

铜、铬单一及复合污染对小白菜种子萌发及根长的生态毒性

王 丹, 魏 威, 王松山, 梁东丽

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】研究铜(Cu)和铬(Cr(VI))单一及复合污染对小白菜种子萌发和根长的生态毒性,为铜、铬复合污染的预测、评价和修复提供依据。【方法】以小白菜“秦白2号”种子为试材,采用培养试验方法,研究铜、铬单一及复合污染对种子发芽率、发芽势、发芽指数及根长的影响。【结果】低含量铜、铬对小白菜种子发芽指标影响不显著,而高含量铜(≥ 800 mg/kg)、铬(≥ 60 mg/kg)对小白菜种子萌发产生显著抑制作用($P < 0.05$)。外源铬含量与小白菜根长抑制率呈极显著线性关系($P < 0.01$);低含量铜(≤ 200 mg/kg)可促进根伸长,而高含量铜对根长产生明显的抑制作用。铜和铬复合污染对小白菜种子发芽及根长抑制率均表现为拮抗毒性,铜对铬毒性效应拮抗作用的大小与铜含量有关。【结论】铜、铬复合污染对小白菜种子的萌发影响不大,但对根长影响明显,建议以种子的根长抑制率作为判断铜、铬最初生物毒性的指标。

【关键词】 重金属污染;复合污染;种子萌发;根长抑制率;小白菜

【中图分类号】 X131.3;S634.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)12-0063-06

Single and combined toxicity of chromium and copper to seed germination and root elongation of Pakchoi (*Brassica chinensis*) in soils

WANG Dan, WEI Wei, WANG Song-shan, LIANG Dong-li

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The elements Cu and Cr are two important heavy metal pollutants. In this study the single and combined effects of Cu and Cr(VI) on the seed germination and the root elongation of Pakchoi (*Brassica chinensis*) were investigated in order to provide scientific basis for the predication, evaluation and repair of copper and chromium combined pollution. 【Method】With the seeds of pakchoi “Qinbai 2” as material, the soil culture experiments were conducted to study the effects of single and combined pollution of copper and chromium on seeds germination energy, germination rate and root inhibition ratio. 【Result】The results showed that seed germination indexes were not significantly affected in low concentrations of Cu and Cr treatments, whereas the root elongation inhibition rate was remarkable in high concentrations of Cu (≥ 800 mg/kg) and Cr (≥ 60 mg/kg) treatments ($P < 0.05$). It was found that there were significant liner relationships between concentration of Cr(VI) and root elongation ($P < 0.01$) and low concentration of Cu (≤ 200 mg/kg) could accelerate the root elongation while high concentration of Cu could inhibit it significantly. Cu and Cr had antagonistic effects on seeds germination and root elongation of Pakchoi. Meanwhile, the antagonism of Cu against Cr was in response to the concentration of Cu. 【Conclu-

* [收稿日期] 2010-04-30

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2008BADA4B09)

[作者简介] 王 丹(1987—),女,山东烟台人,在读硕士,主要从事土壤环境化学研究。E-mail: shandandan807@163.com

[通信作者] 梁东丽(1963—),女,陕西铜川人,副教授,博士,主要从事土壤环境化学研究。E-mail: dongliliang2005@yahoo.com

sion】In conclusion, the toxicity of the pollutants to seed germination is lower than to root elongation. It's suggested that the seed root length inhibition rate be taken as indicator to determine heavy metal biological toxicity

Key words: heavy metals pollution; combined pollution; seed germination; inhibition rate of root elongation; pakchoi

近年来,随着工农业的发展、化肥农药的过量施用、污水灌溉的增加以及合金冶炼过程中大量废物的产生,使得全世界大面积耕地重金属污染严重,其中备受关注的重金属有 Cd、Pb、As、Hg、Cu、Cr 等。根据美国政府管理的国家实验室(NPL)统计,在 1 200 个土壤样品中,63% 的样品受到重金属污染,其中受 Pb、Cr、Cd 和 Cu 污染的土样分别占总样品的 15%, 11%, 8% 和 7%^[1]。我国大约 $1/5$ (2×10^7 hm²) 的耕地受到不同程度的 Cd、As、Pb、Hg 和 Zn 污染,每年约有超过 1.2×10^7 t 的谷物受到重金属污染^[2],进而通过食物链危及人体健康。

