu concentrations. The soil solutions were extracted according to the method of maximum water

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 20677077; No. 40620120436) 和国际铜业协会, 澳大利亚力拓矿业集团资助

作者简介: 李波 (1979-), 女, 博士, 主要从事土壤重金属污染毒理与修复研究. E-mail: libocaas@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: ybma@caas.ac.cn

holding capacity. The cation and anion concentrations as well as dissolved organic carbon (DOC) in soil solutions were measured for the predictions of Cu (Cu^{2+} and CuOH^+ especially at high - pH conditions) and Mg ion activities. The WHAM 6 model was used to predict free Cu^{2+} , CuOH^+ and Mg^{2+} activities using 65% DOM as active fluvic acid (FA) and adjusted binding constant $\log K_{\text{CuFA}} = 1.5$. The predicted ion activities and measured barley relative root elongation as variables were input into TBLM equation, and binding constants and parameters were fitted out as $\log K_{\text{CuBL}} = 4.87$, $\log K_{\text{CuOH}^+} = 7.62$, $\log K \beta = 1.09$ by DPS statistic software according the best agreement between measured and predicted barley relative root lengths. The results showed that predicted and measured barley root elongation can match quite well with an $R^2 = 0.90$, RMSE = 11.4 and almost all predicted values lied within 2-fold of measured values. In order to ensure accuracy of TBLM in our study, some parameters from relative studies were compared with the values in this study, which showed that our TBLM was better than others and more suitable for Cu prediction of bioavailability in Chinese soils because a series of high-pH soils samples were included. The study will help a lot on formulating guidance of soil environment risk assessments not only for China but for the other areas around world.

Keywords: copper; barley; terrestrial biotic ligand model; toxicity prediction

众所周知,土壤中重金属离子的全量不能很好地评价其生物有效性,真正作用于土壤生物体的重金属离子只占全量的很小部分^[1-3]。土壤溶液是金属离子与生物体作用的媒介,水溶性金属离子被认为是作用于植物根系最直接、最有效的形态^[4-5]。以铜为例,土壤溶液中总铜含量与植物生长效应具有很好的相关性^[4,6],但这种经验的剂量-效应关系很难从机理层面解释铜离子与土壤中共存生物体的相互作用关系。

近几年来,应用生物配体模型(BLM)理论解释溶液中金属离子对植物、动物、微生物的毒性作用的报道逐渐增多^[7-10]。该模型将生物受体位点作为生物配体,假设当结合在具有生理活性的生物受体位点的重金属达到一定量时,毒性就可能发生。模型考虑了影响生物毒性的溶液组成性质以及具有生物有效性的金属离子比例,在水质、土壤毒性预测上取得了一定的成绩^[9-11]。与水体BLM相似,土壤中的生物配体模型(陆地生物配体模型,TBLM)把土壤溶液相作为金属离子与生物体作用的媒介,一切作用的发生都以这个媒介为基础,然而,不同的是TBLM相对于水体BLM来说更加复杂,土壤作为土壤溶液成分的供给源引入了更多不可控制的因素。目前关于TBLM的研究还只处于探索阶段^[12-13]。TBLM模型以有效态金属离子为研究出发点,任何影响金属离子有效性的因子都应该被模型所考虑。以铜离子为例,土壤溶液中铜离子有效性与自由铜离子活度、生物配体专性作用位点、以及其他可能具有生物有效性的铜离子形态有关,同时,自由铜离子

活度还受土壤溶液中共存竞争阳离子数量(如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等)、可溶性有机碳(DOC)浓度以及pH的影响。本研究以我国17种土壤中铜离子的TBLM建构为研究目标,从土壤中有效性铜离子形态与植物毒性反应关系入手,针对不同土壤类型中铜的有效性及影响因素,从机理角度解释土壤中铜离子与植物根系的相互作用关系,探讨TBLM在我国土壤上的预测能力及应用性。

1 材料与方法(Materids and methods)

1.1 土壤溶液参数测量

取我国范围内17种代表性的土壤样本,土壤基本理化性状如表1^[13]。添加外源铜以 CuCl_2 形式,共设8个浓度梯度,浓度范围根据土壤pH变化在0~2400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间。不同土壤的每个浓度处理都进行土壤溶液参数测量,土壤溶液的提取方法根据最大持水量方法^[14],提取液离心过滤后于4℃保存,主要测定土壤溶液参数包括阴阳离子浓度即 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 H^+ 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 CO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 及DOC(可溶性有机碳)浓度等。阳离子浓度使用ICP-AES测定^[15],阴离子的浓度采用离子色谱法测定,DOC浓度使用全碳检测仪测定。测量结果见表2。

1.2 植物毒性试验

根据ISO 11269-1^[16]大麦根伸长毒性试验的标准方法,取风干的污染土壤样品每个处理360g,装入自制根长生长筒内(内径3.5cm,高12cm),3次重复,保持最大持水量(WHC)的60%培养7d后,种植预发芽的大麦种子4粒到根长生长筒内,置于

