

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2020.0101

操庆, 刘伟京, 谢丽强, 等. 2020. 土壤添加不同粘土矿物对微囊藻毒素在生菜中生物富集的影响[J]. 环境科学学报, 40(8): 2986-2992

Cao Q, Liu W J, Xie L Q, et al. 2020. Effects of different kinds of clay mineral soil amendment on bioaccumulation of microcystins in lettuce[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 40(8): 2986-2992

土壤添加不同粘土矿物对微囊藻毒素在生菜中生物富集的影响

操庆^{1,2,3}, 刘伟京³, 谢丽强², 尤本胜³, 姜伟立³, 顾毓蓉², 杨柳燕^{1,*}

1. 南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210023
2. 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008
3. 江苏省环境科学研究院, 江苏省环境工程重点实验室, 南京 210036

摘要: 土壤-作物系统中微囊藻毒素的生物富集会对人类健康造成潜在威胁. 本研究通过生菜 (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort.) 种植实验比较了土壤添加不同比例的 3 种粘土矿物 (凹凸棒石、蒙脱石和沸石) 对微囊藻毒素-LR (microcystin-LR, MC-LR) 生物富集的影响, 分析含 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MC-LR 溶液灌溉土壤 50 d 后, 不同处理的 MC-LR 在生菜中累积量及土壤中的有效态含量和总含量. 结果表明, 3 种粘土矿物能够不同程度有效减少 MC-LR 在生菜根系和叶片中的富集. 5% 的凹凸棒石和蒙脱石处理的生菜叶片中 MC-LR 含量分别较空白处理降低 53.0% 和 52.3%, 使得摄入量降低到 WHO 组织要求的日允许摄入量限量范围. 添加粘土矿物显著降低了土壤中 MC-LR 有效态含量. 相关分析发现, 生菜根系和叶片中 MC-LR 的含量与土壤 MC-LR 有效态含量均呈显著正相关. 实验结果为蓝藻污染地区削减微囊藻毒素的作物富集提供了科学依据.

关键词: 微囊藻毒素; 粘土矿物; 生菜; 生物富集; 生物有效性

文章编号: 0253-2468(2020)08-2986-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of different kinds of clay mineral soil amendment on bioaccumulation of microcystins in lettuce

CAO Qing^{1,2,3}, LIU Weijing³, XIE Liqiang², YOU Bensheng³, JIANG Weili³, GU Yurong², YANG Liuyan^{1,*}

1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210023
2. State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008
3. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Environmental Engineering, Jiangsu Provincial Academy of Environmental Science, Nanjing 210036

Abstract: Bioaccumulation of microcystin in soils could pose a potential threat to human health. In order to investigate the effect of soil amendments on the microcystin-LR (MC-LR) bioaccumulation in crops, we conducted a lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort.) cultivation experiment by different ratios of clay minerals (attapulgite, montmorillonite, and zeolite). After irrigation with $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MC-LR solution for 50 d, the MC-LR concentrations in the lettuce, as well as the total and bioavailable MC-LR concentrations in the soil were analyzed. The results showed that application of clay minerals could effectively reduce MC-LR bioaccumulation in lettuce roots and leaves. The content of MC-LR in the lettuce leaves treated with 5% attapulgite and montmorillonite decreased by 53.0% and 52.3%, compared with the controls, and the estimated daily intake values were much lower than the tolerable daily intake limit proposed by the WHO. The bioavailable MC-LR concentrations significantly decreased. The correlation analysis result showed that there was a positive correlation between the bioavailable MC-LR concentrations in the soil and the MC-LR content in the lettuce roots, as well as the leaves. Results from the present study provide scientific guidance for reducing microcystins bioaccumulation in crops in cyanobacteria-polluted areas.

Keywords: microcystins; clay minerals; lettuce; bioaccumulation; bioavailability

1 引言 (Introduction)

随着湖泊富营养化问题的加剧, 蓝藻水华问题日益突出, 受到社会的广泛关注. 蓝藻水华暴发最直

接的影响是水体生态环境, 使水质变差, 水生生态平衡遭到破坏. 蓝藻向水体中分泌有毒化合物, 其中微囊藻毒素 (Microcystins, MCs) 产生的量最大, 危害最为严重 (谢平, 2015). 欧洲、美洲、亚洲、非洲等全

收稿日期: 2020-02-21 修回日期: 2020-03-20 录用日期: 2020-03-20

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (No.41907350); 中国博士后科学基金资助项目 (No.2019M651753)

作者简介: 操庆 (1989—), 男, E-mail: okcaoqing@163.com; * 责任作者, E-mail: yangly@nju.edu.cn

球各地几乎都有 MCs 的分布 (Preece *et al.*, 2017). MCs 是一组单环七肽化合物, 一般化学结构式为环 (D-丙氨酸-L-X-赤- β -甲基-D-异天冬氨酸-L-Z-Adda-D-异谷氨酸-N-甲基脱氢丙氨酸). 其中, Adda 是一种特殊的氨基酸, 其结构为 3-氨基-9-甲氧基-2, 6, 8-三甲基-10-苯基-4, 6 二烯酸. X、Y 为两种可变的 L-氨基酸, 由于 X、Y 的不同而产生多种异构体, 其中存在最普遍、毒性较大的是 MC-LR、MC-RR 和 MC-YR, L、R 和 Y 分别为亮氨酸 (Leucine)、精氨酸 (Arginine) 和酪氨酸 (Tyrosine) (姜锦林等, 2011).