铬是环境污染中的“五毒”元素之一^[3],其在土壤中共存在的氧化态有三价和六价 2 种,三价铬易于被土壤颗粒吸附,因此移动性和毒性都较小,而六价铬因为移动性大、毒性强、可致癌,因此其环境行为备受关注^[4]。铜是植物生长发育所必需的营养元素之一,但过量的铜会抑制植物光合作用,且引发叶色失绿,从而抑制植株生长^[5-6]。了解重金属的生物毒害作用,对粮食生产和环境保护都具有重要意义。以往对重金属污染的研究多集中在单一重金属的生物毒性方面,而重金属复合污染是一种现实状况,且已逐渐受到国内外的关注,有关 Cu-Cd^[7]、Cd-Hg^[8]、As-Cd^[9-11]、Zn-Pb^[12]、Zn-Cd^[13]、Cu-Cd-Pb^[14]、Cu-Zn-Pb-Cd^[15] 对不同作物的复合污染研究均有报道,但是至今未见有关 Cr 与其他重金属复合污染的报道。目前,在重金属毒性研究方面常用的标准植物毒性试验包括种子发芽、根伸长和早期幼苗生长试验。此外,也有用光合抑制试验及酶活性变化来检测重金属对生物毒害作用^[11]。种子发芽和根伸长这 2 种生物参数的测定比其他参数更方便快捷,且能更好地反映外源物质的生物毒性效应^[16]。在受试生物的选择上,一些国际组织,如美国 EPA、FDA 及 OECD 等建议用白菜、玉米、黄瓜、青菜、燕麦、大豆、西红柿、小麦等作物进行生理毒性试验^[17-19]。本试验选用小白菜为受试作物,研究了重金属 Cu、Cr(VI) 单一和复合污染对小白菜种子发芽和根长的影响,以期了解 Cu-Cr(VI) 阴阳离子复合污染对小白菜的生物毒性,为铜、铬复合污染的预

测、评价和修复提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试土壤 土壤采自陕西杨凌西北农林科技大学南校区试验田,采用多点取样法采集表层(0~20 cm)土壤,自然风干,剔除残茬、碎砾,过孔径 5 mm 的筛后,储存备用。另取少部分土样分别过孔径 0.25 和 0.147 mm 的筛,分别用于土壤常规分析和金属含量的测定。土壤的基本理化性状为:pH 7.75, CEC 23.34 cmol/kg,黏粒含量 39.5%,碳酸钙 55.00 g/kg,有机质 16.33 g/kg,全氮 1.113 g/kg, Cu 总量 21.53 mg/kg, Cr 总量 35.96 mg/kg。

1.1.2 供试作物 供试小白菜(*Brassica chinensis*)品种为“秦白 2 号”,由西北农林科技大学种子中心提供。

1.1.3 外源 Cu、Cr 污染物 选择 CuSO₄ · 5H₂O 作为外源铜来源, K₂Cr₂O₇ · 7H₂O 作为 Cr 来源,两者均为分析纯试剂,在使用时扣除结晶水的量,以纯 Cu、Cr 的含量计算。

1.2 试验设计

1.2.1 重金属单一污染试验 试验以蒸馏水为对照(CK),铜设 50, 100, 200, 400, 600, 800 和 1 000 mg/kg 7 个梯度,铬设 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/kg 7 个梯度,共设 15 个处理,每处理重复 3 次。试验铜、铬含量是依据根长抑制率达到 10%~60% 时的铜、铬含量而设置的。方法为:称取 50 g 风干土于培养皿中,将配制的一系列重金属水溶液按处理均匀地加入培养皿中,混匀后在 20 °C 下平衡 24 h,然后用去离子水调节土壤含水量为田间持水量的 70%(田间持水量按 22% 计,风干土的含水量按 3% 计)。选取颗粒饱满的小白菜种子,每皿播种 20 粒,在 25 °C 下培养,隔日称质量补足水分。依据国家相关标准,在培养一定时间后分别测定种子发芽势、发芽率、发芽指数及根长抑制率。

1.2.2 重金属复合污染试验 根据单一污染试验的结果,确定发芽抑制率达到 10%~50% 时的 Cu、Cr 含量,设置铬含量分别为 5, 10, 20, 40 mg/kg, 铜