人工气候箱内生长,生长条件为白天 14 h (22 °C), 夜间 10 h (18 °C),光照强度为 24 000 lux·m⁻²,水分湿度为 70%,保持整个试验过程中土壤含水量为最大持水量的 60%,5 d 后收集大麦根,清洗后测定每个重复内每株大麦的最长的根长,并求均值。

1.3 TBLM 的建立

1.3.1 土壤溶液中铜离子活度测量

使用 Orion 94-29 铜离子选择电极(Thermo Electron Corporation, USA)测量土壤溶液中铜离子活度^[17]。由于土壤样本较大以及污染处理较多,本研究仅选取 17 个土壤样品的两个污染浓度,即约为大麦根伸长 10% (EC10) 及 50% (EC50) 抑制时的浓度水平^[18]。电极标准溶液使用各 5 mL 1 mol·L⁻¹ Cu(NO₃)₂、0.01 mol·L⁻¹ IDA、0.025 mol·L⁻¹ KHC₈H₄O₄、0.1 mol·L⁻¹ KNO₃ 及不同体积的 0.02 mol·L⁻¹ NaOH (1~10 mL) 配置^[13]。根据电极标准溶液测定结果绘制电极电位 mV 对 pCu (自由离子活度的负对数) 标准曲线图,标准溶液的 pCu 结果使用 WHAM 6^[19] 模型计算。测量土壤溶液中铜离子的电极电位,根据标准曲线图查出相应的 pCu 值。

1.3.2 土壤溶液中铜离子活度的预测

由于使用离子选择电极测量铜离子活度操作比较耗时,且无法得到铜离子活度之外的其他溶液指标,因此,本研究使用 WHAM 6^[19] 模型预测大麦根伸长 EC10 及 EC50 时土壤溶液中的铜离子活度以及其他竞争阳离子活度,并根据测量的 pCu 校正 WHAM 6 模型预测的 pCu,使模型对所有浓度梯度预测时,不发生太大的偏离。输入模型的参数为土壤溶液中 Ca²⁺、Mg²⁺、Na⁺、K⁺、H⁺、Al³⁺、Fe³⁺、CO₃²⁻、NO₃⁻、Cl⁻、SO₄²⁻、DOC 浓度,Cl⁻ 浓度大致为 NO₃⁻ 摩尔浓度的 3 倍,体系正负电荷平衡通过调节 Cl⁻ 浓度完成,输入的温度为 293 K,CO₂ 分压(P_{CO2})为 10⁻³⁵ atm。溶液的 DOC 在 WHAM 模型中被认为是 100% 的 FA(富里酸),且 FA = DOM = 2 DOC。由于 WHAM 6 中 FA 的默认参数大多基于欧洲水体及高有机质土壤的背景值获得,很难代表我国农田土壤 DOC 的状态,为了保证模型预测的准确性,进一步减少 TBLM 建模的误差,本研究中根据测量与预测的 pCu 的匹配程度,校正 WHAM 6 模型中 FA 的默认结合常数,使 WHAM 6 模型能够很好地预测我国土壤溶液中铜离子活度。

表 1 17 种土壤的基本理化性状
Table 1 Selected physicochemical properties of soil used in this experiment

代号 No.	地点 Site	采集地经纬度 Longitude, latitude	pH 15	电导率 (μS·cm ⁻¹) EC/(μS·cm ⁻¹)	阳离子交换量 (cmol ⁺ ·kg ⁻¹) CEC/(cmol ⁺ ·kg ⁻¹)	有机碳/% OC/%	<2 μm 粘粒比例 <2 μm clay/%
1	海口(Haikou)	19°55'N,111°29'E	4.93	111	8.75	1.51	66
2	祁阳(Qiyang)	26°45'N,111°52'E	5.31	74	7.47	0.87	46
3	海伦(Hailun)	47°28'N,126°57'E	6.56	153	33.6	3.03	40
4	嘉兴(Jiaxing)	30°77'N,120°76'E	6.70	159	19.3	1.42	39
5	杭州(Hangzhou)	30°26'N,120°25'E	6.80	203	12.8	2.46	41
6	重庆(Chongqing)	30°26'N,106°26'E	7.12	71	22.3	0.99	27
7	广州(Guangzhou)	23°10'N,113°18'E	7.27	137	8.30	1.47	25
8	灵山(Lingshan)	39°55'N,116°8'E	7.48	93	22.7	4.28	20
9	呼伦贝尔(Hulunber)	46°03'N,122°03'E	7.66	888	22.7	2.66	37
10	公主岭(Gongzhuling)	42°40'N,124°88'E	7.82	147	28.8	2.17	45
11	石家庄(Shijiazhuang)	38°03'N,114°26'E	8.19	302	11.7	1.00	10
12	乌鲁木齐(Urumchi)	43°95'N,87°46'E	8.72	227	10.3	0.87	25
13	杨凌(Yangling)	34°19'N,108°0'E	8.83	83	8.46	0.62	16
14	廊坊(Langfang)	39°31'N,116°44'E	8.84	5.7	6.36	0.6	21
15	郑州(Zhengzhou)	34°47'N,112°40'E	8.86	109	8.51	1.57	28
16	张掖(Zhangye)	38°56'N,100°27'E	8.86	152	8.08	1.02	20
17	德州(Dezhou)	37°20'N,116°29'E	8.90	112	8.33	0.69	18

