



污染土壤
生物修复丛书

WURAN TUANG
SHENGWU XIUFU CONGSHU

污染土壤植物 - 微生物 联合修复技术及应用

WURAN TURANG ZHIWU WEISHENGWU
LIANHE XIUFU JISHU JI YINGYONG

王红旗 杨艳 花菲 李艺 等著

中国环境出版社

《石油烃污染土壤生物修复丛书》系列

国家自然科学基金资助项目 (项目编号: 40472129, 40772149, 41072177, 41372232)

国家高技术研究发展计划 (“863” 计划) 资助项目 (项目编号: 2007AA06Z308)

污染土壤植物-微生物联合修复技术及应用

王红旗 杨 艳 花 菲 李 艺 等著

中国环境出版社·北京

图书在版编目 (CIP) 数据

污染土壤植物-微生物联合修复技术及应用/王红旗等著. —北京: 中国环境出版社, 2015.9

(污染土壤生物修复丛书)

ISBN 978-7-5111-2148-6

I. ①污… II. ①王… III. ①污染土壤改良—生物防治 (环境污染)—研究 IV. ①X522

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 281289 号

出版人 王新程
责任编辑 殷玉婷 沈建
责任校对 尹芳
封面设计 金喆

出版发行 中国环境出版社
(100062 北京市东城区广渠门内大街 16 号)
网 址: <http://www.cesp.com.cn>
电子邮箱: bjgl@cesp.com.cn
联系电话: 010-67112765 (编辑管理部)
010-67187041 (学术著作图书出版中心)
发行热线: 010-67125803, 010-67113405 (传真)

印 刷 北京中科印刷有限公司
经 销 各地新华书店
版 次 2015 年 9 月第 1 版
印 次 2015 年 9 月第 1 次印刷
开 本 787×960 1/16
印 张 21
字 数 390 千字
定 价 65.00 元

【版权所有。未经许可, 请勿翻印、转载, 违者必究。】
如有缺页、破损、倒装等印装质量问题, 请寄回本社更换

内容简介

本书主要内容分为 8 章。第 1 章为绪论，主要介绍了土壤环境污染及主要修复技术，污染土壤植物修复、植物-微生物联合修复的概念、原理、技术特点与发展趋势，复合污染的概念、分类及主要作用类型等；第 2 章介绍了超累积植物的发现及其特征，植物修复土壤重金属的吸收、运输、累积、解毒机理，重金属污染土壤植物修复强化技术等；第 3 章以鬼针草为例，介绍了超累积植物对重金属铅的吸收积累特性，以鬼针草、龙葵为例，介绍了单一重金属镉、铅污染对植物生长状况、根际 pH 及微生物的影响，植物对重金属的吸收、富集和转运能力积累特性；第 4 章介绍了重金属-多环芳烃复合污染对植物生理生态的影响；第 5 章介绍了重金属-多环芳烃复合污染环境污染物分配和对土壤酶活的影响；第 6 章以镉铅污染土壤为例，介绍了重金属污染耐性菌株的筛选，重金属对植物生长状况的影响，植物-微生物联合修复对重金属活性、吸收、分配的影响，联合修复对根际物理、微生物、酶活的影响等；第 7 章介绍了石油污染土壤植物-微生物联合修复的菌株和植物筛选、植物-外源菌联合修复过程中的石油降解、酶活、微生物功能多样性和遗传多样性等变化规律；第 8 章以镉铅为例介绍了重金属复合污染环境下的植物-微生物联合修复的作用机制及特殊规律；在附录中介绍了本书涉及的主要实验方法与分析方法。

本书从目前土壤污染生物修复的需求出发，深入研究和分析了土壤污染植物-微生物联合修复作用机制，涵盖了环境科学、微生物学、植物生理学、分子生物学等相关领域的知识，是一本很好的工具书和参考书，可以作为相关领域专家、学者以及研究生的参考用书。

《石油烃污染土壤生物修复丛书》出版说明

20 世纪初,全世界开始大规模地开采石油。随着经济与社会的发展,石油已成为人类最主要的能源之一,当今世界的石油总产量,每年约有 22 亿 t,其中 17.5 亿 t 是由陆地油田生产的。石油开采以及石油产品的生产与使用,皆会引起污染,给生态与环境带来危害。目前,石油污染已经成为世界各国普遍关注的问题。

