

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术规程

Code of practice for the screening of tolerant broad-leaves woody plants under heavy metal lead and zinc pollutions

地方标准信息服务平台

2023 - 12 - 20 发布

2024 - 03 - 20 实施

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 试剂和设备.....	1
5 土壤和苗木.....	2
6 筛选流程.....	3
7 质量控制.....	4
8 筛选值计算方法.....	4
9 耐性分析.....	5
10 档案管理.....	5
附录 A（资料性） 铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表.....	6

地方标准信息服务平台

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖南省林业局提出。

本文件由湖南省林业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：湖南农业大学、国家林业和草原局中南调查规划院、郴州市林业综合服务中心。

本文件主要起草人：朱凡、黄鑫浩、楚春晖、许洪扬、于志民、蒋晓辉、孔琳雅。

地方标准信息服务平台

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术规程

1 范围

本文件规定了铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选的试剂和设备、土壤和苗木、筛选流程、质量控制、筛选值计算方法、耐性分析、档案管理等要求。

本文件适用于铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物的筛选。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 17138 土壤质量 铜、锌的测定 火焰原子吸收分光光度法

GB/T 17141 土壤质量 铅、镉的测定 石墨炉原子吸收分光光度法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

铅锌污染胁迫 lead and zinc pollution stress

因过量重金属铅锌污染引起植物的生理性伤害。

3.2

耐性阔叶木本植物 tolerant broad-leaves woody plants

在过量重金属铅锌污染土壤中维持生长发育的阔叶木本植物。

4 试剂和设备

4.1 水和试剂

4.1.1 水

所用水达到 GB/T 6682 规定的三级水要求。

4.1.2 氯化铅

分析纯。

4.1.3 氯化锌

分析纯。

4.1.4 盐酸

密度 $\rho = 1.19 \text{ g/mL}$ ，优级纯。

4.1.5 高浓度铅锌混合溶液

准确称取 12.0805 g 氯化铅（见 4.1.2）和 10.4253 g 氯化锌（见 4.1.3）于 1.0 L 的烧杯中，加水 500 mL，再加入 10 mL 盐酸（见 4.1.4），微热溶解。

冷却后转移至 1.0 L 容量瓶中，用水定容至标线，摇匀。溶液中铅质量浓度为 9.0 g/L、锌质量浓度为 5.0 g/L。

置于 0 °C~4 °C 的冰箱中密闭保存，有效期为 56 d。

4.1.6 中浓度铅锌混合溶液

准确称取 8.0537 g 氯化铅（见 4.1.2）和 5.2127 g 氯化锌（见 4.1.3）于 1.0 L 的烧杯中，加水 500 mL，再加入 10 mL 盐酸（见 4.1.4），微热溶解。

冷却后转移至 1.0 L 容量瓶中，用水定容至标线，摇匀。溶液中铅质量浓度为 6.0 g/L、锌质量浓度为 2.5 g/L。

置于 0 °C~4 °C 的冰箱中密闭保存，有效期为 56 d。

4.1.7 低浓度铅锌混合溶液

准确称取 4.0268 g 氯化铅（见 4.1.2）和 4.1701 g 氯化锌（见 4.1.3）于 1.0 L 的烧杯中，加水 500 mL，再加入 10 mL 盐酸（见 4.1.4），微热溶解。

冷却后转移至 1.0 L 容量瓶中，用水定容至标线，摇匀。溶液中铅质量浓度为 3.0 g/L、锌质量浓度为 2.0 g/L。

置于 0 °C~4 °C 的冰箱中密闭保存，有效期为 56 d。

4.2 仪器设备

4.2.1 光合仪

便携式红外二氧化碳气体分析仪。配备 0~2 000 $\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ 连续变化的 LED 红蓝光源，二氧化碳量程 0~3 000 $\mu\text{mol/mol}$ ，水测量范围 0~75 mmol/mol，光合有效辐射量程 0~3 000 $\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ 。

4.2.2 叶绿素荧光仪

便携式叶绿素荧光测定仪。红色作用光波长 625 nm~655 nm，蓝色作用光波长 470 nm~475 nm，光合有效辐射量程 0~7 000 $\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ 。