表 2 17 个土壤样本的土壤溶液参数
Table 2 Soil solution parameters measured for Cu added to 17 soils by extracting soil solution

铜范围			土壤溶液中阴阳离子的浓度范围/(mg·kg ⁻¹)							
土壤	/(mg·kg ⁻¹)	pH 范围	DOC 范围	Ion concentration variations in soil solutions/(mg·kg ⁻¹)						
代号	Cu added	pH	/(mg·kg ⁻¹)							
Soil No.	variations	variations	DOC variations	Cu ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Fe ³⁺	SO ₄ ²⁻
	/(mg·kg ⁻¹)		/(mg·kg ⁻¹)							
1	0-800	4.94-5.44	86-314	0.05-137	50.4-494	16.8-148	46.8-156	18.8-46.8	0.66-27.9	3.45-7.91
2	0-800	3.98-5.83	148-241	0.05-184	187-1 430	23.6-163	12.0-70.1	26.8-51.2	0.60-18.3	42.6-70.3
3	0-2 400	4.95-9.97	185-314	0.02-19.5	168-3 313	41.4-752	3.14-16.6	20.1-65.1	0.15-0.64	33.2-58.7
4	0-1 600	4.83-7.21	117-317	0.05-54.8	353-2 784	81.5-599	7.20-25.0	154-409	0.11-1.36	79.1-119
5	0-1 600	5.53-7.23	286-610	0.07-24.3	438-2 456	78.3-383	34.2-78.2	135-228	0.11-0.91	218-255
6	0-1 600	4.71-7.73	176-249	0.05-183	134-3 163	11.4-268	2.24-6.06	13.4-46.3	0.18-1.35	12.8-52.6
7	0-2 400	4.68-7.81	259-424	0.05-225	283-3 600	16.1-194	31.5-132	38.9-72.7	0.14-2.48	66.6-187
8	0-2 400	5.64-7.53	417-663	0.05-9.06	219-3 125	38.3-514	31.4-113	6.10-15.8	0.30-0.77	38.3-47.1
9	0-2 400	6.04-7.59	337-464	0.04-16.8	354-1 381	483-1 317	16.4-48.5	2 128-3 979	0.07-0.15	721-1 188
10	0-2 400	7.21-8.01	130-242	0.03-1.96	239-2 954	22.1-265	5.44-18.8	12.0-31.5	0.01-0.37	39.4-51.6
11	0-2 400	7.32-7.96	207-391	0.03-2.02	730-4 963	104-501	8.11-21.0	69.0-121	0.09-0.83	348-424
12	0-2 400	7.53-8.29	294-362	0.06-2.08	444-2 650	90.3-473	51.5-120	605-955	0.09-0.67	389-510
13	0-2 400	7.47-8.2	53-119	0.02-0.52	236-5 275	18.9-266	11.8-43.7	19.3-35.7	0.02-0.05	29.3-50.7
14	0-2 400	7.05-8.16	142-215	0.07-2.98	155-3 675	22.1-301	22.5-78.7	18.5-37.5	0.14-1.36	42.2-57.5
15	0-2 400	7.37-8.31	131-190	0.04-1.21	169-3 325	38.6-430	4.10-15.0	65.4-115	0.10-0.76	74.6-81.8
16	0-2 400	8.06-8.29	204-243	0.06-0.78	132-735	42.7-220	8.90-16.9	42.4-109	0.02-0.04	28.7-148
17	0-2 400	7.46-8.18	130-242	0.03-1.21	248-3 050	95.1-649	1.60-4.97	248-430	0.14-2.91	108-123