我国作为石油生产大国,所生产的原油大部分出自陆上油田。在陆地上进行石油生产时,大量生产设施分布于油田内,这些设施由于各种原因,会把原油直接或者间接泄于油区地面上,这些石油烃类物质进入土壤环境后,会发生一系列的物理、化学和生化作用,不可避免地对环境造成污染。

目前,针对土壤的石油烃污染,国内外学者开展了大量的研究,我国也在该研究领域取得了大量的进展。为了更全面、更系统地展示相关研究成果,全面介绍石油烃污染土壤的生物修复技术及相关机理,北京师范大学水科学研究院策划出版《石油烃污染土壤生物修复丛书》。

丛书包括《石油烃污染土壤的微生物修复技术及应用》《污染土壤植物-微生物联合修复技术及应用》和《土壤微生物对石油烃的吸附摄取与跨膜运输》三部专著。从石油烃污染土壤生物修复的基础理论方面以及实际应用方面出发,结合相关的研究成果,力求展示本研究领域最新的研究进展及发展动态。丛书涵盖环境科学、微生物学、地球科学等

多个学科领域的优秀国家级科研项目的成果，对石油烃污染土壤的生物修复的技术、方法、机理及实际工程应用进行了全面的阐述，具有重要的理论和实践意义。

我们相信，丛书的出版，会对广大研究者洞悉石油烃污染土壤的生物修复技术和机理、了解该领域的发展方向及发展趋势发挥积极作用，对应用生物技术净化土壤石油烃类污染物的研究和发展产生巨大的推动作用。

王红旗

2014年10月

前 言

本书作为《石油烃污染土壤生物修复丛书》的第二册，在本丛书第一册《石油烃污染土壤的微生物修复技术及应用》基础上，进一步介绍了污染土壤植物修复技术，以及与微生物联合后，进行土壤修复的技术特点、优势及相关应用。

本书从目前土壤污染生物修复的需求出发，以植物修复、植物-微生物联合修复为技术手段，以重金属污染、石油烃污染及其复合污染土壤为修复对象，分析了污染土壤根际微生态调节过程、修复体系中酶活性变化规律、微生物多样性变化规律，探讨了土壤复合污染的联合作用机理、植物-微生物联合修复的作用机制。涵盖了环境科学、微生物学、植物生理学、分子生物学等相关领域的知识，是一本很好的工具书和参考书，可以作为土壤环境修复、微生物学、植物学等相关领域相关专家、学者以及研究生的参考用书。

本书是集体努力的成果。参加编写的人员有：前言，王红旗；第1章，王红旗、杨艳、花菲、李艺；第2章，杨艳、王红旗、李艺、花菲；第3章，王红旗、李华、杨艳、王旭梅；第4章，王红旗、王帅、杨艳、李艺；第5章，杨艳、王红旗、花菲、王帅；第6章，杨艳、王红旗、李晓斌、王倩；第7章，花菲、王红旗、杨艳、熊樱；第8章，王旭梅、王红旗、花菲、杨艳；附录，杨艳、李艺、花菲。花菲、赵一村和刁硕完成全书图表的制作，王红旗、杨艳负责全书的统稿。

同样地,本书中的研究工作先后得到了国家自然科学基金“包气带微生物对多环芳烃的吸附摄取、运输与跨膜分配研究”(41072177),国家高技术研究发展计划(863)项目“低温环境石油烃污染土壤的作物-微生物协同修复技术研究”(2007AA06Z308),高等学校博士学科点专项科研基金“包气带石油烃类污染物在微生物细胞中的吸附摄取与运输”(200800270016),国家高技术研究发展计划(863)重大项目“滨海湿地区石油采场及周边污染土壤修复技术研究与示范”(2013AA06A205),中国博士后科学基金“北方滨海湿地油污土壤的植物-微生物协同修复技术研究”的支持。此外,本书在编写的过程中,参考了国内外专家、学者的相关成果,在此表示衷心的感谢!