目前大多数研究都集中于 MCs 对水生生物的影响, 包括沉水植物、鱼类等 (Wu *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018). 然而, MCs 通过一些途径也会进入土壤中, 如用含有藻毒素的水农田灌溉、直接用蓝藻作为肥料施用农田及河岸渗滤等措施 (Chen *et al.*, 2006; 操庆等, 2016). 进入土壤中的 MCs 不仅对陆生植物的生长造成不良影响, 还可能通过生物富集作用进入食物链, 从而对人体健康造成威胁 (Machado *et al.*, 2017). 研究表明, 用含有 MCs 的自然水体灌溉生菜、萝卜、白菜等作物后, 其可食部位累积的 MCs 会对人类健康造成潜在威胁 (Mohamed *et al.*, 2009; Cao *et al.*, 2018a). Xiang 等 (2019) 的研究发现, 我国南方蓝藻污染水体周边的农田普遍受到 MCs 污染, 农田土壤中 MCs 总含量为 0.5 ~ 186.3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 且受污染农田种植的蔬菜中 MCs 的检出率高达 90.9% ~ 100%, 蔬菜中 MCs 的含量为 0 ~ 381.4 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. 蓝藻污染地区菜地中微囊藻毒素污染对人类健康造成了潜在威胁.

进入土壤的 MCs 会被土壤颗粒吸附, 土壤性质决定了土壤颗粒对 MCs 的吸附能力, 一般土壤中有有机碳和粘土含量高的土壤其去除 MCs 的效率也高 (Morris *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2001). 关于 MCs 在土壤中的降解的研究目前仍不多, 一般认为土壤中 MCs 的降解作用主要是微生物降解, 其降解半衰期

是 6 ~ 18 d (Chen *et al.*, 2006; Cao *et al.*, 2018b). 目前, 土壤中还未被降解的 MCs 要如何降低其生物有效性还缺乏研究. 考虑到凹凸棒石、蒙脱石等天然粘土矿物对溶液中的 MCs 有很好的吸附作用 (Liu *et al.*, 2019), 且绿色无污染、价格低廉, 也常被用来修复重金属和有机污染物污染的土壤, 减少污染物的生物有效性 (王宝琳等, 2013; 张金秀等, 2019). 因此, 本研究采用土壤添加的方法, 探究不同比例的 3 种天然粘土矿物添加剂对土壤中 MCs 的生物富集作用. 研究结果以期对土壤-作物系统中 MCs 的潜在风险的预防提供科学指导.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 供试材料和试剂

供试作物为生菜种子购于北京绿东方农业技术研究所, 品种属于意大利全年耐抽薹生菜 (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort.). MC-LR 标准溶液购于台湾藻研有限公司 (纯度 > 95%), 使用前贮存于 -40 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱.

供试土壤采自太湖滨湖荒地表层 (0 ~ 15 cm), 土壤无 MCs 接触历史. 采集土壤后带回实验室去除石块等杂物后混匀, 过筛 (2 mm). 一部分土壤在室温下自然风干后用于测定土壤理化性质, 剩余的土壤保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱. 供试土壤为砂壤土, 基本理化性质如下: pH 为 7.05; 有机质含量为 9.26 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 总氮含量为 0.74 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 碱解氮含量为 61.8 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 速效磷含量为 18.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 速效钾含量为 118 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 阳离子交换量为 (Cation-exchange capacity, CEC) 112 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$; 砂粒含量 43.2%, 粉粒含量 46.2%, 黏粒含量 10.6%.

供试粘土矿物, 凹凸棒石 (Attapulgite)、蒙脱石 (Montmorillonite)、沸石 (Zeolite) 分别产自江苏盱眙、河南信阳和浙江安吉, 其理化性质如表 1 所示. 供试粘土矿物磨碎后过筛 (100 目) 待用.

