

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

## 重金屬污染土壤危害性評估之種子發芽快速測定

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNEV-91-29

執行期間：91年1月1日至91年12月31日

計畫主持人：陳意銘

共同主持人：

計畫參與人員：

執行單位：環工系

中華民國 92 年 2 月 27 日

# 重金屬污染土壤危害性評估之種子發芽快速測定 Hazard Identification of Heavy Metal-Polluted Soils by Rapid Assays of Germination Experiments

陳意銘

嘉南藥理科技大學環境工程衛生系

## 摘要

生物指標除了可以增進我們對污染危害的瞭解外，對於風險預測，尤其是低劑量的暴露，以及早期判斷等方面也是一個有力的工具。然而生物指標之建立相當繁複，如何建立一快速反應污染物對周遭生物之危害評估方式，尤其是土壤重金屬污染之生物危害性評估實為重要，本研究進行簡便迅速之種子發芽快速測定實驗，以作為評估重金屬污染危害性之參考。

本研究採用稻穀、蘿蔔等種子作為研究對象。研究標的之重金屬污染土壤則採集高雄縣境內之農田土壤，包括八種重金屬含量均不大於第三級標準之背景土壤、重金屬含量屬於四級之農地土壤以及重金屬含量屬於五級之農地土壤，萃取收集各土壤萃取液進行種子發芽與生長實驗。實驗顯示，直接以土壤加入RO水或者以RO水萃取土壤之萃取液做為種子發芽之培養基，則各土壤之發芽狀況之差距並不顯著，然而若利用土壤之0.1N 鹽酸萃取液進行種子發芽實驗，則污染較嚴重之土壤則有明顯之發芽生長抑制現象。

關鍵詞：生物指標、危害性評估、重金屬、土壤

## Abstract

The Biological marker for hazardous pollutants was valued, it was also a powerful tool to investigate the risk characterization of environmental contamination. Unfortunately, it's difficult to build up a completely biological marker. And to test the hazard of pollutants speedily to the surrounding organisms became more important, especially in the test of contaminated soils. In this study, rapid assays of germination on heavy metal-polluted soils were experimented for the risk

characterization. Rice and carrot seeds were used for germination studies, 3 unpolluted soils and 7 heavy metal-polluted farmland soils in Kaoshiung county were collected for target soils. The results showed that there are less different between polluted and unpolluted soils, while using the soil extractant by RO water as media. But using the extractant by 0.1N HCl solution as media, the germination and growth of rice and carrot seeds were quietly different between soils. And the inhibition of germination was happened within soils that highly polluted.

Key Words : Biological marker, Risk characterization, Heavy metals, Soil

## 一、前言

環境中有害物質的風險評估與風險管理是一種綜合性的科學與藝術。它需要毒理學家、環境學家、環境工程師、流行病學家、統計學家及公共政策和行政管理學家等各方面專業人才之參與和合作，以期在評估過程中所受不確定之因素之干擾度降到最低，並使其所擬訂出來的管理策略具有最大的可行性及實用性。如果從有害因子的角度來看，環境風險評估及風險管理所涉範圍頗為廣泛，它包含了健康風險、生態體系風險及社會風險之評估及管理，但是如果從重金屬有毒物質的角度而言，則主要評估及管理之重點應著重在植栽作物與周遭生物於健康層面之受危害部分，若以經濟角度之評估觀之，則農地能否續行植栽越形種要，然而不論哪一方面之評估，土壤污染對生物之影響均為必要之考量(王銀波等人, 1994)，所以污染生物指標應為重要之評估參考。

