



Zhongjinshu Wuran
Turang de Zhiwu Xiufu Jiqi
Qianghua Jishu Yanjiu

重金属污染土壤的植物修复 及其强化技术研究

杨卓 尹凡 著

吉林人民出版社



Zhongjinshu Wuran
Turang de Zhiwu Xiufu Jiqi
Qianghua Jishu Yanjiu

重金属污染土壤的植物修复 及其强化技术研究



杨卓 尹凡 著

吉林人民出版社

图书在版编目(CIP)数据

重金属污染土壤的植物修复及其强化技术研究 / 杨卓, 尹凡著.

长春: 吉林人民出版社, 2014.4

ISBN 978-7-206-10704-7

I. ①重…

II. ①杨… ②尹…

III. ①重金属污染—污染土壤—植物—生态恢复—研究

IV. ①X173 ②X53

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第079391号

重金属污染土壤的植物修复及其强化技术研究

著 者: 杨 卓 尹 凡

责任编辑: 于二辉 高铁军

吉林人民出版社出版发行(长春市人民大街7548号 邮政编码: 130022)

印 刷: 北京天颖印刷有限公司

开 本: 710mm×1000mm 1/16

印 张: 15 字 数: 240千字

标准书号: ISBN 978-7-206-10704-7

版 次: 2014年7月第1版 印 次: 2014年7月第1次印刷

定 价: 49.80元

如发现印装质量问题,影响阅读,请与出版社联系调换。

前 言

从 20 世纪开始,工业的迅猛发展所带来的环境污染越来越严重,其中重金属污染土壤的治理是目前国际上难点和热点研究领域之一。土壤中的重金属污染,使土壤肥力退化,作物产量与质量降低,水环境恶化,并通过食物链在人和生物体内富集,严重威胁着人类的生命和健康。对重金属污染土壤的治理和修复是一项十分紧迫的任务。

植物修复是一项新兴的、绿色的、环境友好的和廉价的重金属污染土壤治理方法。土壤中重金属的生物有效性低是制约植物修复技术发展的瓶颈,微生物的生物活性能够影响重金属的生物有效性,可强化植物修复的效果,微生物—植物联合修复是土壤重金属污染治理的一条重要途径。

本书全面系统地介绍了重金属污染土壤的防治技术,通过盆栽模拟及微生物筛选等试验研究技术手段,针对提高植物修复土壤重金属污染效果及重金属污染土壤的原位固定技术开展试验,系统摸索了印度芥菜对重金属 Cd、Pb、Zn 的吸收累积规律及在砂培和土培基质下吸收能力的差异;验证特异功能微生物(巨大芽孢杆菌和胶质芽孢杆菌)以及土壤中某些产酸微生物对土壤中重金属生物有效性和植物吸收的有利影响,并运用高效液相色谱对筛选出的微生物进行菌种鉴定和产物分析。重金属在土壤中存在的形态限制了植物修复的效率,微生物强化植物修复显示出广阔的前景。对于大面积有害的低浓度重金属污染,重金属污染土壤的原位生物固定修复技术具有很大的潜力和广阔的应用

前景。

本书内容系统,结构完整,将有益于土壤学、环境科学、生态学等研究领域的广大科技工作者及研究生及时了解国内外前沿和相关研究工作,为我国土壤环境科学及土壤修复技术的发展提供参考。本书中所进行的研究工作是在河北省科技厅“潮褐土镉铅锌复合污染植物修复的综合方法研究”项目,河北省科技支撑计划“重金属污染土壤微生物原位固定修复技术研究”(编号·132275040)项目的大力资助下完成的,在此深表感谢!感谢吉林人民出版社在本书的出版过程中所给予的大力支持,对相关评审专家一并致谢!

作者水平有限,书中存在的错误,敬请专家批评指正。

杨卓

2014年2月22日

内容简介

从 20 世纪开始,随着工业的迅猛发展所带来的环境污染越来越严重,控制和治理环境污染是当前世界面临的巨大挑战。其中重金属污染土壤的治理是目前国际上难点和热点研究领域之一。土壤中的重金属污染,不仅使土壤肥力退化,降低作物产量与质量,而且恶化水环境,并通过食物链在人和生物体内富集,严重威胁着人类的生命和健康。植物修复是一项新兴的、绿色的、环境友好的和廉价的重金属污染土壤治理方法。土壤中重金属的生物有效性低是制约植物修复技术发展的瓶颈,微生物的生物活性能够影响重金属的生物有效性,可强化植物修复的效果,微生物—植物联合修复是土壤重金属污染治理的一条重要途径,但应用难度较大,尚未获得突破性进展。

本书研究内容以盆栽模拟及微生物筛选等为技术手段,针对提高植物修复土壤重金属污染效果的问题开展研究,系统摸索了印度芥菜等 9 种植物对重金属 Cd、Pb、Zn 的吸收累积规律及在砂培和土培基质下吸收能力的差异;研究了其生理生化指标和根区微生物数量分布在重金属胁迫下的变化规律;验证了特异功能微生物和土壤中某些产酸微生物对土壤中重金属生物有效性和植物吸收的有利影响,并对筛选出的微生物进行了菌种鉴定和产物分析。主要研究成果归纳如下:

(1) 在土壤 Cd、Pb、Zn 复合污染处理条件下,7 个品种地上部对 Cd 的富集量平均值在 2.73 ~ 51.23mg/kg 之间,地下部对 Cd 的富集量平均值为在 7.32

~ 101.33mg/kg 之间。地上部对 Pb 的富集量平均值在 16.87 ~ 75.03mg/kg 之间,地下部对 Pb 的富集量平均值为在 28.85 ~ 613.36 mg/kg 之间。地上部对 Zn 的富集量平均值在 153.53 ~ 7346.59 mg/kg 之间,地下部对 Zn 的富集量平均值为在 348.91 ~ 954.29mg/kg 之间。总体来讲,三种重金属在印度芥菜体内的转移活动能力大小为 $Zn > Cd > Pb$,7 个品种印度芥菜对重金属富集能力大小为: $Cd > Zn > Pb$ 。高羊茅 Cd、Pb、Zn 的平均富集量,地上部分别为 5.76、19.77、418.18mg/kg,地下部分别为 129.82、256.66、354.66 mg/kg;黑麦草 Cd、Pb、Zn 的平均富集量,地上部分别为:5.57、26.13、467.18 mg/kg,地下部分别为:114.53、155.98、513.48 mg/kg。通过方差分析,这两种草坪草的重金属富集量没有显著差异,并且富集规律呈现较为一致的特点。地上部的富集量和土壤重金属含量的离子冲量呈显著的线性相关。这两种草坪草对其重金属的富集能力顺序为: $Zn > Cd > Pb$,其中对 Zn 的吸收呈现富集植物的特性规律,当土壤 Zn 含量 $> 400\text{mg/kg}$ 时,其转运系数 > 1 ,地上部对 Zn 的富集能力很强,可作为 Zn 污染土壤的修复植物。通过偏相关和多元回归分析表明,这两种草坪草在土壤 Cd、Pb、Zn 复合污染条件下均未产生复合效应。

(2)在上述试验基础上选择印度芥菜(Wild Garden Pangent Mix)为供试植物,研究了其对土壤 Cd 污染的耐性,以及生理生化特性和根区微生物的变化对 Cd 污染的响应。印度芥菜对 Cd 表现了较强的耐性,在 Cd 添加量为 0 ~ 200mg/kg 的情况下,印度芥菜能够顺利发芽、生长,其生物量出现了先增后降的“抛物线型”变化规律,Cd 主要影响其生殖生长,大量的 Cd 使印度芥菜延迟进入生育期。植株体内 Cd 浓度随土壤 Cd 浓度增加而升高,地上部可达 7.824 ~ 102.672mg/kg,地下部可达 0.374 ~ 191.910mg/kg。地上部富集系数呈逐渐降低的趋势,而地下部富集系数呈逐渐升高的趋势。转移系数为 20.920 ~ 0.535,呈逐渐降低趋势。随着土壤 Cd 胁迫浓度的增加,印度芥菜 3 种酶活性均呈先增后降的“抛物线型”变化趋势,并且出现抗性酶活性高峰所对应的土壤 Cd 浓度相同,均为 120mg/kg,在土壤 Cd 高浓度水平下,酶活性普遍受到抑

制,在最高浓度处理时的酶活性均明显低于对照。根区土壤中微生物数量:细菌>放线菌>霉菌,随着 Cd 添加量的增加,土体内微生物的数量也随之增加,Cd 添加量 > 160mg/kg 时,微生物数量下降。

(3)分别以石英砂和潮褐土为栽培基质,探讨重金属生物有效性的不同对印度芥菜修复效率的影响,另与接种巨大芽孢杆菌和胶质芽孢杆菌微生物制剂的处理相比较,研究发现,印度芥菜在砂培基质中对重金属的吸收量远远大于土培基质,其中 Cd 表现最为明显。对于地上部,砂培基质中 Cd 含量为土培基质中的 10.99 倍、Pb 为 6.19 倍、Zn 为 1.72 倍;对于地下部,砂培基质中 Cd 含量为土培基质中的 33.95 倍、Pb 为 28.04 倍、Zn 为 10.61 倍。地下部对重金属的吸收富集能力远高于地上部,约为地上部的 1~3 倍。经微生物处理后,印度芥菜吸收重金属 Cd、Pb、Zn 的量介于土培和砂培之间,微生物可强化植物对重金属的吸收。这说明,富集植物印度芥菜对重金属具有加极大的吸收潜力,但另一关键技术是土壤中重金属的活化问题,因此研究微生物及络合剂等的增效作用意义重大。