表 1 供试粘土矿物理化性质

Table 1 physicochemical properties of three clay minerals

| 性质 | pH | CEC/ ($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) | 比表面积/ ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$) | SiO ₂ | Al ₂ O ₃ | CaO | MgO | Fe ₂ O ₃ | K ₂ O |
|------|------|--|---|------------------|--------------------------------|-------|--------|--------------------------------|------------------|
| 凹凸棒石 | 8.06 | 219 | 369.0 | 46.6% | 8.85% | 7.50% | 16.70% | 4.53% | 1.47% |
| 蒙脱石 | 7.42 | 527 | 69.7 | 58.5% | 18.72% | 0.57% | 4.21% | 5.62% | 2.49% |
| 沸石 | 8.16 | 161 | 512.0 | 62.4% | 14.70% | 3.05% | 1.52% | 2.06% | 5.21% |

2.2 实验方法

挑选籽实饱满且大小一致的生菜种子,用次氯酸钠溶液(0.5%, W/V)对种子进行消毒,随后用去离子水洗净.取消毒后的种子播撒于含有泥炭土的托盘,播种7 d后选取长势一致的生菜幼苗作为供试作物.

实验以盆栽的方式进行,分别将供试的3种粘土矿物以2.5%和5%(质量分数)的比例加入到6 kg土壤中,充分混匀后装盆,随后加入适量的水(田间最大持水量的60%)平衡.实验共设置8个处理(表2),分别为:空白处理(CK),不加入粘土矿物;添加2.5%和5%凹凸棒石处理(AT 2.5%, AT 5%);添加2.5%和5%蒙脱石处理(MO 2.5%, MO 5%);添加2.5%和5%沸石处理(ZE 2.5%和ZE 5%);质控处理(QC),不加入粘土矿物,也不灌溉MC-LR溶液.每个处理3个平行,共24盆.所有花盆随机摆放,置于恒温(25℃)玻璃温室中.试验期间每3 d随机调整一次盆栽位置,使生菜能够获得均匀光照.每盆施肥量保持一致,混合装盆时一次性添氮(N)0.30 g·kg⁻¹、磷(P₂O₅)0.18 g·kg⁻¹、钾(K₂O)0.24 g·kg⁻¹.

表2 实验设置

Table 2 Experiment setup

| 处理 | 粘土矿物 | 灌溉处理 |
|---------|-----------|---|
| CK | 不添加 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| AT 2.5% | 2.5% 凹凸棒石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| AT 5% | 5% 凹凸棒石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| MO 2.5% | 2.5% 蒙脱石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| MO 5% | 5% 蒙脱石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| ZE 2.5% | 2.5% 沸石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| ZE 5% | 5% 沸石 | 300 mL MC-LR 溶液(10 μg·L ⁻¹) |
| QC | 不添加 | 300 mL 去离子水 |

待平衡完毕,将生菜幼苗移栽到各处理的花盆中,每盆种植3株,待生长20 d后间苗至2株.生长期用含有10 μg·L⁻¹ MC-LR的去离子水灌溉生菜(质控处理灌溉等量去离子水),每日灌溉量为300 mL,各处理灌溉水用量保持一致.培养期间各处理之间的其他田间管理保持一致,每周进行一次除草.生菜种植50 d后收获,采集生菜的叶片和根系,用去离子水冲洗干净、擦干后置于-40℃保存;植物收获后,各盆的土壤混匀后取约50 g收集,置于-40℃冰箱中保存.

2.3 测试与分析方法

2.3.1 植株生物量测定

生菜地上和地下部生物

量,待收获后用去离子水洗净,擦干后用电子秤称量.

2.3.2 植物中 MC-LR 的测定 采用 Bittencourt-Oliveira 等(2016)的方法提取生菜组织中的 MC-LR.取约1 g新鲜生菜组织用70%甲醇(V/V)研磨,最终加入15 mL 70%甲醇制成匀浆.匀浆液在超声5 min后离心15 min(4℃, 10000 r·min⁻¹).重复此提取步骤2次,收集3次离心的上清液,将其通过HLB萃取柱(200 mg, Oasis, Waters, USA),随后用100%甲醇淋洗萃取柱,淋洗液用旋转蒸发仪蒸干.最后用300 μL 70%的甲醇溶解毒素,保存于-40℃冰箱待测.最后采用ELISA试剂盒(Beacon)测试植物中的MC-LR含量,具体操作步骤按试剂盒说明书进行.本文实验结果所指生菜中MC-LR含量均为鲜重.