1.3.3 TBLM 的建立

根据 Wang 等^[20]研究结果,即除二价铜离子(Cu²⁺)之外,羟基铜离子(CuOH⁺)在高 pH 条件下具有很强的毒性,考虑到我国土壤背景中大部分土壤的 pH 高于 7,因此在 TBLM 建模时 Cu²⁺与 CuOH⁺被同时考虑为生物有效性的铜离子形态。此外,Mg²⁺可以与 Cu²⁺竞争大麦根表面的结合位点,因此被作为 Cu²⁺毒性消减作用的唯一离子^[20]。最终输入到 TBLM 模型的变量锁定为{Cu²⁺} (离子活度形式)、{CuOH⁺}、{Mg²⁺}以及大麦根长相对长度 RE,TBLM 方程为^[13]:

$$RE(Cu) = \frac{100}{1 + \left(\frac{K_{CuBL} \{Cu^{2+}\} + K_{CuOHBL} \{CuOH^{+}\}}{f^{50\%} (1 + K_{CuBL} \{Cu^{2+}\} + K_{CuOHBL} \{CuOH^{+}\} + K_{MgBL} \{Mg^{2+}\})} \right)^{\beta}}$$

由于每个供试土壤共有 8 个浓度梯度,那么测得的 17 个供试土壤的土壤溶液参数共计 136 个变量组(表 2),输入 136 个变量组的浓度值到校正的 WHAM 6 模型中,模型预测得到 TBLM 方程中所需的所有离子活度的变量值(如表 3),将表 3 的变量值输入到 DPS 9.0 软件(<http://www.chinadps.net/index.htm>)的数据表中,依据建模方程中大麦根长预测值与实际测量值之间的最小残差平方和(RMSE),应用软件的数据拟合功能获得方程的条件结合常数数值即 logK_{CuBL}、logK_{CuOHBL}、logK_{MgBL}、f^{50%}、β 数值。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 WHAM 6 模型校正结果

根据测量的与模型预测的 pCu 的一致程度,采用最大相关系数及最小残差平方和法校正 WHAM 6 化学模型中 FA 默认参数。研究发现我国农业土壤的 DOC 对铜的络合能力与 WHAM 6 中默认的络合能力相差很大,即我国农业土壤的 DOC 远小于模型默认能力。通常来说,WHAM 6 中 65% 的 FA 被认为是活性的 FA^[21-24],而对于我国土壤来说,只有当铜与 FA 的结合常数 logK_{CuFA}从默认的 2.1(图 1a)下降到 1.5(图 1b)时,测量与预测的 pCu 才最吻合,此时两者的相关系数 R²从 0.51 增加到 0.74,方程的斜率值从 0.931 增加到 1.005(图 1)。因此,输入到 WHAM 6 中 DOC 参数为 FA = 2 × DOC × 0.65,并 logK_{CuFA} = 1.5。

2.2 TBLM 模型建立

输入表 2 中 136 个土壤溶液变量组到校正的 WHAM 6 模型,得到的铜离子和其他阳离子的活度见表 3。从表 3 发现,在 pH < 7.3 的土壤里,铜离子活度占总溶解性铜的 40% 以内,且与土壤 pH 呈负相关;pH > 7.3 的土壤里,铜离子活度仅占总溶解性铜的 15% 以内,大部分铜离子与 DOM 结合起来,失去活性。此外,总体上{Cu²⁺}显著高于{CuOH⁺},{Ca²⁺}离子活度高于{Mg²⁺}。输入表 3 中变量到 DPS 9.0 数据表中,根据大麦根长的预测值与测量值

之间的相关关系,拟合得到各参数值为 $\log K_{\text{CuBL}} = 4.87$ 、 $\log K_{\text{CuOHBL}} = 7.62$ 、 $\log K_{\text{MgBL}} = 1.91$ 、 $\sqrt{f^{60\%}} = 0.103$ 、 $\beta = 1.09$ 。预测和测量的大麦根长的相关关系如图 2a 所示,其中残差平方和 $RMSE = 11.4$,相关系数

$R^2 = 0.90$ 。总体看来大麦根长的预测结果很好,基本所有的预测值都落在实际测量值 2 倍的范围内 (图 2b),意味着 TBLM 能够很好地预测我国土壤中铜对大麦根长生长的毒害程度。