含量分别为 0,200,400,600,800 mg/kg,采用完全区组试验设计,共计 20 个处理,每处理重复 3 次,研究铜、铬复合污染对种子发芽及根长的影响。具体操作同单一污染试验。

1.3 测定项目与方法

发芽势是在规定时间(一般是发芽达到高峰以前)内正常发芽种子数与供检种子数的百分比。按照《农作物种子检验规程——发芽试验》(GB/T 3543.4—1995),小白菜种子的发芽势在处理后 3 d 测定,发芽率在处理后 7 d 测定,10 d 时试验终止,此时测定各处理样品根长度(根长的测定从胚轴与根之间的过度点开始)和发芽率,计算根长度和发芽率的平均值,并采用常规方法测定土壤样品理化性质^[20]。

1.4 数据处理

平均值、标准差的计算以及回归方程的建立采用软件 SPSS 13.0 进行,多重比较采用 LSD 法。

表 1 铜、铬单一污染对小白菜种子萌发的影响

Table 1 Effect of single copper or chromium pollution on seed germination indexes of pakchoi

Cu/ (mg·kg ⁻¹)	发芽势 Germination energy	发芽率 Germination rate	发芽指数 Germination index	Cr/ (mg·kg ⁻¹)	发芽势 Germination energy	发芽率 Germination rate	发芽指数 Germination index
0(CK)	0.95 a	0.97 a	9.25 a	0(CK)	0.95 a	0.97 a	9.25 ab
50	0.64 bc	0.73 ab	9.59 a	5	0.54 b	0.62 bc	9.27 ab
100	0.60 c	0.56 b	8.34 a	10	0.61 b	0.72 b	10.21 a
200	0.88 a	0.49 b	9.69 a	20	0.58 b	0.64 bc	8.54 ab
400	0.82 ab	0.69 b	10.62 a	40	0.49 b	0.55 bc	6.06 bc
600	0.80 abc	0.65 b	10.49 a	60	0.24 c	0.50 c	3.89 c
800	0.33 d	0.47 b	5.22 b	80	0.20 c	0.20 d	2.76 c
1 000	0.29 d	0.48 b	5.21 b	100	0.20 c	0.24 d	2.81 c

注:同列数据后标不同小写字母者表示多重比较差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note:Different lowercases in a column mean significant differences($P<0.05$). The same as below.

1)铜。从表 1 可以看出,小白菜种子各发芽指标随外加铜含量的增加呈先降后增再降低的变化趋势。当铜含量为 200 mg/kg 时,小白菜的发芽势最大,之后随外源铜含量的进一步增加发芽势显著下降;当铜含量为 800 mg/kg 时,与对照相比发芽势下降了69.5%。当铜含量为 400 mg/kg 时,小白菜发芽指数最大,但其与对照相比差异不显著;而后当铜含量≥800 mg/kg 时,发芽指数显著下降。重金属铜对小白菜种子发芽率有显著抑制作用,除 50 mg/kg 处理外,其余 Cu 处理的发芽率均显著低于对照,但各 Cu 处理间差异未达显著水平。

2)铬。由表 1 可以看出,单一重金属铬处理下,小白菜发芽势、发芽率及发芽指数总体上随着铬含量的升高而降低。高含量铬处理(≥60 mg/kg)小白菜各发芽指标较对照均显著下降($P<0.05$),说明高含量铬对小白菜种子发芽有显著抑制作用。

发芽指数= $\sum(Gt \div Dt)$,其中 Gt 为 t 时间内的发芽数, Dt 为相应的发芽时间(d)。

根长抑制率=(对照样品的根长-各处理样品根长)÷对照样品根长。

2 结果与分析

2.1 铜、铬单一污染对小白菜种子萌发及根伸长的影响

2.1.1 种子萌发 发芽势、发芽率及发芽指数是反映种子活力的重要指标,也可提示种子的生产性能。发芽势是指种子发芽初期在规定时间内能正常发芽的种子粒数占供检种子粒数的百分率。发芽率是在规定时间内全部正常发芽种子粒数占供检种子粒数的百分率。而发芽指数反映了种子发芽所用的时间。单一铜、铬污染对小白菜发芽势、发芽率和发芽指数的影响见表 1。