真诚希望读者对本书的不足之处提出修改意见。

王红旗

2015年6月

目 录

第 1 章 绪 论.....	1
1.1 土壤环境污染及修复技术概述.....	1
1.2 污染土壤植物修复概述.....	4
1.3 植物-微生物联合修复概述.....	10
1.4 复合污染概述.....	18
第 2 章 重金属污染土壤植物修复机理.....	23
2.1 超积累植物.....	23
2.2 植物修复重金属污染土壤主要机理.....	26
2.3 污染土壤植物修复强化技术.....	33
2.4 重金属-多环芳烃复合污染土壤生态特点.....	46
第 3 章 植物对污染土壤中单一重金属的修复.....	53
3.1 鬼针草对重金属铅的吸收积累特性.....	53
3.2 土壤中单一重金属镉、铅的植物修复.....	84
第 4 章 Pb-BaP 复合污染对植物生理生态的影响.....	97
4.1 复合污染对植物幼苗生长的影响.....	97
4.2 复合污染下植物抗氧化酶系响应研究.....	125
4.3 复合污染对植物光合作用的影响.....	151

第 5 章 Pb-BaP 复合污染对土壤酶活性影响及分配归宿.....	155
5.1 Pb-BaP 复合污染对土壤酶活性的影响.....	155
5.2 Pb-BaP 在土壤-植物体系的分配和归宿规律.....	180
第 6 章 重金属污染土壤植物-微生物联合修复技术.....	195
6.1 镉、铅耐性菌株的筛选鉴定及特性研究.....	195
6.2 重金属胁迫下微生物对植物生长状况的影响.....	205
6.3 植物接种微生物对土壤重金属活性的影响.....	206
6.4 微生物调控下土壤中重金属的植物吸收与分配.....	217
6.5 接种微生物对植物体内镉、铅富集、迁移能力影响.....	221
6.6 镉、铅污染条件下接菌处理根际土 pH 和根际微生物影响.....	222
6.7 镉、铅污染下接菌处理对根际土中脲酶活性的影响.....	223
第 7 章 石油污染土壤冬小麦-低温降解菌联合修复.....	227
7.1 室内冬小麦-低温降解菌对石油污染土壤的联合修复研究.....	227
7.2 石油污染土壤冬小麦-耐低温降解菌田间联合修复效果.....	239
7.3 冬小麦-固定化耐低温降解菌联合修复石油污染土壤的适宜条件.....	245
第 8 章 重金属复合污染土壤的植物-微生物联合修复.....	252
8.1 接种微生物对植物吸收与积累重金属镉、铅的影响.....	252
8.2 土壤中镉、铅复合污染物的富集、转运能力.....	261
8.3 镉、铅复合胁迫各因素相互作用关系.....	266
8.4 镉、铅复合污染对土壤酶活性的影响.....	269
参考文献.....	276
附 录.....	295
附录 1 植物吸收污染物温室盆栽实验.....	295
附录 2 模拟根箱实验.....	297
附录 3 添加化学修复剂对植物吸收污染物的影响.....	298
附录 4 Pb-BaP 复合污染条件下植物修复实验.....	298

附录 5 植物-微生物协同修复实验	302
附录 6 Biolog 分析方法.....	304
附录 8 冬小麦-耐低温菌联合修复石油污染土壤实验.....	307
附录 9 植物生长及体内污染物测定.....	310
附录 10 植物生理生态效应实验.....	312
附录 11 土壤性质及污染物分析方法.....	315
附录 12 土壤酶活性分析.....	318

第 1 章

绪 论

1.1 土壤环境污染及修复技术概述

1.1.1 土壤环境污染概述

土壤环境是指岩石经过物理、化学、生物的侵蚀和风化作用，以及地貌、气候等诸多因素长期作用下形成的土壤的生态环境。土壤环境由矿物质、动植物残体腐烂分解产生的有机物质以及水分、空气等固、液、气三相组成。

土壤环境污染是指污染物通过各种途径进入土壤，其数量和速度超过了土壤容纳和净化能力，而使土壤的性质、组成和性状等发生改变，破坏土壤的自然生态平衡并导致土壤的自然功能失调、质量恶化的现象。