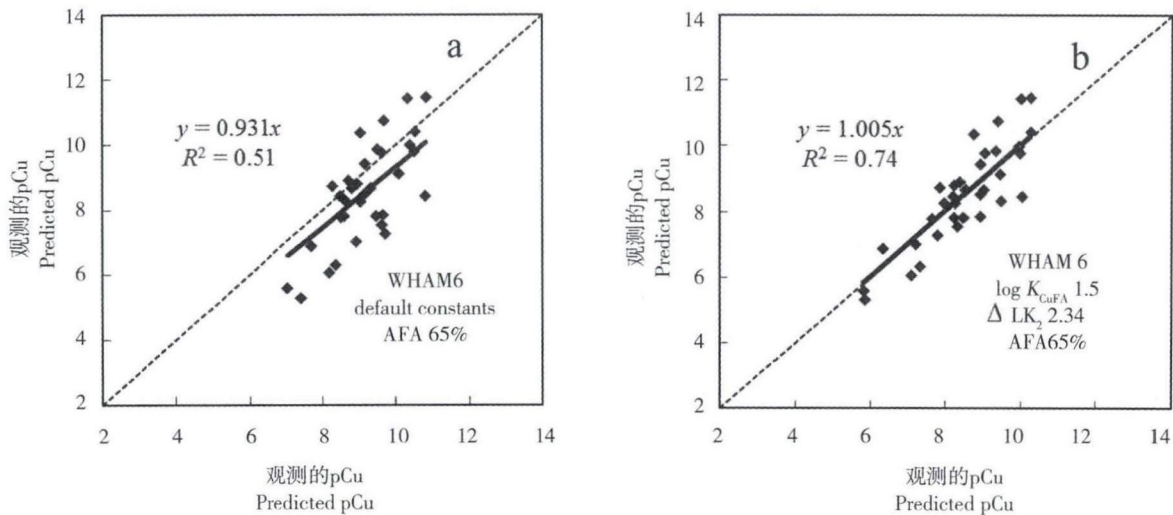


图 1 铜离子选择电极测量的 pCu 与 WHAM 6 模型预测的 pCu 的相关性

Fig. 1 Comparison between measured and predicted pCu. The predictions were made with WHAM 6 using default parameter values and 65% AFA (a), optimized parameter values and 65% AFA (b).

表 3 土壤溶液离子活度预测值及大麦根长值

Table 3 Relative cation activity predicated using soil solution parameter for 17 Cu added soils

土壤 代号 Soil No.	各离子活度范围/ $-\log(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ Cation activity variations/ $-\log(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$					测量相对根 长均值 Averages of measured values	预测相对根 长均值 Averages of predicted values	$\{\text{Cu}^{2+}\}$ /总溶解 Cu/% $\{\text{Cu}^{2+}\}$ /total dissolved Cu /%
	Cu^{2+}	CuOH^+	H^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}			
1	3.05 ~ 7.94	6.67 ~ 10.69	4.06 ~ 4.94	2.57 ~ 3.38	2.27 ~ 3.14	54.1	57.2	1.46 ~ 51.1
2	3.01 ~ 8.11	7.03 ~ 10.36	1.98 ~ 5.83	2.62 ~ 3.30	1.90 ~ 2.58	45.0	50.1	0.99 ~ 39.1
3	4.15 ~ 12.07	6.89 ~ 12.79	4.95 ~ 6.97	2.06 ~ 3.08	1.64 ~ 2.72	68.4	74.7	0.01 ~ 23.1
4	3.66 ~ 9.92	6.53 ~ 10.39	4.82 ~ 7.21	2.15 ~ 2.83	1.70 ~ 2.41	62.9	71.6	0.02 ~ 25.3
5	4.13 ~ 10.23	6.29 ~ 11.0	5.53 ~ 7.23	2.33 ~ 2.95	1.75 ~ 2.43	64.9	67.4	0.01 ~ 19.4
6	3.1 ~ 11.47	6.08 ~ 11.43	4.71 ~ 7.73	2.48 ~ 3.61	1.63 ~ 2.80	68.0	63.8	0.01 ~ 27.5
7	3.04 ~ 11.44	6.04 ~ 11.37	4.68 ~ 7.81	2.64 ~ 3.62	1.59 ~ 2.54	59.9	64.1	0.01 ~ 25.7
8	4.75 ~ 12.28	6.8 ~ 12.44	5.64 ~ 7.53	2.21 ~ 3.16	1.65 ~ 2.69	74.3	73.9	0.01 ~ 12.5
9	4.57 ~ 12.22	6.22 ~ 12.32	6.04 ~ 7.96	1.91 ~ 2.31	2.11 ~ 2.67	63.9	72.7	0.01 ~ 10.2
10	6.93 ~ 12.21	7.41 ~ 11.90	7.20 ~ 7.96	2.48 ~ 3.32	1.65 ~ 2.53	75.3	80.6	0.01 ~ 0.38
11	7.32 ~ 12.17	7.69 ~ 11.91	7.32 ~ 7.96	2.28 ~ 2.84	1.51 ~ 2.22	54.4	65.7	0.01 ~ 0.15
12	7.61 ~ 12.62	7.76 ~ 12.02	7.62 ~ 8.29	2.29 ~ 2.95	1.77 ~ 2.49	68.3	63.9	0.01 ~ 0.07
13	7.68 ~ 12.04	7.90 ~ 11.53	7.47 ~ 8.2	2.54 ~ 3.38	1.46 ~ 2.51	70.9	77.7	0.01 ~ 0.26
14	5.85 ~ 11.56	6.32 ~ 11.08	7.05 ~ 8.16	2.45 ~ 3.31	1.58 ~ 2.71	56.0	40.3	0.01 ~ 3.01
15	7.12 ~ 12.60	7.43 ~ 11.97	7.37 ~ 8.31	2.29 ~ 3.11	1.62 ~ 2.72	62.9	64.2	0.10 ~ 0.40
16	8.75 ~ 12.77	8.38 ~ 12.06	8.06 ~ 8.40	2.49 ~ 3.05	2.16 ~ 2.83	76.7	87.4	0.001 ~ 0.01
17	7.53 ~ 12.32	7.61 ~ 11.82	7.46 ~ 8.18	2.12 ~ 2.77	1.67 ~ 2.59	64.9	65.7	0.01 ~ 0.15