4.2.3 叶绿素相对含量测定仪

便携式叶绿素相对含量（SPAD）测量仪。最大允许误差 ± 1.0 SPAD 单位。

5 土壤和苗木

5.1 土壤

选用肥沃、无重金属污染土壤，风干后，过 40.0 mm 孔径筛。

土壤、河沙按体积比 8:2 配制，搅拌均匀，分装于花盆中，每个花盆装土 5.0 kg。

树苗移栽前 1 d~2 d，用 600 倍~800 倍的多菌灵溶液淋透土壤。

5.2 树苗

选用 2 年生裸根苗，苗高、地径保持一致，相差不应超过 5%。
树苗宜选择根系发达、生长迅速、抗逆性强的本土植物。

5.3 基肥

每盆施 N、P、K 含量分别为 15%、15%、15% 的复合肥 0.15 kg。

5.4 移栽

移栽前将树苗的根部放入盛有 0.05% 的高锰酸钾溶液的盆中，消毒 20 min~30 min。每盆栽苗 1 株，浇透定根水。

5.5 水分

根据土壤墒情、苗木生长发育状况等进行浇水。

5.6 除草

及时拔除杂草。

6 筛选流程

6.1 胁迫处理

6.1.1 高浓度铅锌污染胁迫

移栽 90 d 后，用高浓度铅锌混合溶液（见 4.1.5）500 mL 分 2 次间隔 1 d 进行浇灌，每次 250 mL。处理 6 盆。

浇灌时以植株为中心，均匀浇灌到植株周围的土壤中，避免将溶液直接接触到植物基部和干。

6.1.2 中浓度铅锌污染胁迫

用中浓度铅锌混合溶液（见 4.1.6）按照 6.1.1 操作。

6.1.3 低浓度铅锌污染胁迫

用低浓度铅锌混合溶液（见 4.1.7）按照 6.1.1 操作。

6.2 叶片光合能力测定方法

6.2.1 测定时间和样品数量

胁迫处理后 15 d~30 d 进行叶片光合能力测定，在每株树苗中下部选取远离主干的完全展开叶片作为测定对象，共测定 9 片。

6.2.2 光合速率 (P_n) 测定

光合速率 (P_n) 的测定方法如下：

- 选择天气晴朗的上午 8:00~11:00；
- 待测叶至少能覆盖住光合仪叶室 2/3 的面积；

- c) 测定仪器的光合有效辐射设置为 $1\ 000\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \sim 1\ 200\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ，二氧化碳浓度设置为 $360\ \mu\text{mol}/\text{mol}$ ，空气流速 $0.5\ \text{L}/\text{min}$ ，相对湿度 50% ；
- d) 每片叶测量时，每秒钟二氧化碳和水的变化速率宜在 0.5 以内，光合仪的“稳定参数(Stable)”在 $2/3 \sim 1$ 之间稳定 $60\ \text{s}$ ，保存测量数据，作为 1 次 P_n 测量值。

6.2.3 最大光化学效率 (F_v/F_m) 测定

最大光化学效率 (F_v/F_m) 的测定方法如下：

- a) 选择天气晴朗的上午 $8:00 \sim 11:00$ 或下午 $2:30 \sim 5:00$ ；
- b) 测定前先用暗适应夹对叶片进行小于 $30\ \text{min}$ 的暗适应（避开叶片主脉及叶缘），之后将光量子探头嵌入暗适应夹并拉开遮光片；
- c) 设置光化光强度为 $300\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \sim 500\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ，启动诱导曲线测量程序，待测量结束后保存测量数据，作为 1 次 F_v/F_m 测量值。

6.2.4 叶绿素相对含量 (SPAD) 测定

叶绿素相对含量 (SPAD) 的测定方法如下：

- a) 选择天气晴朗的上午 $8:00 \sim 11:00$ 或下午 $2:30 \sim 5:00$ ；
- b) 测定时夹住叶片（避开叶片主脉及叶缘），每片叶子测 3 次，取平均值作为 1 次 SPAD 值。