2.3.3 土壤中 MC-LR 的测定 土壤中MC-LR总量和有效态含量按Wu等(2012)的方法处理.有效态MC-LR的提取:①将冷冻干燥后约2 g土壤样品用研钵碾碎,随后用30 mL 30%甲醇和0.1 mol·L⁻¹ EDTA-0.1 mol·L⁻¹ Na₄P₂O₇混合溶液(pH≈3)超声10 min,离心10 min(4℃, 5000 r·min⁻¹)后收集上清液,重复2次,合并上清液;②上清液通过Sep-Pak C₁₈(500 mg)萃取柱,用10 mL 20%的甲醇洗脱杂质,再用10 mL 100%甲醇洗脱富集柱,将收集的洗脱液用氮吹仪吹干;③残留物用60%甲醇溶解,保存于-40℃冰箱待测.总MC-LR的提取:①与有效态提取的前两步相同,收集氮吹仪吹干的残留物;②收集前一步中离心后的土壤,并用烘箱60℃烘干;③将①的残留物和②的土壤分别用50 mmol·L⁻¹ KMnO₄和100 mmol·L⁻¹ NaIO₄(pH≈9)在20℃氧化1 h;④将氧化后的溶液通过Sep-Pak C₁₈(500 mg)萃取柱,用10 mL 20%的甲醇洗脱杂质,再用10 mL 100%甲醇洗脱富集柱,将收集的洗脱液用氮吹仪吹干;⑤残留物用60%甲醇溶解,保存于-40℃冰箱待测.最后采用ELISA试剂盒(Beacon)测试土壤中的MC-LR含量,具体操作步骤按试剂盒说明书进行.

2.3.4 估计每天摄入量的计算 估计每天摄入量(Estimated Daily Intake, EDI) = 植物组织中的MC-LR含量(μg·kg⁻¹) × 每日植物组织摄入量(kg) ÷ 摄入者体重(kg).其中,假设一个60 kg重的成年人每日摄入生菜40 g;一个25 kg重的儿童每日摄入生菜10 g(Lee *et al.*, 2017; Levizou *et al.*, 2017).健康风险

评估是将 EDI 数值与 WHO 推荐的每日允许摄入量 (Tolerable Daily Intake, TDI) 限值 ($0.04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) (WHO, 1998) 相比较。

2.4 统计分析

用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 软件对所得数据进行统计分析. 结果采用单因素方差分析 (One way ANOVA) 和 Duncan 多重比较进行分析处理. $p < 0.05$ 则有显著性差异。

3 结果与讨论 (Results and discussion)

3.1 不同粘土矿物添加对生菜根系和叶片生物量的影响

与质控处理相比, 灌溉 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MC-LR 的空白处理, 以及凹凸棒石、蒙脱石和沸石在 2.5% 和 5% 两种添加量时, 对生菜根系和叶片的生物量均无显著影响 (图 1)。对于 MCs 对植物的影响, 不同的研究结果相差较大. 李慧明等 (2009) 研究表明用含有 $8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MC-LR 的水灌溉青菜即会显著降低其根长和株重. Zhu 等 (2018) 的研究表明, 用 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及以上浓度的 MC-LR 水灌溉后, 黄瓜株重、叶面积等生长指标都显著降低. 与之相反, 本课题组之前的研究表明, 用含有浓度 $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及以下的 MC-LR 水培养生菜, 其根长、株重均未受到显著影响 (Cao *et al.*, 2018c). Azevedo 等 (2013) 的研究也表明 $78 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及以下浓度的 MC-LR 对水稻株重无显著影响. 不同研究所得结果不同一方面是由于种植的作物品种, 另一方面是由于种植的条件不同. 此外, 本实验结果还表明添加 2.5% 和 5% 的粘土矿物对生菜生物量无显著影响, 因此无需担心添加粘土矿物对

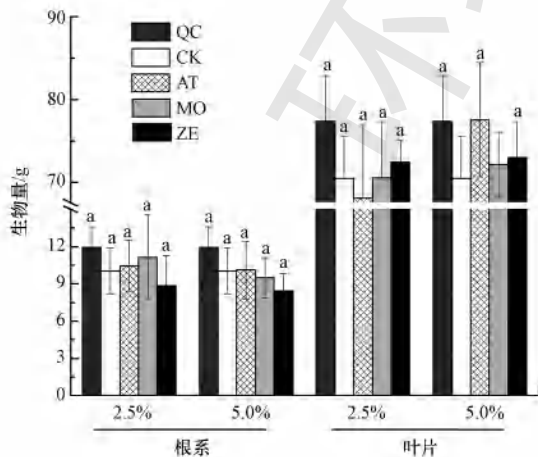


图 1 3 种粘土矿物添加对生菜根系和叶片生物量的影响

Fig.1 Effects of application of three clay minerals on the biomass of lettuce roots and leaves

生菜产量造成影响。

3.2 粘土矿物添加对土壤中 MC-LR 的总量和有效态含量的影响

生菜收获后, 土壤中 MC-LR 的总含量和有效态含量如图 2 所示. 质控处理土壤中未检测出 MC-LR, 图中未标出. 3 种粘土矿物在 2.5% 和 5% 添加量时均对土壤中 MC-LR 的总含量无显著影响. 当添加量为 2.5% 时, 3 种粘土矿物土壤中 MC-LR 有效态含量较对照组均有所降低, 但影响不显著; 当添加量为 5% 时, 凹凸棒石和蒙脱石处理土壤有效态 MC-LR 含量分别较空白降低了 49.1% 和 40.7%; 添加沸石处理有效态 MC-LR 含量也有所降低, 但较空白不显著。