2.3 TBLM 验证

为了进一步确定本研究结果的准确性,我们应用王学东等^[12]大麦根长水培试验得到的参数值即 $\log K_{\text{CuBL}} = 6.57$ 、 $\log K_{\text{CuOHBL}} = 7.03$ 、 $\log K_{\text{MgBL}} = 3.00$ 代入到以上 TBLM 方程中,通过 DPS 软件数据拟合得到 $f^{50\%} = 0.047$ 、 $\beta = 0.625$,预测值与实测值的相关系数 $R^2 = 0.51$, $RMSE = 22.47$,说明模型预测能力很差(表 4)。此外,我们也使用 Thakali 等^[9]中得到的参数 $f^{50\%} = 0.05$ 、 $\beta = 0.96$ 以及王学东等(2008)得到的结合常数 $\log K_{\text{CuBL}} = 6.57$ 、 $\log K_{\text{CuOHBL}} = 7.03$ 、 $\log K_{\text{MgBL}} = 3.00$ 代入到 TBLM 方程中,结果发现模型的预测能力也很差,即 $R^2 = 0.56$, $RMSE = 23.71$ 。尽管本研究得到的 TBLM 模型不尽完美,仍有一些数值偏离实测值两倍的范围区间,但相对于 Thakali 等^[9]基于欧洲非碳酸盐土壤的 TBLM 模型($RMSE = 15.4$; $R^2 = 0.85$)却有很大的提高(表 4)。此外, Thakali 等^[9]选取的土壤样本 pH 较低,有机质含量较高,而我国碳酸盐土壤比例较大,有机质含量较

低,基于我国土壤背景得到的 TBLM 更能针对我国土壤的分布特点,从机理上解释土壤溶液系统中铜与植物根系作用的方式。

2.4 TBLM 建模的影响因素

由于 DOC 对铜有很强的络合能力,在污染较轻的土壤上,几乎 90% 以上的铜以 DOC 络合形式存在,因此,DOC 的浓度及结构差异对铜的生物有效性影响很大。通常来说,酸性土壤溶液中的 DOC 比中性与碱性土壤络合能力低,主要因为酸性土壤中 H^+ 含量高, H^+ 可以占据 DOC 与 Cu^{2+} 的结合位点,降低 DOC 对铜的络合能力^[9]。本研究中没有引入不同 pH 土壤的 DOC 差异,主要是在模型校正时没有发现极异常数据值。其次,DOC 因来源不同,结构差异很大,一般来源于农业土壤的 DOC 要比来源于有机肥、秸秆腐熟物等 DOC 芳香度低,也就是说来源于农业土壤的 DOC 含有较多的羧基、较少的芳香基^[25-26],从而导致前者的络合能力相对较低,因此,追溯农业土壤的外源有机物来源及添加量

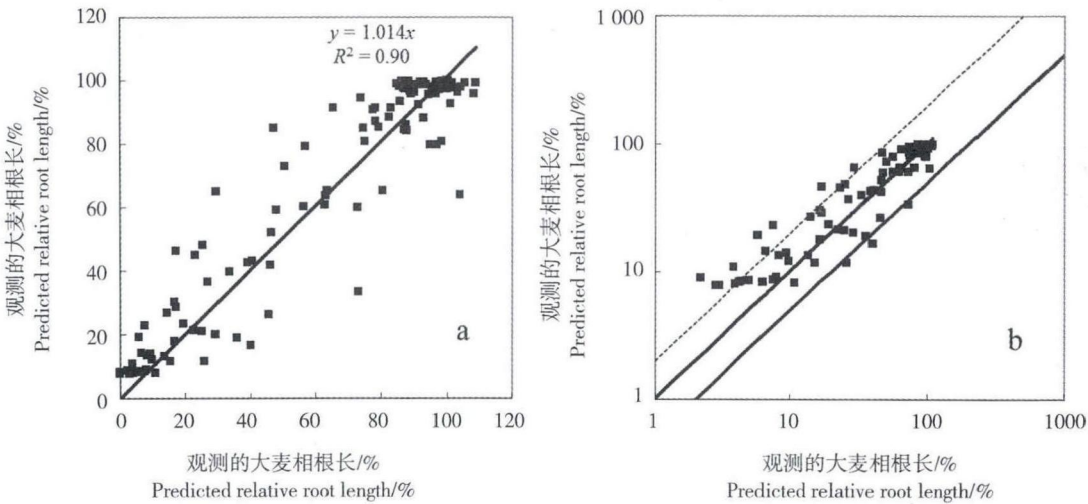


图 2 大麦根长的测量值和预测值的相关性。其中 a 为百分数、b 为对数转换值

Fig. 2 The relationship between the measured and predicted barley relative root lengths, and a (%) and b (log-transformed) represent Cu toxicity results