土壤污染主要由人类活动引起，根据污染源的性质将其划分为工业污染源、农业污染源、生物污染源、交通污染源、放射性污染源和生活污染源。根据土壤环境污染物性质，可分为有机污染物、无机污染物、放射性污染物和病原菌污染物等（王红旗等，2007a）。土壤有机污染物种类很多，主要有杀虫剂、除草剂、石油类和化工污染物等，大多具有难降解性或高毒性。土壤无机污染物主要有重金属污染物、酸碱污染物和化学肥料三大类。

本书主要涉及有机污染中石油类污染物和无机污染物中重金属类污染物的修复。石油类污染物主要来自炼油企业、采油区和油田废油，主要污染物为难以降解的芳烃物质。重金属污染物形态稳定、不会分解、容易富集，是土壤中最难以治理的一种污染物，镉、汞、铅、铜等是几种常见的重金属污染物。

1.1.2 污染土壤修复技术概述

污染土壤修复途径主要有 2 种：① 稳定化，即改变污染物质在土壤中的存在

形态、使其固定，降低其在土壤环境中的迁移性和生物有效性；②去污染，即从土壤中去污染物质，使其存留浓度接近或达到背景。围绕这2种途径，已相应地提出不同的物理、化学和生物修复技术（王红旗等，2007a）。

1.1.2.1 物理修复技术

（1）物理分离技术

物理分离修复技术是指借助于物理手段将污染物从土壤胶体上分离开来的技术，主要包括粒径分离、重力分离、脱水分离、浮选分离、磁分离等技术。物理分离修复技术简单、费用低、选择性低，但其处理效果通常并不理想，不能充分达到土壤修复的要求。

（2）改土法

改土法是用新鲜未受污染的土壤替换或部分替换原污染土壤，以稀释原土壤污染物浓度，增加土壤环境容量的方法。改土法可分为翻土法、换土法和客土法3种方法。

（3）电动修复

污染土壤的电动修复是一门综合土壤物理、化学、电化学和分析化学等交叉的研究领域，它主要是通过通过在污染土壤两侧施加直流电压形成电场梯度，土壤中的污染物质在电场作用下通过各种电动力效应被带到电极两端从而清洁污染土壤。

（4）热处理法

热处理法是把污染土壤进行加热，使污染物热分解的方法，一般多用于处理能够热分解的有机污染物。从经济实用方面考虑，主要加热方法有红外线辐射、微波和射频方式加热、管道输入水蒸气等。热处理法工艺简单、成熟，但能耗过大、操作费用高，同时可能破坏土壤有机质和结构水，容易造成二次污染。

（5）冰冻修复

冷冻修复技术在隧道、矿山及其他一些工程项目中应用已十分广泛，应用时间也较久。然而通过降到0℃以下冻结土壤，形成地下冻土层以防止土壤中的污染物质扩散的方法还是一门新兴的污染土壤修复技术。土壤冰冻修复技术原理是在地下以等间距的形式围绕已知的污染源垂直安放管道，然后将环境无害的冷冻剂送入管道使土壤中的水分冻结，形成地下冻土屏障，防止污染物的扩散。

1.1.2.2 化学修复技术

污染土壤的化学修复是利用化学修复剂与土壤污染物发生一定的化学反应，使污染物被降解和毒性被去除或降低的修复技术。化学修复技术发展较早，也相对成熟。目前主要有以下4类技术。

(1) 溶剂浸提技术

溶剂浸提技术通常也称为化学浸提技术，是利用化学溶剂将有害化学物质从污染土壤中提取出来而去除的技术。如PCBs、油脂类是不溶于水的污染物质，易于吸附在土壤中，处理难度很大，溶剂浸提技术可轻易去除该类土壤污染物。

(2) 化学氧化技术

化学氧化修复技术，即向土壤中加入化学氧化剂，使其与污染物发生氧化反应而降低土壤污染物毒性的一项土壤修复技术。化学氧化技术主要用来修复被油类、有机溶剂多环芳烃、POP、农药以及非水溶态氯化物。该技术不需要挖掘污染土壤，只在污染区的不同深度钻井，通过泵将氧化剂注入土壤，使氧化剂与污染物发生反应，通常一个井注入氧化剂，另一个井抽提废液。