因此本研究擬測試建立一簡便迅速之種子發芽快速測定實驗，作為重金屬污染危害生物指標之初步評估參數。種子發芽與初生之過程如下(高景輝等人, 1991)：種子自母體上成熟後，經過一段休眠時間，得到適宜濕度與溫度，重新恢復其生活能力之時稱為發芽 (germination)。種子發芽時，首先吸收水分，繼而酵素開始活動，胚細胞分裂，分化而生長。植物發芽時最先是胚根伸出引長成為初生根，其表皮細胞向外伸長呈管狀是為根毛。隨後種皮破裂，胚莖延長，胚芽及子葉被推出而成幼苗 (seedling)。種子發芽時受各種環境因子影響甚巨，主要是水分、溫度、氧、日照等必要元素，此外毒性物質之存在會明顯抑制種子發芽情形。種子發芽生長率是指在最相同條件下，在特定天數內，發芽的種子數或成長至特定狀況之胚芽數佔供試種子數的百分率。也就是說，種子發芽生長率是在特定條件下的種子活性，它是決定種子發芽生長環境良窳的重要依據。對於土壤污染之危害性判斷，若觀察完整之成長期(發芽至收穫)所需時間甚長，而採取測定發芽生長方法則能在較短時間內獲得結果。其測定結果與完全生長的方法比較，在許多種子中，雖然不完全相同，但趨勢大體一致。

## 二、材料與方法

(一) 受測土壤來源與特性：土壤採集自十處場址(陳意銘等人, 2002)，其中無污染者有三處，七處有重金屬污染情形，詳細污染特性列於表 1。土壤樣品之製備為將土壤風乾 1 天後，以木槌磨碎，再以 20mesh(孔徑為 0.84 mm) 不鏽鋼篩網過篩

(二) 發芽實驗之培養基來源：

1. 控制組(未加土壤之空白實驗)：

(1)RO 水，(2)花寶一號溶液。

2. 土壤之 RO 水萃取液：

3. 土壤之鹽酸萃取液

4. 土壤+水

(三)種子發芽培養皿製備：

1. 棉花。

2. 土壤。

## 三、結果與討論

(一)實驗前期曾使用未經泡水之稻穀，結果至第三天之發芽為比率 9/620，明顯偏低，不符合快速實驗之需求，故後期均採用泡水稻穀。

(二)蘿蔔之發芽實驗(非鹽酸萃取部份)實驗結果如表 3-1~3-4 所示。

1. 土壤之 RO 水萃取液實驗：不論是水土比為 2:1(表 3-1)或是水土比為 1:1(表 3-2)，控制組與污染組之發芽抑制率(未發芽率)或生長抑制率(未發葉率)均無明顯差異，至於兩表中之整治前與整治後之發芽生長狀況亦相近，因此無法藉此方式進行土壤危害性判斷。

2. 土壤+水實驗：四組土壤在土壤添加 RO 水實驗(表 3-3)與添加花寶溶液實驗(表 3-4)之發芽抑制率上差距並不大，但對整治前後之生長抑制率(未發葉率)卻有所差別，例如表 3-3 中，整治前在第四天之未發葉率為 100%，而整治後在第四天之未發葉率為 15%，同樣之狀況亦發生在花寶溶液添加實驗，表 3-4 中，整治前在第四天之未發葉率為 80%，而整治後在第四天之未發葉率為 45%，然而本方法卻無法說明控制組與污染組之生長抑制率相近的現象。

(三)稻穀之發芽實驗(非鹽酸萃取部份)實驗結果如表 4-1~4-4 所示。

1. 土壤之 RO 水萃取液實驗：不論是水土比為 2:1(表 4-1)或是水土比為 1:1(表 4-2)，直到第 8 天止，控制組、污染組、整治前與整治

後等四組之未發芽率以及未發葉率均偏高，顯示本方法在 8 天內各組之發芽生長狀況相近，可能需要更長培養時間才能顯現其差異，因此亦無法藉此方式進行土壤危害性判斷。

2. 土壤+水實驗：四組土壤在土壤添加 RO 水實驗中(表 4-3)之發芽抑制率與生長抑制率(未發葉率)上差距並不大，但在花寶溶液添加實驗中(表 4-4)，整治前後之未發芽率與未發葉率卻有所差別，例如表 4-4 中，整治前在第四天之未發芽率為 80%，而整治後在第四天之未發芽率為 25%，同樣之狀況，整治前在第四天之未發葉率為 100%，而整治後在第四天之未發葉率為 45%，然而與前述蘿蔔發芽實驗相同，這種方法卻無法說明控制組與污染組之發芽與生長抑制率相近的現象，此外除花寶溶液添加實驗之整治後外，其餘組別之未發芽率以及未發葉率在 8 天後均偏高，不利於在短時間內完成實驗。