总之,发芽势、发芽率及发芽指数 3 个指标能够反映高含量下重金属铜、铬对小白菜种子的毒害作用;小白菜对于低含量重金属的毒害作用均不敏感。

2.1.2 根伸长 用重金属含量的自然对数与根长抑制率做图,依据铜处理下根长抑制率的变化趋势及陈素华等^[21]提出的铜与根活力抑制率回归模型,对抑制率变化曲线进行拟合,得到开口向上的抛物线;对铬处理下的根长抑制率进行线性回归。土壤铜、铬单一污染对小白菜根伸长的影响如图 1 所示。从图 1 可以看出,低含量的铜(≤200 mg/kg)能够促进小白菜根伸长,而高含量铜(>200 mg/kg)对小白菜根长有抑制作用,且抑制作用随铜含量的增加而增大,这与薛艳等^[22]的研究结果一致。

在试验设置的含量范围内,单一铬处理均对小白菜根伸长产生抑制作用,这与李丽君等^[23]发现低含量的铬对玉米芽和幼根的生长有刺激作用,高含

量的铬对其表现为抑制作用的研究结果不同,其原因主要与受试作物的不同有关。玉米为禾本科植物,而小白菜为十字花科植物,在一般的农作物中,

十字花科植物积累的重金属量最高,其次是豆科植物,谷类植物最低。

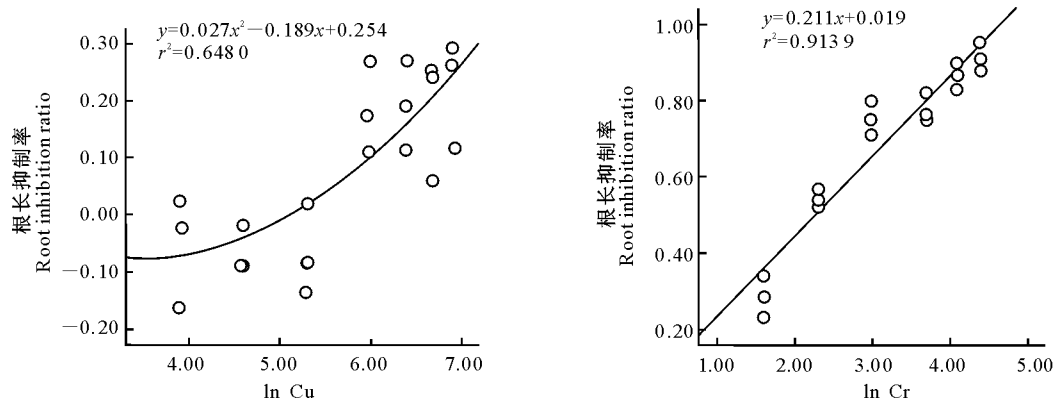


图 1 土壤铜、铬单一污染对小白菜根伸长的影响

Fig. 1 Effect of single copper and chromium pollution on root elongation of pakchoi

通过对重金属含量自然对数与根长抑制率做回归分析可知,根长抑制率与铬含量呈极显著正相关($P<0.01,n=18,r^2=0.9139$);与铜含量也呈极显著正相关,回归方程的相关系数为 0.648 0($P<0.01$)。可见,小白菜根的受抑制程度可作为评价重金属毒性较为理想的指标。通过回归方程得出重金属铜、铬对根伸长的半数抑制浓度(IC_{50})分别为 3 294.5和 9.78 mg/kg,显著高于 Liu 等^[24]得出的重金属铜在土培条件下对小白菜根伸长的 IC_{50} 值,其原因可能与供试土壤性质不同有关。宋玉芳等^[15]研究表明,不同性质土壤中重金属铜对根伸长的 IC_{50} 相差很大。由于土壤对铜的吸附作用随土壤 pH 值的升高而增大,本试验土壤 pH 值为 7.75,偏碱性,土壤中可溶态铜含量非常低,铜主要以碳酸盐结合态形式存在,从而使得铜的 IC_{50} 值较高,这还有待于进一步的试验证实。