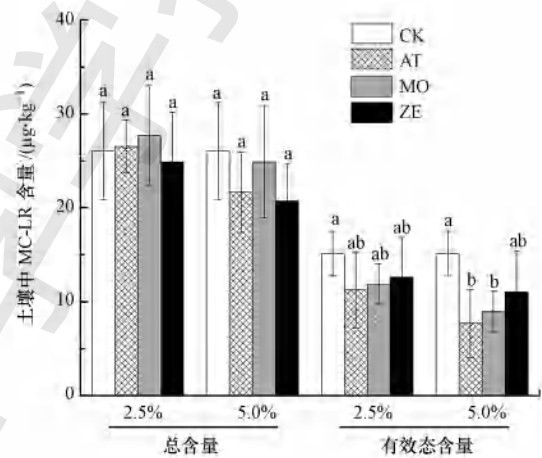


图 2 不同粘土矿物添加对土壤中 MC-LR 的总含量和有效态含量的影响

Fig.2 The effects of three kinds of clay minerals on the total MC-LR concentration and bioavailable MC-LR concentration in soils

由于结构、成分的不同, 不同粘土矿物对 MCs 表现出了不同的吸附性能. Liu 等 (2019) 的研究表明, 表面积大的粘土矿物对 MC-LR 表现出了更大的吸附性, 蒙脱石对 MC-LR 的吸附性能要显著高于高岭石和伊利石. 尽管本研究中所用的沸石的比表面积最大, 但在对 MCs 的吸附固定作用上却不及凹凸棒石和蒙脱石. 这主要是因为 pH 值、有机质含量等其它外界因素也会影响粘土矿物对 MCs 的吸附 (Liu *et al.*, 2019a; 2019b). 在土壤介质中粘土矿物对 MCs 的吸附、稳定化效果不仅仅取决于粘土矿物本身的吸附性能. 土壤中粘土和有机质含量也会影响土壤颗粒对 MCs 的吸附性 (Morris *et al.*, 2000). Miller 等 (2001) 的研究发现, 与砂质土相比, 有机碳和粘土含量最高的土壤其吸附 MCs 的效率也是最高的. MCs 在土壤中吸附于粘土矿物的机理还有待

深入研究.不同处理中微囊藻毒素总量之间差异不显著,说明土壤中添加粘土矿物对微囊藻毒素的微生物降解作用无显著影响.此外,通过分析土壤中有效态 MC-LR 的含量和生菜根系及叶片中 MC-LR 的富集量的关系(图 3)可知,随着土壤中有效态 MC-LR 含量的增加,生菜中 MC-LR 的富集量也呈增加趋势.这也说明土壤中有效态 MC-LR 含量的降低是生菜根系和叶片中 MC-LR 富集量降低的主要原因.

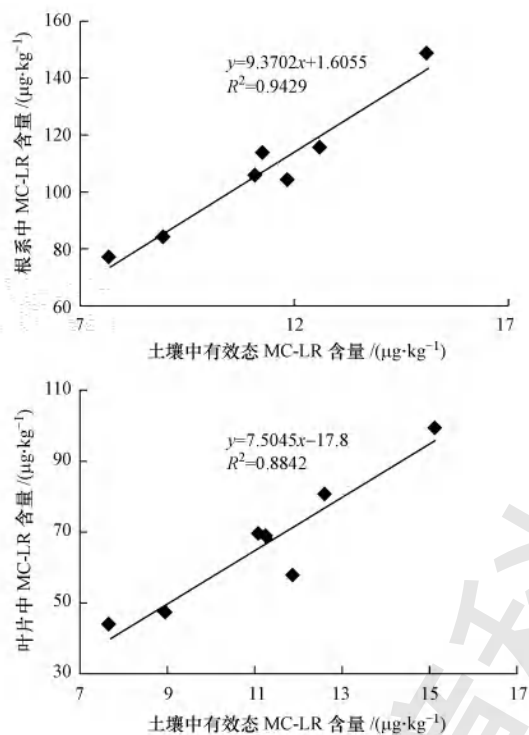


图 3 土壤中有效态 MC-LR 含量与生菜根系 (a) 和叶片 (b) 中 MC-LR 富集量的线性回归分析

Fig.3 Linear regression analysis between bioavailable MC-LR concentration in soils and MC-LR concentrations in lettuce roots (a) and leaves (b)