#### (四) 蘿蔔之發芽實驗(以 0.1N 鹽酸萃取液為培養基)

實驗結果如圖 1~圖 4 所示。

1. 圖 1 為鎘污染五級土壤之鹽酸萃取實驗第四天之結果，其中 No.12 表土、No.17 表裡土之未發芽率明顯高於控制組。然而至第六天時僅有 No.17 表裡土有明顯發芽率偏低之現象(data not shown)。
2. 圖 2 為鋅污染五級土壤實驗第四天之結果，各土壤之發芽抑制率與生長抑制率差距並不大，然而

至第六天，No.18 裡土(鋅污染最嚴重場址)則有發芽率偏低之現象(data not shown)。

3. 圖 3 為鉻、銅、鉛污染五級土壤實驗第四天之結果，其中仍以多重污染之 No.17 表裡土之未發芽率最高。
4. 圖 4 為污染土壤整治前後實驗第四天之結果，其中以污染最為嚴重之整治前 15-30 cm 深之土壤有明顯發芽率偏低之現象，然而觀察整治後各土層之結果，濃度提高之土層(60-100 cm)之發芽與生長狀況則比未整治前還差。

#### (五) 稻穀之發芽實驗(以 0.1N 鹽酸萃取液為培養基)

1. 圖 5 為鎘污染五級土壤之鹽酸萃取實驗第六天之結果，如同蘿蔔發芽實驗，No.12 表裡土、No.17 表裡土之未發芽率明顯高於控制組。
2. 圖 6 為污染土壤整治前後實驗第六天之結果，與蘿蔔發芽實驗不同，整治前後各土層之發芽與生長狀況未有明顯差異。

#### 參考文獻

- 王銀波、陳尊賢、劉文徹、吳先琪、趙震慶、李國欽、王榮德。1994。土壤品質基準—總論。行政院環保署委託計畫。
- 高景輝、張新維、謝兆樞。1991。作物學實習手冊。國立編譯館。
- 陳意銘、盧明俊、張翊峰、林健榮。2002。推動土壤污染防治工作計畫成果報告。高雄縣政府環境保護局委託計畫。

表 1 土壤來源與污染特性

來源	土壤使用與重金屬污染*	來源	土壤使用與重金屬污染		
校園土(嘉南科大)	花園; No	早田; No.23 表土	Zn(四)		
背景土	早田; No	早田; No.23 裡土	Zn(四)		
No.3 表土**	早田; Zn(五)、As(四)	整治地土壤*** (早田)	重金屬(mg/kg, 鹽酸萃取法)		
No.3 裡土	早田; Zn(五)、Cu(四)		Cu	Pb	Zn
No.4 表土	水田; No	整治前 0-15 cm	105	69	110
No.4 裡土	水田; No	整治前 15-30 cm	163	146	196
No.12 表土	早田; Cd(五)、Cu, Ni, Pb(四)	整治前 30-60 cm	99	73	96
No.12 裡土	早田; Cd(五)、Cu, Ni, Pb(四)	整治前 60-100 cm	10	10	2
No.15 表土	水田; Cd(五)、Cu, Ni, Pb(四)	整治後 0-15 cm	70	70	72
No.15 裡土	水田; Cd(五)、Cu, Ni, Pb(四)	整治後 15-30 cm	70	83	101
No.17 表土	早田; Cd, Cr, Cu, Pb(五)	整治後 30-60 cm	59	54	96
No.17 裡土	早田; Cd, Cu, Pb(五)、Ni(四)	整治後 60-100 cm	65	70	115
No.18 表土	早田; Pb(五)、Zn(四)				
No.18 裡土	早田; Zn(五)、Cu, Pb(五)				