(3) 土壤改良技术

土壤改良技术主要通过施用改良剂、调节土壤氧化还原电位等手段，有效降低污染物的水溶性、扩散性和生物有效性，从而降低它们进入植物体、微生物体和水体的能力，减轻它们对生态环境的危害。该法是原位处理方法，不需要搭建复杂的工程装备，因此是经济有效的污染土壤修复途径之一。

(4) 固定/稳定化技术

固定/稳定化技术指防止或降低污染土壤释放有害化学物质的一组修复技术，通常用于重金属和放射性物质污染土壤的无害化处理。固定/稳定化技术包括异位固定/稳定化，即将土壤挖掘出来，投放到模具中或放置到空地上进行稳定化处理，以及在污染土地原位进行处理的原位固定/稳定化。

1.1.2.3 生物修复技术

生物修复(Bioremediation)是利用生物对环境污染物的吸收、代谢、降解等作用(尤其是微生物的降解作用和植物的吸收、矿化作用)及其相应的配套辅助管理措施，来减少甚至消除环境中污染物的工程技术。根据修复使用对象不同，主要分为植物修复、微生物修复和植物-微生物联合修复3种类型。

(1) 植物修复技术

植物修复技术是以植物忍耐和超量积累某种或某些化学元素的理论为基础利用植物及其共存微生物体系清除环境中的污染物的一门环境污染治理技术。广义的植物修复技术包括利用植物修复重金属污染的土壤、利用植物净化空气、利用植物清除放射性核素和利用植物及其根际微生物共存体系净化土壤中有机污染物 4 个方面。狭义的植物修复技术主要指利用植物清洁污染土壤中的重金属（唐世荣等，1996）。

(2) 微生物修复技术

微生物修复技术是利用土壤中的土著菌或向污染土壤中接种选育的高效降解菌，在优化的环境条件下，加速石油污染物的降解。微生物修复是研究最多、应用也最为广泛的一种生物修复方法，由此产生一系列生物修复技术如土耕法、生物通气法、预制类型床法、堆肥法、生物反应器等。详见本丛书第一册《石油烃污染土壤的微生物修复技术及应用》。

(3) 植物-微生物联合修复技术

植物-微生物联合修复指利用植物及其根际微生物共存体系的吸收和代谢能力来净化土壤中的污染物。在有植物生长时，其根系提供了微生物生长的最佳场所，并为微生物生长代谢提供氧气和养料；反过来，微生物的旺盛生长，增强了对有机污染物的降解，也使植物有更优化的生长环境，这样的植物-微生物联合体系能促进有机污染物的快速降解、矿化。

以下将重点就污染土壤植物修复技术、植物-微生物联合修复技术进行简介。

1.2 污染土壤植物修复概述

1.2.1 污染土壤植物修复的概念

污染土壤植物修复是指利用植物及其根际圈微生物体系的吸收、挥发、转化和降解的作用机制来清除土壤中的污染物质（曲向荣等，2008）。

金属污染土壤的植物修复是一种利用自然生长植物或者遗传工程培育植物修复重金属污染土壤环境的技术总称（骆永明，1999）。

1.2.2 污染土壤植物修复主要原理

根据修复植物在某一方面的修复功能和特点可将植物修复原理主要分为以下6种基本类型。

1.2.2.1 植物吸收 (Phytoextraction)

植物吸收是利用专性植物根系吸收一种或几种污染物(特别是有毒金属),并将其转移、贮存到植物茎叶,然后收割茎叶(有时包括部分根)并集中离地处理,然后再继续种植植物以使土壤中污染物含量降低到可以接受的水平。植物吸收是目前研究最多且最有发展前途的一种植物修复技术。

有机污染物从土壤进入植物体内的途径主要包括:①植物根/土界面吸收,随蒸腾流的传输并累积于植物体内;②有机污染物从土壤挥发到大气,进一步为植物叶片吸收和累积(黄化刚,2012)。