2.2 铜、铬复合污染对小白菜种子萌发及根伸长的影响

2.2.1 种子萌发 由表 2 可见,在铬含量一定的条件下,外源铜含量为 200 mg/kg 时,小白菜种子的发芽率及发芽势显著高于单一铬污染处理($P<0.05$);外源铜含量 >200 mg/kg 时,各发芽指标呈上升趋势,除 5 mg/kg 铬处理下 800 与 200 mg/kg 铜处理的发芽势及 10 mg/kg 铬处理下 400 与 600 mg/kg 铜处理的发芽势和 400 与 800 mg/kg 铜处理的发芽率间差异显著外,其他处理间发芽指标均未达显著水平。其原因可能是在复合污染处理中,在一定含量范围内 $Cr_2O_7^{2-}$ 和 Cu^{2+} 结合生成沉淀,从而降低了铬的生物毒性,表现为二者间具有拮抗作用,然而当外加铜含量超过一定范围后(>200 mg/kg),这种拮抗作用并不显著。

表 2 铜、铬复合污染对小白菜种子萌发指标的影响

Table 2 Combined toxic effects of copper and chromium on seed germination indexes

Cr/ (mg·kg ⁻¹)	Cu/ (mg·kg ⁻¹)	发芽势 Germination energy	发芽率 Germination rate	发芽指数 Germination index	Cr/ (mg·kg ⁻¹)	Cu/ (mg·kg ⁻¹)	发芽势 Germination energy	发芽率 Germination rate	发芽指数 Germination index
5	0	0.54 c	0.62 b	7.52 b	20	0	0.64 b	0.64 b	5.51 c
	200	0.87 b	0.89 a	9.46 a		200	0.82 a	0.93 a	8.21 ab
	400	0.93 ab	0.93 a	9.76 a		400	0.88 a	0.97 a	8.56 ab
	600	0.93 ab	0.93 a	9.84 a		600	0.90 a	0.97 a	8.76 ab
	800	0.97 a	0.98 a	9.41 a		800	0.95 a	0.97 a	9.25 a
10	0	0.61 c	0.72 c	7.08 b	40	0	0.52 b	0.55 b	6.06 b
	200	0.86 ab	0.87 ab	8.66 ab		200	0.95 a	0.97 a	9.09 a
	400	0.67 bc	0.83 bc	8.81 ab		400	0.95 a	0.98 a	9.14 a
	600	0.90 a	0.95 ab	8.82 ab		600	0.93 a	0.97 a	8.98 a
	800	0.97 a	0.98 a	9.16 a		800	0.95 a	0.97 a	9.09 a

2.2.2 根伸长 图 2 给出了不同含量铜-铬复合污染对小白菜根长的影响。由图 2 可见,不同含量的铜-铬复合污染对根长抑制率的影响各异,总体而言,铜-铬复合污染产生明显的拮抗效应,其毒性效应均低于铬单一污染,表现为重金属铬(VI)的生态毒性阈值升高,根长抑制率明显下降。低含量铬($\leq 10 \text{ mg/kg}$)与铜共同存在时,小白菜根长抑制率随着铜含量的升高呈先下降后上升的趋势,铜含量为 600 mg/kg 时根长抑制率最小,与含量为 $5, 10 \text{ mg/kg}$ 铬单一污染处理相比,根长抑制率分别下降了 103.5% 和 38.2% ;之后小白菜根长抑制率随着外源铜含量的增大而呈上升趋势。高含量铬($\geq 20 \text{ mg/kg}$)与铜共存时,小白菜根长抑制率也随铜含量的增大而呈下降趋势,当外加铜含量为 800 mg/kg

时,铜-铬复合污染与含量为 $20, 40 \text{ mg/kg}$ 铬单一污染相比,小白菜根长抑制率分别下降了 33.8% 和 31.6% ($P < 0.05$)。铜-铬复合污染所表现出的这种拮抗作用,是由于在土壤中铬以阴离子铬酸根的形式存在,其不易被带负电荷的土壤颗粒吸附,多存在于土壤溶液中,而铜一部分被土壤吸附,另一部分与土壤中的铬酸阴离子结合形成铬酸铜,从而降低了其生物有效性。贾秀英等^[25]研究了重金属铬(VI)与铜对蚯蚓的急性毒性效应,结果表明,重金属铬-铜复合污染对蚯蚓具有明显的协同毒性,与本研究结果截然不同,究其原因,可能是由于供试生物不同,本试验用的是植物,而贾秀英等选用的受体为动物,两者间生理条件明显不同,由此产生的复合效应也不同。