\*重金屬污染狀況：重金屬係指鎳、銅、鋅、鉛、鉻、鎘、汞、砷等八種。No 表示小於等於土壤重金屬含量之三級標準；(四)表示達四級標準；(五)表示達五級標準。

\*\*表土係指 0-15 cm 土壤；裡土係指 15-30 cm 土壤。

\*\*\*整治係指翻土整治法。

表 2 種子發芽實驗組別

土壤	培養基	種植種子	土壤之 RO 水 萃取液(2:1)	土壤之 RO 水 萃取液(1:1)	土壤之鹽酸萃 取液(未調 PH)	土壤之鹽酸萃 取液(已調 PH)	土壤加入 RO 水	土壤加入花寶 一號培養液
控制組 (RO)		蘿蔔	√	√	√	√	√	
		稻穀	√	√	√	√	√	
控制組 (花寶一號)		蘿蔔	√	√	√	√		√
		稻穀	√	√	√	√		√
控制組 (學校的土)		蘿蔔			√	√	√	√
		稻穀			√	√	√	√
控制組 (背景土、表土)		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
3 表裡		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
4 表裡		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
12 表裡		蘿蔔	√	√	√	√	√	√
		稻穀	√	√	√	√	√	√
15 表裡		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
17 表裡		蘿蔔	√	√	√	√	√	√
		稻穀	√	√	√	√	√	√
18 表裡		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
23 表裡		蘿蔔				√		
		稻穀				√		
整治前 0~15 cm, 15~30,30~60,60~100		蘿蔔				√	√	√
		稻穀				√	√	√
整治後 0~15 cm, 15~30,30~60,60~100		蘿蔔			√	√	√	√
		稻穀			√	√	√	√

√表示已進行之實驗

表 3 蘿蔔之發芽實驗(非鹽酸萃取部份)結果

實驗條件 發芽狀況	培養 天數	表 3-1 培養基質：土壤之 RO 水萃取液實驗(水土比 2:1)			
		控制組*	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	10%	3.75%	10%	0%
	4	0%	1.25%	5%	0%
	8	0%	0%	0%	0%
未發葉率	2	77.5%	73.75%	55%	75%
	4	2.5%	3.75%	15%	0%
	8	0%	0%	0%	0%
		表 3-2 培養基質：土壤之 RO 水萃取液實驗(水土比 1:1)			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	10%	3.75%	10%	22.5%
	4	0%	3.75%	10%	7.5%
	8	0%	3.75%	10%	5%
未發葉率	2	77.5%	65%	85%	70%
	4	2.5%	6.25%	10%	15%
	8	0%	3.75%	10%	10%
		表 3-3 培養基質：土壤添加 RO 水			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	10%	7.5%	100%	10%
	4	0%	0%	30%	0%
	8	0%	0%	0%	0%
未發葉率	2	60%	80%	100%	75%
	4	20%	22.5%	100%	15%
	8	0%	0%	0%	5
		表 3-4 培養基質：土壤添加花寶溶液			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	20%	12.5%	20%	15%
	4	10%	7.5%	20%	0%
	8	10%	0%	20%	0%
未發葉率	2	100%	82.5%	100%	65%
	4	50%	40%	80%	45%
	8	20%	15%	50%	10%