表 4 不同研究得到的大麦根系与铜离子结合的生物配体模型参数

Table 4 The BLM parameters based on barley root and Cu ion binding from different studies								
参考文献 Reference	$\log K_{\text{CuBL}}$	$\log K_{\text{CuOHBL}}$	$\log K_{\text{MgBL}}$	$\log K_{\text{HBL}}$	β	$f^{50\%}$	RMSE	R^2
王学东 ^[12] Wang X D ^[12]	6.57	7.03	3.00		0.047	0.625	22.5	0.51
Thakali ^[9]	7.41			6.48	0.96	0.05	15.4	0.85
本研究 This study	4.87	7.62	1.91		1.09	0.103	11.4	0.90

对于模型准确建构具有一定的作用。再次,不同土壤溶液的提取方法产生的效果不同。MacDonald 等^[27]提出使用渗透方法提取土壤溶液,能够较好地模拟了田间土壤的化学性质,而采用离心、压力、抽气等方法提取的土壤溶解性离子的浓度要大于渗透方法测得的离子浓度。因此,正确的土壤溶液提取方法对 TBLM 的准确建立起到非常重要的作用。

此外,不同的生物配体对 TBLM 的建构影响很大。Thakali 等^[9-10]基于 $\text{pH} \leq 7.0$ 的欧洲土壤的植物生长和微生物活性抑制试验建立了适合欧洲非碱性土壤的 TBLM,研究发现对于土壤硝化细菌来说降低铜害的竞争离子为 H^+ 与 Mg^{2+} ,而对于大麦根长与西红柿茎叶生长来说竞争离子仅为 H^+ ;然而,Lock 等^[28]基于非碱性溶液培养试验的研究发现降低大麦根长铜害的竞争离子为 H^+ 与 Mg^{2+} 。王学东等^[12,20]通过大麦根长水培试验,进一步验证了 Mg^{2+} 的竞争作用;并通过 pH 范围试验,发现了除 Cu^{2+} 之外, CuOH^+ 的毒害作用,进一步解释了低 pH 条件下 H^+ 对 Cu^{2+} 的竞争作用^[9,28] 只是一种假象,而实际上是由于 pH 的升高,生成了 CuOH^+ 这种比 Cu^{2+} 毒性更强的形态。由于本研究中大部分土壤 pH 超过 7,因此,选用王学东的研究结果构建我国 TBLM。值得注意的是,不同生物配体与铜离子的结合能力(以 $\log K$ 表示)有所不同,对于西红柿茎叶生长来说,虽然竞争离子与大麦根长相同,但络合常数 $\log K$ 却有显著差异^[9-10]。Cheng 等^[29]研究了铜对生菜的毒性,估算生菜根系与铜的结合常数($\log K$)变化在 11.15 ~ 12.16 之间;Antunes 等^[30]通过小麦培养试验发现了铜浓度不同时小麦根和铜的结合常数($\log K$)不同,变化范围在 4.07 ~ 9.06 之间。本研究得到的结合常数远小于生菜根与铜的结合常数,而与小麦根结合常数变化区间较为一致,可能由于大麦与小麦植物科属相近所致。

总之,BLM 是一个机理性的模型,能够从机理角度摸清土壤生物体与金属离子的相互作用关系,是一个能够替代生物毒性试验来预测金属毒性的有用工具。尽管模型现在存在着局限性,但随着对痕量金属吸收过程中的化学、生理学和生物学过程的深入理解,这些问题将会逐步得到解决,未来 BLM 既面临挑战又有着广阔的应用和发展前景。

通讯作者简介:马义兵(1957—),男,博士,研究员,主要研究方向为土壤重金属环境化学、风险评价与治理,发表学术论

文 160 余篇。

参考文献:

- [1] Sauvé S, McBride M B, Norvell W A, et al. Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: Effects of copper level, pH and organic matter [J]. Water, Air and Soil Pollution, 1997, 100(1-2): 133-149
- [2] McLaughlin M J. Bioavailability of metals to terrestrial plants. In Allen H E (Ed.). Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems: Influence of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes and Plants [M]. Pensacola, FL: SETAC Press, 2000: 39-67
- [3] Nolan A L, Lombi E, McLaughlin M J. Metal bioaccumulation and toxicity in soils: Why bother with speciation? [J]. Australian Journal of Chemistry, 2003, 56(3): 77-91
- [4] Zhao F J, Rooney C P, Zhang H, et al. Comparison of soil solution speciation and diffusive gradients in thin-films measurement as an indicator of copper bioavailability to plants [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(3): 733-742
- [5] Song J, Zhao F J, Luo Y M, et al. Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils [J]. Environmental Pollution, 2004, 128(3): 307-315
- [6] Sauvé S, Hendershot W, Allen H E. Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: Dependence on pH, total metal burden and organic matter [J]. Environmental Science and Technology, 2000, 34(7): 1125-1131
- [7] Niyogi S, Wood C M. Biotic ligand model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals [J]. Environmental Science and Technology, 2004, 38(23): 6177-6192
- [8] Slaveykova V I, Wilkinson K J. Predicting the bioavailability of metal complexes: Critical review of the biotic ligand model [J]. Environmental Chemistry, 2005, 2(1): 9-24
- [9] Thakali S, Allen H E, Di Toro D M, et al. A terrestrial biotic ligand model. 1. Development and application to Cu and Ni toxicity to barley root elongation in soils [J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(22): 7085-7093
- [10] Thakali S, Allen H E, Di Toro D M, et al. A terrestrial biotic ligand model. 2. Application to Ni and Cu toxicities to plants, invertebrates, and microbes in soil [J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(22): 7094-7100

- [11] 黄圣彪. 水环境中铜形态与其生物有效性/毒性关系及其预测模型研究[D]. 北京, 中国科学院生态环境研究中心, 2003
Huang S B. Measurement and prediction in the toxic/bioavailable concentration of copper in natural water [D]. Beijing, Research Center for Eco - Environmental Sciences, 2003 (in Chinese)
- [12] 王学东, 马义兵, 华路, 张璇. 铜对大麦的急性毒性预测模型 - 生物配体模型研究[J]. 环境科学学报, 2008, 28(8): 1704 - 1712
Wang X D, Ma Y B, Hua L, et al. Development of Biotic Ligand Model (BLM) predicting copper acute toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 28(8): 1704 - 1712 (in Chinese)
- [13] 李波. 外源重金属铜、镍的植物毒害及预测模型研究[D]. 北京, 中国农业科学院, 2010
Li B. The Phytotoxicity of added copper and nickel to soils and predictive models [D]. Beijing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010 (in Chinese)
- [14] Thibault D H, Sheppard M I. A disposable system for soil pore - water extraction by centrifugation [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1992, 23(13): 1629 - 1641
- [15] Zarcinas B A, McLaughlin M J, Smart M K. The effect of acid digestion technique on the performance of nebulisation systems used in inductively coupled plasma spectrometry [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1996, 27(5 - 8): 1331 - 1354
- [16] International Organization for Standardization. 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. 1993
- [17] Sauvé S, McBride M B, Hendershot W H. Ion - selective electrode measurements of copper (II) activity in contaminated soils [J]. *Archives Environment Contamination Toxicology*, 1995, 29(3): 373 - 379
- [18] Li B, Ma Y B, McLaughlin M J, et al. Influences of soil properties and leaching on copper toxicity to barley root elongation [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(4): 835 - 842
- [19] Tipping E. Humic Ion Binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances [J]. *Aquatic Geochemistry*, 1998, 4(1): 3 - 48
- [20] Wang X D, Ma Y B, Hua L, et al. Identification of CuOH^+ toxicity to barley root elongation in solution culture [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2009, 28(3): 662 - 667
- [21] Weng L P, Temminghoff E J M, Lofts S, et al. Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metal in a sandy soil [J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36(22): 4804 - 4810
- [22] Van Laer L, Smolders E, Degryse F, et al. Speciation of nickel in surface waters measured with the Donnan membrane technique [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 578(2): 195 - 202
- [23] Oorts K, Bronckers H, Smolders E. Discrepancy of the microbial response to elevated Cu between freshly spiked and long - term contaminated soils [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(3): 845 - 853
- [24] 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.
- [25] Weishaar J L, Aiken G R, Bergamaschi B A, et al. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon [J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(20): 4702 - 4708
- [26] Grybos M, Davranche M, Gruau G, et al. Is trace metal release in wetland soils controlled by organic matter mobility or Fe - oxyhydroxides reduction? [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 314(2): 490 - 501
- [27] MacDonald J D, Belanger N, Hendershot W H. Column leaching using dry soil to estimate solid - solution partitioning observed in zero - tension lysimeters. 2 Trace metals [J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2004, 13(4): 375 - 390
- [28] Lock K, Criel P, De Schampelaere K A C, et al. Influence of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH on copper toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68: 299 - 304
- [29] Cheng T, Allen H E. Prediction of uptake copper from solution by lettuce (*Lactuca sativa* romaine) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 20(11): 2544 - 2551
- [30] Antunes P M C. Beyond the free - ion activity model: The biotic ligand model for estimating copper uptake by durum wheat [D]. Guelph, University of Guelph, 2004