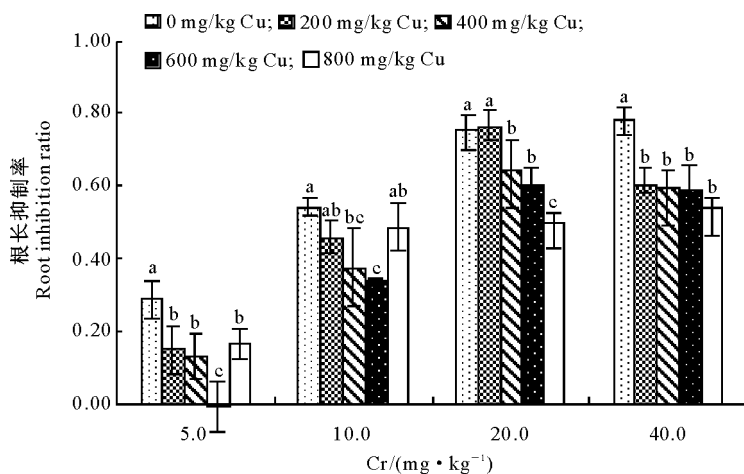


图 2 铜-铬复合污染对小白菜种子根伸长的影响

Fig. 2 Combined toxic effects of copper and chromium on root elongation of pakchoi

3 讨 论

许多植物在种子萌发和苗期对环境因子的影响比较敏感,因此在重金属胁迫下,萌发期和苗期植物生长的变化常被作为评价植物重金属忍耐度的重要指标^[26]。目前,国内外常用种子发芽率、根长以及植株早期阶段的生长指标来表征重金属对植物的生物毒性效应^[27]。与一些已有的研究结果^[28-29]相同,本试验结果表明,高含量铜、铬对小白菜各发芽指标抑制作用显著;低含量铜、铬对小白菜种子发芽指标影响不明显,而对根伸长抑制作用显著,因此,根长抑制率能更好地表征重金属铜、铬的生物毒性效应。究其原因,可能是种子发芽过程所需的养分主要来自于胚内,受外界重金属污染的影响很小;同时土壤中的吸附介质,比如铁铝氧化物、有机质等对低含量重金属有较强的吸附力,进而降低了低含量重金属的毒性,因此种子发芽不能很好地表征重金

属的毒性大小。种子胚根从一开始就完全暴露于土壤中,土壤表面金属的离子交换作用、氧化还原作用、有机和无机配位作用,均可能改变根区的金属形态,从而影响到金属的生物毒性;另一方面,重金属的相互作用多发生在根系表面,这种相互作用会影响金属在植株体内的吸收和转运^[30],因此植物根系对土壤污染的反应更敏感。

有关重金属复合污染方面的研究,宋玉芳等^[15]发现,铜、锌、铅、镉复合污染会产生明显的协同作用;Liu 等^[10]则报道,Cd 和 As 在种子发芽率上表现为协同毒性,在植株生物量及根伸长指标上表现为拮抗毒性。本试验结果表明,重金属铜、铬复合污染对小白菜种子萌发及根伸长的毒性效应为拮抗作用,且拮抗作用大小与其含量配比有关。其原因可能是, Cu^{2+} 与 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 结合降低了土壤溶液中 Cr(VI) 活性,导致两者复合毒性效应比单一铬污染低,表现为拮抗作用。而这 2 种重金属离子的结合

符合一定的配比关系,当外加 Cu^{2+} 含量超过一定范围(800 mg/kg)后,铜的生物毒性效应也表现出来,从而使两者的复合毒性效应增强。

值得指出的是,本试验中所采用的铬的最高含量为国家土壤环境质量标准设立的二级污染指标(250 mg/kg)的 1/3,但是却对小白菜种子产生了较强的毒性,所以有关不同土壤和作物中铬的安全阈值或不同价态的铬对植物的生物毒性,还需要进一步研究。

4 结 论

单一污染情况下,当铜、铬含量较低时,其对小白菜种子发芽指标影响不显著,只有高含量铜(≥ 800 mg/kg)、铬(≥ 60 mg/kg)才会对各发芽指标产生显著的抑制作用。铜、铬 2 种重金属均对种子根伸长有显著抑制作用。小白菜根长抑制率比种子各发芽指标能更好地反映重金属的生物毒性。