土壤有机污染物的植物吸收取决于污染物的性质、植物种类和土壤性质等。

①植物吸收取决于有机污染物本身的理化性质。化合物的相对亲脂性决定其跨膜运输和在水相中的溶解度。辛醇-水分配系数(K_{ow})越小,该化合物的水溶性越高,而亲脂性越小。土壤中的有机污染物是通过在水中的扩散和质流到达根系表面,根系中的大部分溶质也要通过蒸腾流而被运往地上部。 $K_{ow}>3$ 的化合物,由于根系表面的强烈吸附而不易在植物体内运输,水溶性高的化合物($K_{ow}<0.5$)则不能被吸附到根系表面或不能进行主动的跨膜运输(Alkorta和Garbisu,2001)。因此, $K_{ow}=0.5\sim 3$ 的中度疏水化合物最容易被植物吸收和转运至地上部组织,但是较难在初皮部流动(陈怀满,2002)。如:DDT的 K_{ow} 为6.9,其代谢产物DDD、DDE的 K_{ow} 分别为6.0和6.5,均难以被植物根系吸收和向地上部转运。②对于同一种有机污染物,不同植物种类的吸收能力差异很大。筛选吸收、积累能力强的新植物或新品种是进一步发展和完善植物修复技术的重要研究内容。植物根系表面积大小对有机污染物的吸收有较大影响,表面积越大,特别是根细毛越多,吸收的污染物也越多。除杀虫剂、除草剂、PAHs、HCB、DDTs等POPs类有机物外均可以被植物组织直接吸收。③植物对有机污染物的吸收还依赖于土壤环境因子(土壤pH、有机质含量、水分条件、黏土含量、阳离子交换量、温度等),环境条件的改变会影响农药的生物利用性。施用人工合成或者天然的表面活性剂可以增加有机污染物的溶解性,促进植物和对污染物的吸收。

1.2.2.2 植物挥发 (Phytovolatilization)

植物挥发是利用植物将土壤中的一些挥发性污染物吸收到植物体内, 然后将其转化成气态物质释放到大气中, 从而对污染土壤起到治理作用。

植物挥发研究目前主要集中在易挥发的类金属元素汞和非金属元素硒等方面, 对类金属元素砷有机污染物质治理也具有较好的应用前景。离子态汞 (Hg^{2+}) 在厌氧细菌的作用下可以转化成对环境危害最大的甲基汞 (MeHg)。利用细菌先在污染位点存活繁衍, 然后通过酶的作用将甲基汞和离子态汞转化成毒性小得多、可挥发的单质汞 $\text{Hg}^{(0)}$, 已被作为一种降低汞毒性的生物途径之一。许多植物可从污染土壤中吸收硒并将其转化成可挥发状态 (二甲基硒和二甲基二硒), 从而降低硒对土壤生态系统的毒性。

在有机污染物治理方面, 植物挥发适合三氯乙烯 (TCE)、三氯乙酸 (TCA)、四氯化碳等氯化溶剂的修复。

由于植物挥发涉及污染物释放到大气的过程, 为保证植物挥发系统的正常运行, 要给植物提供足够的水分。植物挥发仅能去除土壤中一些可挥发的污染物, 且将污染物转移到大气中对人类和生物有一定的风险, 因此它的应用有一定的局限性, 应确保其向大气挥发的速度不构成生态危害。

1.2.2.3 植物降解/转化 (Phytodegradation)

利用修复植物的转化和降解作用去除土壤中有机污染物的一种方式, 主要有两条修复途径。一条途径是污染物质被吸收到体内后, 在植物体内转化分解, 植物将这些转化分解的碎片通过木质化作用储存在新的植物组织中, 或使化合物完全挥发, 或者矿化成二氧化碳和水, 从而将污染物转化成毒性小的或无毒的物质, 如植物体内的硝基还原酶和树胶还原酶可以将弹药废物 (如 TNT) 分解, 并把断掉的环形结构加入到新的植物组织或有机物片中, 成为沉淀有机物的组成部分。另一条途径是植物根分泌酶直接降解根际圈内有机污染物质, 如漆酶对 TNT 的降解、脱卤酶对含氯溶剂 [如三氯乙烯 (Trichloroethylene, TCE)] 的降解等。植物降解一般对某些结构比较简单的有机污染物去除效率很高, 这可能是因为降解植物能够针对某一种污染物质分泌专一性降解酶, 但对结构复杂的污染物质来说则无能为力。