表 4 稻穀之發芽實驗(非鹽酸萃取部份)結果

實驗條件 發芽狀況	培養 天數	表 4-1 培養基質：土壤之 RO 水萃取液實驗(水土比 2:1)			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	65%	70%	80%	77.5%
	4	65%	67.5%	70%	77.5%
	8	62.5%	66.25%	70%	75%
未發葉率	2	87.5%	86.25%	100%	92.5%
	4	65%	70%	80%	77.5%
	8	65%	68.75%	75%	75%
		表 4-2 培養基質：土壤之 RO 水萃取液實驗(水土比 1:1)			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	65%	68.75%	65%	67.5%
	4	65%	62.5%	60%	67.5%
	8	62.5%	61.25%	55%	62.5%
未發葉率	2	87.5%	92.5%	100%	95%
	4	65%	67.5%	70%	70%
	8	65%	66.25%	55%	70%
		表 4-3 培養基質：土壤添加 RO 水			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	80%	85%	60%	70%
	4	80%	75%	60%	70%
	8	70%	75%	60%	70%
未發葉率	2	90%	90%	70%	80%
	4	80%	85%	50%	65%
	8	80%	82.5%	40%	50%
		表 4-4 培養基質：土壤添加花寶溶液			
		控制組	污染土壤組	整治前	整治後
未發芽率	2	70%	67.5%	90%	30%
	4	70%	67.5%	80%	25%
	8	70%	57.5%	60%	25%
未發葉率	2	100%	85%	100%	75%
	4	80%	75%	100%	45%
	8	80%	67.5%	90%	25%