重金属复合污染对小白菜种子发芽指标及根伸长表现为拮抗毒性,且铜对铬毒性效应的拮抗作用大小与外加铜含量有关,表明重金属混合物的组成及各污染物的含量组合,是决定混合物毒性的重要因素。

[参考文献]

- [1] Hazardous Waste Consultant. Remediating soil and sediment contaminated with heavy metals [M]. The Netherlands: Elsevier Science, 1996.
- [2] Gu J G, Zhou Q X, Wang X. Reused path of heavy metal pollution in soils and its research advance [J]. Journal of Basic Science and Engineering, 2003, 11(2): 143-151.
- [3] 王三根, 王西瑶. 植物生理学 [M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1997: 344.
Wang S G, Wang X Y. Plant physiology [M]. Chengdu: Chengdu Science and Technology Press, 1997: 344. (in Chinese)
- [4] Tirez K, Scharf H, Calzolari D, et al. Validation of a European standard for the determination of hexavalent chromium in solid material [J]. Journal of Environmental Monitoring, 2007, 9: 749-759.
- [5] Cao Z H, Hu Z Y, Wong M H. Copper contamination in paddy soils irrigated with wastewater [J]. Chemosphere, 2000, 41: 3-6.
- [6] Chatterjee J, Chatterjee C. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower [J]. Environmental Pollution, 2000, 109: 69-74.
- [7] Huang Y Z, Hu Y, Liu Y X. Combined toxicity of copper and cadmium to six rice genotypes [J]. Journal of Environmental Sciences, 2009(2): 647-653.
- [8] Ge C L, Ding Y, Wang Z G, et al. Response of wheat seedlings to cadmium, mercury and trichlorobenzene stresses [J]. Journal of Environmental Sciences, 2009(2): 806-813.
- [9] Sun Y B, Zhou Q X, Liu W T. Joint effects of arsenic and cadmium on plant growth and metal bioaccumulation: A potential Cd-hyperaccumulator and As-excluder *Bidens pilosa* L [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 165: 1023-1028.
- [10] Liu X L, Zhang S Z, Shan X Q, et al. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 68: 305-313.
- [11] Cao Q, Hu Q H, Khan S, et al. Wheat phytotoxicity from arsenic and cadmium separately and together in solution culture and in a calcareous soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 148: 377-382.
- [12] Cui Y S, Wang Q G, Dong Y T, et al. Enhanced uptake of soil Pb and Zn by indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA [J]. Plant and Soil, 2007, 261: 181-188.
- [13] Liu H J, Zhang J L, Christie P. Influence of external zinc and phosphorus supply on Cd uptake by rice (*Oryza Sativa* L.) seedlings with root surface iron plaque [J]. Plant Soil, 2007, 300: 105-115.
- [14] Huang Y Z, Liu Y X. Heavy metal accumulation in iron plaque and growth of rice plants upon exposure to single and combined contamination by copper, cadmium and lead [J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29: 320-326.
- [15] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应 [J]. 环境科学, 2002, 23(1): 103-107.
Song Y F, Xu H X, Ren L P, et al. Eco-toxicological effects of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of Chinese cabbages in soils [J]. Journal of Environmental Sciences, 2002, 23(1): 103-107. (in Chinese)
- [16] Wang X D, Sun C, Wang Y, et al. Quantitative structure activity relations for the inhibition toxicity to root elongation of *Cucumis sativus* of selected phenol and interspecies correlation with *tetrahymena pyriformis* [J]. Chemosphere, 2002, 46: 153-161.
- [17] U S Environmental Protection Agency. Seed germination/root elongation toxicity impact tests, EG-12 [M]. Washington D C: Office of Toxic Substances, 1982.
- [18] Food and Drug Administration. Seed germination and root elongation [M]. Washington DC: Environmental assessment technical assistance document 406, Center for Food Safety and Applied H Nutrition, Center for Veterinary Medicine, 1987.
- [19] Organization for Economic Cooperation and Development. Terrestrial Plants: Growth I Test. OECD Guide line for Testing of Chemicals No 208 [M]. Paris: OECD, 1984.