6.3 土壤采样与测定

6.3.1 土壤采样

叶片光合能力测定（见 6.2）结束后，将单个花盆中的土全部倒出，去除根系、杂物，拌匀，不应将不同花盆中的土混合。用木勺分别采集每个花盆土样，每个样品的重量不少于 $1.0\ \text{kg}$ ，装入规格为 $7\ \text{cm} \times 10\ \text{cm}$ 的聚乙烯塑料袋密封编号存放。

土样风干后通过 $0.149\ \text{mm}$ 尼龙筛，装入密封袋中备用。

6.3.2 土壤中铅、锌含量测定

铅测定按照 GB/T 17141 规定执行，锌测定按照 GB/T 17138 规定执行。

7 质量控制

将测定的数据进行分析，剔除超过标准偏差 3 倍的数据，有效数据应有 6 个及以上。

8 筛选值计算方法

根据土壤铅或锌含量、叶片 P_n 或 F_v/F_m 值建立二元一次拟合方程。

从土壤铅含量—叶片 P_n 值二元一次方程和土壤锌含量—叶片 P_n 值二元一次方程中分别计算出 P_n 的最大值，取平均值，记作光合速率的最大值 $\text{max}P_n$ 。

从土壤铅含量—叶片 F_v/F_m 值二元一次方程和土壤锌含量—叶片 F_v/F_m 值二元一次方程中分别计算出 F_v/F_m 的最大值，取平均值，记作最大光化学效率的最大值 $\text{max}F_v/F_m$ 。

铅锌污染耐性阔叶木本植物筛选值按式（1）计算。

$$F = \frac{\text{max}F_v/F_m - F_v/F_m}{\text{max}F_v/F_m} + \frac{\text{max}P_n - P_n}{\text{max}P_n} \dots \dots \dots (1)$$

- c) 测定仪器的光合有效辐射设置为 $1\ 000\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \sim 1\ 200\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ，二氧化碳浓度设置为 $360\ \mu\text{mol}/\text{mol}$ ，空气流速 $0.5\ \text{L}/\text{min}$ ，相对湿度 50% ；
- d) 每片叶测量时，每秒钟二氧化碳和水的变化速率宜在 0.5 以内，光合仪的“稳定参数(Stable)”在 $2/3 \sim 1$ 之间稳定 $60\ \text{s}$ ，保存测量数据，作为 1 次 P_n 测量值。

6.2.3 最大光化学效率 (F_v/F_m) 测定

最大光化学效率 (F_v/F_m) 的测定方法如下：

- a) 选择天气晴朗的上午 $8:00 \sim 11:00$ 或下午 $2:30 \sim 5:00$ ；
- b) 测定前先用暗适应夹对叶片进行小于 $30\ \text{min}$ 的暗适应（避开叶片主脉及叶缘），之后将光量子探头嵌入暗适应夹并拉开遮光片；
- c) 设置光化光强度为 $300\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \sim 500\ \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ，启动诱导曲线测量程序，待测量结束后保存测量数据，作为 1 次 F_v/F_m 测量值。

6.2.4 叶绿素相对含量 ($SPAD$) 测定

叶绿素相对含量 ($SPAD$) 的测定方法如下：

- a) 选择天气晴朗的上午 $8:00 \sim 11:00$ 或下午 $2:30 \sim 5:00$ ；
- b) 测定时夹住叶片（避开叶片主脉及叶缘），每片叶子测 3 次，取平均值作为 1 次 $SPAD$ 值。

6.3 土壤采样与测定

6.3.1 土壤采样

叶片光合能力测定（见 6.2）结束后，将单个花盆中的土全部倒出，去除根系、杂物，拌匀，不应将不同花盆中的土混合。用木勺分别采集每个花盆土样，每个样品的重量不少于 $1.0\ \text{kg}$ ，装入规格为 $7\ \text{cm} \times 10\ \text{cm}$ 的聚乙烯塑料袋密封编号存放。

土样风干后通过 $0.149\ \text{mm}$ 尼龙筛，装入密封袋中备用。

6.3.2 土壤中铅、锌含量测定

铅测定按照 GB/T 17141 规定执行，锌测定按照 GB/T 17138 规定执行。

7 质量控制

将测定的数据进行分析，剔除超过标准偏差 3 倍的数据，有效数据应有 6 个及以上。

8 筛选值计算方法

根据土壤铅或锌含量、叶片 P_n 或 F_v/F_m 值建立二元一次拟合方程。

从土壤铅含量—叶片 P_n 值二元一次方程和土壤锌含量—叶片 P_n 值二元一次方程中分别计算出 P_n 的最大值，取平均值，记作光合速率的最大值 $\text{max}P_n$ 。