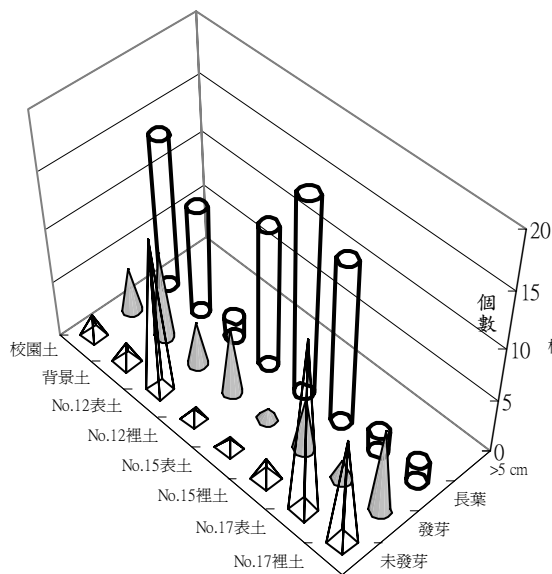


圖 1 蘿蔔之發芽實驗--鎘污染土壤組

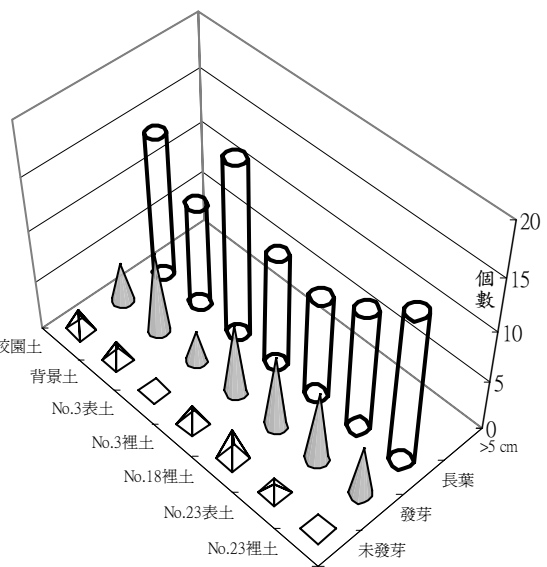


圖 2 蘿蔔之發芽實驗--鋅污染土壤組

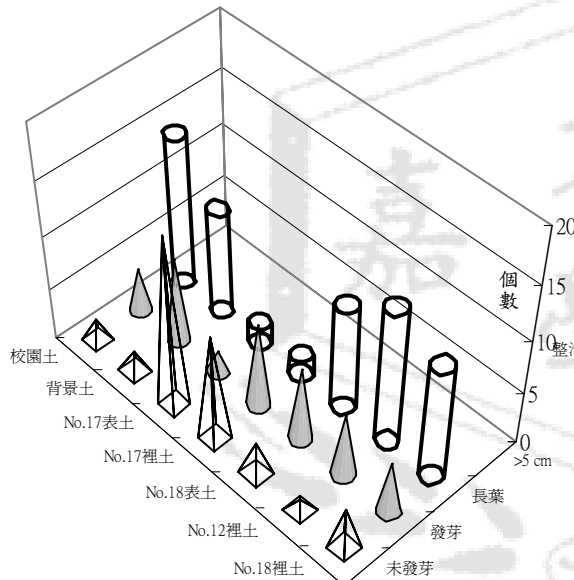


圖 3 蘿蔔之發芽實驗--鉻、銅、鉛污染土壤組

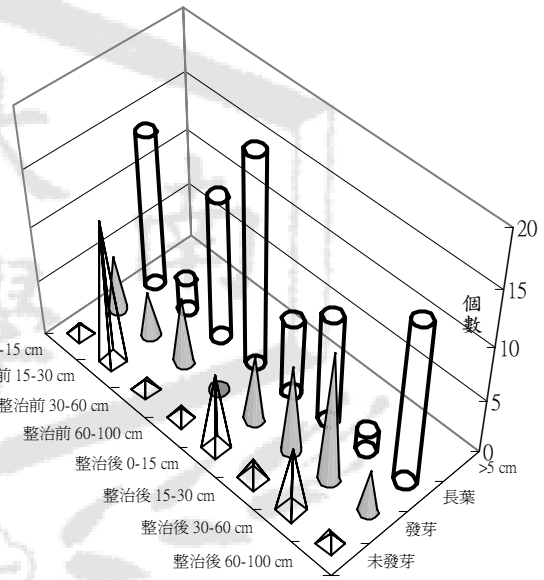


圖 4 蘿蔔之發芽實驗--整治地土壤組

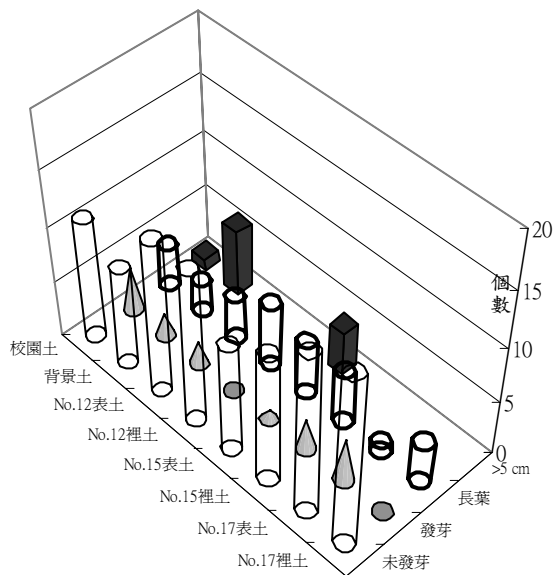


圖 5 稻穀之發芽實驗--鎘污染土壤組

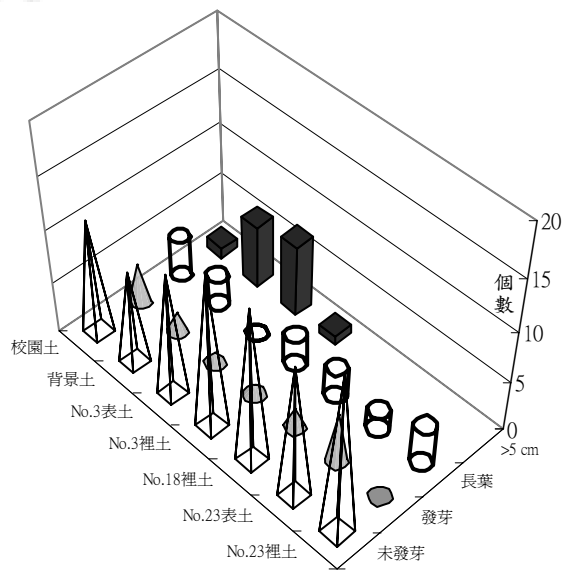


圖 6 稻穀之發芽實驗--整治地土壤組