3.3 不同粘土矿物添加对生菜根系和叶片中 MC-LR 富集的影响

生菜收获后,其根系和叶片中 MC-LR 的含量和总累积量如图 4 所示.质控处理生菜根系和叶片均未检出 MC-LR,图中未标出.空白处理生菜根系和叶片中 MC-LR 含量和总累积量均为各处理最高,叶片中 MC-LR 含量达到 $148 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,总累积量为 $7.03 \mu\text{g}$;根系中 MC-LR 含量达到 $99.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,总累积量为 $1.51 \mu\text{g}$.凹凸棒石在 2.5% 的添加量时显著降低了生菜根系中 MC-LR 的含量;而 2.5% 添加量下蒙脱石和沸石则无显著影响.当 3 种粘土矿物添加量为 5% 时,三者均显著降低了生菜根系中 MC-LR

的富集,分别降低了 48.1%、43.8% 和 16.1%.而各处理根系中 MC-LR 的总累积量则均无显著差异.各处理生菜叶片中 MC-LR 的含量和总累积量趋势一致.2.5% 添加量时,只有凹凸棒石显著降低了叶片中 MC-LR 的富集,而 5% 添加量时 3 种粘土矿物均显著降低了 MC-LR 在生菜叶片中的富集.5% 添加量的凹凸棒石和蒙脱石处理中,生菜叶片中 MC-LR 含量为 $43.6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $47.3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,总累积量分别为 $3.41 \mu\text{g}$ 和 $3.43 \mu\text{g}$,与空白处理相比均降低达 50% 以上.

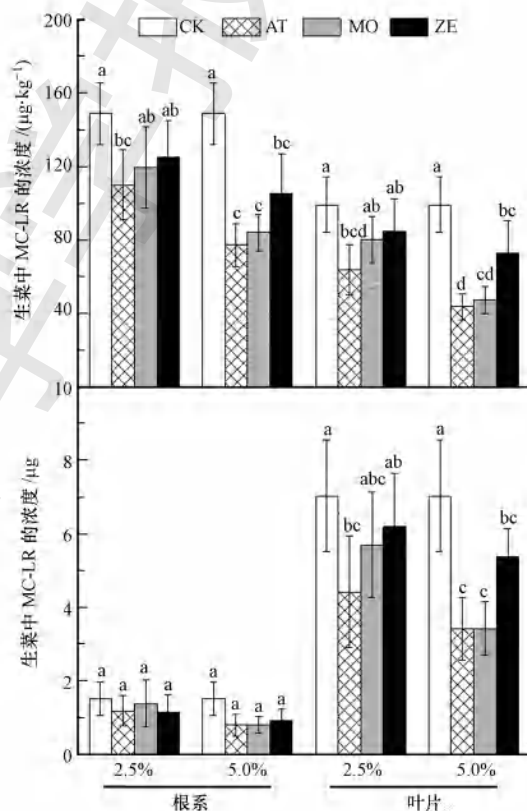


图 4 3 种粘土矿物添加对生菜根系和叶片中 MC-LR 含量 (a) 和总累积量 (b) 的影响

Fig.4 The effects of three kinds of clay minerals on the content (a) and total amount (b) of MC-LR in lettuce roots and leaves

不同的作物对 MCs 的富集能力不同. Peuthert 等(2007)研究表明,大豆、豌豆、小麦、玉米等 11 种作物暴露于 $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MC-LR 24 h 后,其茎叶中富集的 MC-LR 含量为 $4 \sim 44 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (鲜重) 不等,与本研究结果不尽相同. Lee 等(2017)用 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MC-LR 灌溉生菜 4 周后,其根系和叶片中富集的 MC-LR 含量分别约为 $102 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (鲜重) 和 $65 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (鲜重),均低于本实验的研究结果. MC-LR 在植物中的富集,一方面受暴露的 MC-LR 浓度、时

间的影响,一般来说,暴露的 MC-LR 浓度越高、时间越长,植物中累计的 MC-LR 含量越高 (Machado *et al.*, 2017);另一方面,受作物生长介质的影响,一般水培条件下植物中 MC-LR 的积累量要远高于土壤条件,这主要是因为土壤作为生长介质固定了一部分进入土壤的 MC-LR (Morris *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2001).尽管越来越多的研究开始关注土壤-作物系统中的 MCs,但目前仍无关于减轻 MCs 生物富集危害的报道.而以往的研究表明,向土壤中添加粘土矿物通过降低重金属在土壤中的生物有效性和迁移性,从而减少作物对重金属的吸收 (Usman *et al.*, 2005; 任静华等, 2017).本研究借鉴土壤重金属修复的经验,利用粘土矿物对 MCs 的吸附性,研究发现土壤中添加粘土矿物能够减少生菜根系和叶片中 MC-LR 的富集.