从土壤铅含量—叶片 F_v/F_m 值二元一次方程和土壤锌含量—叶片 F_v/F_m 值二元一次方程中分别计算出 F_v/F_m 的最大值，取平均值，记作最大光化学效率的最大值 $\text{max}F_v/F_m$ 。

铅锌污染耐性阔叶木本植物筛选值按式（1）计算。

$$F = \frac{\text{max}F_v/F_m - F_v/F_m}{\text{max}F_v/F_m} + \frac{\text{max}P_n - P_n}{\text{max}P_n} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

F ——筛选值

$\max F_v/F_m$ ——最大光化学效率的最大值；

F_v/F_m ——最大光化学效率（见 6.2.3）；

$\max P_n$ ——光合速率的最大值，单位为微摩尔每平方米秒（ $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ）；

P_n ——光合速率（见 6.2.2），单位为微摩尔每平方米秒（ $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ）。

9 耐性分析

根据筛选值 F 和 $SPAD$ 值，进行耐性分析。 F 值大于等于 0.57 且 $SPAD$ 值小于等于 32.2，判定该木本植物对铅锌耐性弱； F 值小于等于 0.4 且 $SPAD$ 值大于等于 35.0，判定该木本植物对铅锌耐性强。

10 档案管理

应建立完整的技术档案，包括铅锌污染胁迫处理过程、苗木生长状况、光合能力测定结果和土壤铅锌含量等。记录格式和具体内容见附录 A。

地方标准信息服务平台

附录 A

(资料性)

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表见表A.1。

表A.1 铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表

记录者		地点		日期		天气	
植物名称及编号				盆栽数量			
苗木管理	浇水时间						
	除草时间						
铅锌污染胁迫处理	处理时间						
	处理浓度						
筛 选 过 程 记 录	测定时间						
	苗木生长	苗高				平均值	
						标准偏差	
		地径				平均值	
						标准偏差	
	光合能力参数	P_n				平均值	
						标准偏差	
		F_v/F_m				平均值	
						标准偏差	
	土壤重金属含量	土壤铅含量				平均值	
						标准偏差	
		土壤锌含量				平均值	
			标准偏差				

式中：

F ——筛选值

$\max F_v/F_m$ ——最大光化学效率的最大值；

F_v/F_m ——最大光化学效率（见 6.2.3）；

$\max P_n$ ——光合速率的最大值，单位为微摩尔每平方米秒（ $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ）；

P_n ——光合速率（见 6.2.2），单位为微摩尔每平方米秒（ $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ）。

9 耐性分析

根据筛选值 F 和 $SPAD$ 值，进行耐性分析。 F 值大于等于 0.57 且 $SPAD$ 值小于等于 32.2，判定该木本植物对铅锌耐性弱； F 值小于等于 0.4 且 $SPAD$ 值大于等于 35.0，判定该木本植物对铅锌耐性强。

10 档案管理

应建立完整的技术档案，包括铅锌污染胁迫处理过程、苗木生长状况、光合能力测定结果和土壤铅锌含量等。记录格式和具体内容见附录 A。

地方标准信息服务平台

附 录 A
(资料性)

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表

铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表见表A.1。

表A.1 铅锌重金属污染耐性阔叶木本植物筛选技术过程记录表

记录者		地点		日期		天气	
植物名称及编号				盆栽数量			
苗木管理	浇水时间						
	除草时间						
铅锌污染胁迫处理	处理时间						
	处理浓度						
筛 选 过 程 记 录	测定时间						
	苗木生长	苗高				平均值	
						标准偏差	
		地径				平均值	
						标准偏差	
	光合能力参数	P_n				平均值	
						标准偏差	
		F_v/F_m				平均值	
						标准偏差	
	土壤重金属含量	土壤铅含量				平均值	
						标准偏差	
		土壤锌含量				平均值	
			标准偏差				