3.4 粘土矿物对 MC-LR 每日估计摄入量的影响

不同粘土矿物添加对 EDI 的影响如表 3 所示.对照处理中成人和儿童的 EDI 均超过了 WHO 的每日允许摄入量,成人 EDI 高达 $0.066 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.与本研究结果一致, Lee 等 (2017) 和 Cordeiro-Araújo 等 (2016) 也发现食用 $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ MC-LR 灌溉的生菜,成人和儿童的每日估计摄入量均超过了 WHO 的 TDI 标准.本课题组先前的研究表明 (Cao *et al.*, 2018a),即使用天然的蓝藻污染湖水灌溉,收获后生菜叶片中累积的 MCs 含量也会超过 WHO 的 TDI 标准. MCs 污染水体灌溉带来的健康风险不容忽视.

表 3 3 种粘土矿物添加对 MC-LR 每日估计摄入量的影响

Table 3 Effects of application of three clay minerals on EDI values
 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$

| 处理 | 成人 | 儿童 | |
|------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| CK | 0.066±0.011^a | 0.041±0.006^a | |
| 2.5% | AT | 0.022±0.003 ^b | |
| | MO | 0.053±0.008^{ab} | 0.030±0.003 ^{ab} |
| | ZE | 0.057±0.012^{ab} | 0.032±0.005 ^{ab} |
| 5% | AT | 0.026±0.004 ^c | 0.016±0.002 ^c |
| | MO | 0.030±0.003 ^{bc} | 0.018±0.002 ^{bc} |
| | ZE | 0.041±0.008^b | 0.023±0.003 ^b |

注:加黑数字表示超过 WHO 每日允许摄入量限值 $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.

通过对添加粘土矿物处理的 EDI 分析发现,添加量在 2.5% 时,3 种粘土矿物处理成人 EDI 有一定程度的降低,但仍超过了 TDI 限值;儿童 EDI 则均降至 TDI 限值以下.凹凸棒石和蒙脱石添加量在 5% 时,成人和儿童的 EDI 均降低至 TDI 限制以下;而

添加 5% 沸石时儿童的 EDI 降低至 TDI 限制以下,成人 EDI 则仍高达 $0.041 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.本研究结果表明,添加 5% 凹凸棒石和蒙脱石处理生菜 EDI 均降低到 TDI 限值以下,有效消除了食用 MCs 污染水体灌溉的生菜带来的潜在威胁.首次针对土壤-作物系统中 MCs 污染问题提出了有效的控制措施.不过不同土壤类型和培养条件下粘土矿物对于 MCs 的固定效果、粘土矿物参与下土壤中 MCs 的环境行为等问题还有待深入研究.

4 结论 (Conclusions)

土壤中添加土壤重量 2.5% 和 5% 的供试粘土矿物均对生菜生物量无显著影响;添加粘土矿物对土壤中 MC-LR 的总含量无显著影响,但显著降低了有效态 MC-LR 含量;5% 添加量时 3 种供试粘土矿物均能显著降低生菜叶片中 MC-LR 的富集;5% 的凹凸棒石和蒙脱石添加处理能够有效消除 MC-LR 水体灌溉带来的健康风险.本文的研究为土壤-作物系统中 MCs 的污染控制提供了解决思路和方法,但是实际运用过程中还需要考虑成本问题.如果全部按 5% 的剂量添加会大大增加生产成本,因此一方面需要根据农田土壤的实际污染情况调整添加剂用量和添加范围;另一方面今后还需要加强对粘土矿物改性和其他添加剂筛选的研究,探索更适用于 MCs 污染农田的高效土壤添加剂.

责任作者简介:杨柳燕 (1963—),男,博士,教授,博士生导师,研究领域为环境分子生物学和湖泊生态学,发表科研论文 300 余篇.

参考文献 (References):

- Azevedo C C, Azevedo J, Osório H, *et al.* 2013. Early physiological and biochemical responses of rice seedlings to low concentration of microcystin-LR [J]. *Ecotoxicology*, 23: 107-121
- Bittencourt-Oliveira M d C, Cordeiro-Araújo M K, Chia M A, *et al.* 2016. Lettuce irrigated with contaminated water: Photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128: 83-90
- Cao Q, Steinman A D, Wan X, *et al.* 2018a. Bioaccumulation of microcystin congeners in soil-plant system and human health risk assessment: A field study from Lake Taihu region of China [J]. *Environmental Pollution*, 240: 44-50
- Cao Q, Steinman A D, Yao L, *et al.* 2018b. Effects of light, microorganisms, farming chemicals and water content on the degradation of microcystin-LR in agricultural soils [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156: 141-147

- Cao Q, Steinman A D, Wan X, *et al.* 2018c. Combined toxicity of microcystin-LR and copper on lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. *Chemosphere*, 206: 474-482
- 操庆, 谢丽强. 2016. 土壤-作物系统中微囊藻毒素生态毒性的研究进展和展望 [J]. *湖泊科学*, 28(5): 925-934
- Chen W, Song L, Gan N, *et al.* 2006. Sorption, degradation and mobility of microcystins in Chinese agriculture soils: Risk assessment for groundwater protection [J]. *Environmental Pollution*, 144: 752-758
- Cordeiro-Araujo M K, Chia M A, Arruda-Neto J D T, *et al.* 2016. Microcystin-LR bioaccumulation and depuration kinetics in lettuce and arugula: Human health risk assessment [J]. *Science of the Total Environment*, 566-567: 1379-1386
- 姜锦林, 宋睿, 任静华, 等. 2011. 蓝藻水华衍生的微囊藻毒素污染及其对水生生物的生态毒理学研究 [J]. *化学进展*, 23(1): 246-253
- Lee S, Jiang X, Manubolu M, *et al.* 2017. Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: Implications for public health and food security [J]. *Food Research International*, 102: 234-245
- Levizou E, Statoris G, Papadimitriou T, *et al.* 2017. Lettuce facing microcystins-rich irrigation water at different developmental stages: Effects on plant performance and microcystins bioaccumulation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143: 193-200
- Liu Y, Walker H W, Lenhart J J. 2019. Adsorption of microcystin-LR onto kaolinite, illite and montmorillonite [J]. *Chemosphere*, 220: 696-705
- Liu Y, Walker H W, Lenhart J J. 2019. The effect of natural organic matter on the adsorption of microcystin-LR onto clay minerals [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 583: 123964
- 李慧明, 薛延丰, 易能, 等. 2009. 藻毒素对青菜生长的影响及其在幼苗体内的积累 [J]. *江苏农业学报*, 25(3): 680-684
- Machado J, Campos A, Vasconcelos V, *et al.* 2017. Effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on plant-soil systems: A review of their relevance for agricultural plant quality and public health [J]. *Environmental Research*, 153: 191-204
- Miller M J, Fallowfield H J. 2001. Degradation of cyanobacterial hepatotoxins in batch experiments [J]. *Water Science and Technology*, 43: 229-232
- Mohamed Z A, Al Shehri A M. 2009. Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 172:310-315
- Morris R J, Williams D E, Luu H A, *et al.* 2000. The adsorption of microcystin-LR by natural clay particles [J]. *Toxicol*, 38: 303-308
- Peuthert A, Chakrabarti S, Pflugmacher S. 2007. Uptake of microcystins-LR and -LF (cyanobacterial toxins) in seedlings of several important agricultural plant species and the correlation with cellular damage (lipid peroxidation) [J]. *Environmental Toxicology*, 22: 436-442
- Preece E P, Hardy F J, Moore B C, *et al.* 2017. A review of microcystin detections in Estuarine and Marine waters: Environmental implications and human health risk [J]. *Harmful Algae*, 61: 31-45
- 任静华, 廖启林, 范健, 等. 2017. 凹凸棒粘土对镉污染农田的原位钝化修复效果研究 [J]. *生态环境学报*, 26(12): 2161-2168
- Usman A, Kuzakov Y, Stahr K. 2005. Effect of clay minerals on immobilization of heavy metals and microbial activity in a sewage sludge-contaminated soil [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 5: 245-252
- Wang N, Wang C. 2018. Effects of microcystin-LR on the tissue growth and physiological responses of the aquatic plant *Iris pseudacorus* L. [J]. *Aquatic Toxicology*, 200: 197-205
- 王宝琳, 王翠苹, 余力, 等. 2013. 电气石和沸石对土壤-小麦幼苗系统中重金属行为的影响 [J]. *环境化学*, 32(9): 1700-1705
- WHO. 1998. Cyanobacterial toxins: microcystin-LR. Guidelines for drinking water quality [R]. Addendum to Vol. 2. Health criteria and other supporting information, 2nd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization
- Wu X, Wang C, Xiao B, *et al.* 2012. Optimal strategies for determination of free/extractable and total microcystins in lake sediment [J]. *Analytica Chimica Acta*, 709: 66-72
- Wu Q, Yan W, Cheng H, *et al.* 2017. Parental transfer of microcystin-LR induced transgenerational effects of developmental neurotoxicity in zebrafish offspring [J]. *Environmental Pollution*, 231: 471-478
- Xiang L, Li Y, Liu B, *et al.* 2019. High ecological and human health risks from microcystins in vegetable fields in southern China [J]. *Environment International*, 133:105142
- 谢平. 2015. 蓝藻水华及其次生危害 [J]. *水生生态学杂志*, 36(4): 1-13
- 张金秀, 何永美, 李博, 等. 2019. 三种黏土矿物对蚕豆生长和重金属含量的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 38(4): 845-854
- Zhu J, Ren X, Liu H, *et al.* 2018. Effect of irrigation with microcystins-contaminated water on growth and fruit quality of *Cucumis sativus* L. and the health risk [J]. *Agricultural Water Management*, 204: 91-99