(4)通过模拟试验研究了 EDTA 对印度芥菜修复 Cd 污染土壤的增效作用,探讨了 EDTA 施入量与施入阶段不同对复合污染土壤中 Cd、Pb、Zn 的活化能力和印度芥菜吸收 3 种重金属的影响。结果表明:Cd 添加量相同的条件下,EDTA 的施入使印度芥菜生物量显著下降,地上部 Cd 吸收量显著增加,重金属提取量是未施入 EDTA 组的 0.5~1.63 倍,收获时土壤有效态 Cd 含量施入组低于未施入组;生物量和 Cd 吸收量随着 Cd 添加量的增加呈现先升高后下降的抛物线型规律,临界 Cd 添加量为 120mg/kg。一次性使用剂量为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及分 3 个阶段施入 $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 取得了最佳修复效果,前者印度芥菜对 Cd、Pb 的提取量分别是对照的 1.21 倍、2.66 倍,Zn 则略低于对照;后者是对照的 1.13 倍、3.78 倍、1.29 倍。将最优方案应用于微区试验,地上部重金属含量较对照显著增加,对 Cd、Pb、Zn 的提取量分别是对照的 1.24、2.06、2.07 倍。

(5)针对提高植物修复土壤重金属污染效果的问题,通过盆栽试验以印度

芥菜作为超富集植物,研究了巨大芽孢杆菌和胶质芽孢杆菌的混合微生物制剂、黑曲霉 30177 发酵液和黑曲霉 30582 发酵液对植物修复 Cd、Pb、Zn 污染土壤的作用效果。结果表明:巨大芽孢杆菌和胶质芽孢杆菌的混合微生物制剂,不仅可以促进超富集植物的生长,增强超富集植物对土壤 Cd、Pb、Zn 的吸收,而且大幅度地提高植物修复效率。在添加外源可溶性 Cd、Pb、Zn 污染土壤上,可分别提高印度芥菜提取量(以植物干重计)的 1.18 倍、1.54 倍和 0.85 倍,在添加底泥 Cd、Pb、Zn 污染的土壤上,可分别提高其提取量的 4.00 倍、0.64 倍和 0.65 倍,在底泥污染的土壤上的促进效果明显强于外源添加污染的土壤。黑曲霉 30177 发酵液能显著促进印度芥菜对土壤 Cd、Pb、Zn 的吸收,在添加外源可溶性 Cd、Pb、Zn 污染土壤上,印度芥菜地上部 Cd、Pb、Zn 吸收量,分别比对照提高 88.82%、129.04% 和 16.80%;在添加底泥 Cd、Pb、Zn 污染的土壤上,可分别比对照提高 78.95%、113.63% 和 33.85%;但它导致印度芥菜生物量的大幅度降低,并未起到提高植物修复提取量的效果。黑曲霉 30582 发酵液表现出了钝化土壤 Cd、Pb、Zn 的作用,对于微生物原位固定修复 Cd、Pb、Zn 污染土壤有一定的研究价值。经反相高效液相色谱初步分析发现,胶质芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌发酵液中含有草酸、柠檬酸等有机酸。

(6)从自然状态下污染土壤中共筛选得到产发现酸菌 28 株,通过盆栽试验验证,研究编号为 A-4-2、b-1-0、c-5-5、c-4-0 的菌株对印度芥菜吸收重金属有很好的促进作用,编号为 b-3-7 的菌株对印度芥菜吸收重金属有显著抑制作用。对上述菌株进行生理生化分析和 16S rDNA 的提取纯化及测序,它们分别为:c-4-0 为反硝化利斯特氏菌(*Listeria denitrificans*),b-1-0 为环状芽孢杆菌(*Bacillus cirallans*),c-5-5 为格氏利斯特氏菌(*Listeria grayi*),b-3-7 为干燥奈瑟氏球菌(*Neisseria sicca*)。将其发酵液经反相高效液相色谱分析,发现这些菌株的发酵液代谢产物中含有草酸、酒石酸、苹果酸等低分子量有机酸,这些有机酸影响了土壤中重金属元素的存在形态,即生物有效性,进而影响了植物对重金属元素的吸收。

(7)从重金属含量较高的土壤中筛选得到对重金属 Cd 有富集吸附能力的菌株。

综上所述,修复植物具有极高的富集土壤中重金属的能力,但重金属在土壤中存在的形态限制了植物修复的效率。一些促进植物修复的技术是十分必要的,微生物强化植物修复显示出广阔的前景。

第一章 土壤重金属污染及修复、生态毒理及植物修复研究进展	1
1.1 土壤重金属污染现状、危害与修复	1
1.1.1 土壤重金属污染现状与危害	1
1.1.2 土壤重金属污染的特点	2
1.1.3 重金属在土壤环境中的行为特征	3
1.1.4 土壤重金属污染修复技术概述	6
1.2 植物修复技术的主要修复技术	7
1.2.1 植物修复土壤重金属污染的主要修复技术	7
1.2.2 土壤重金属污染修复的微生物修复技术及其特点	8
1.3 植物修复的局限条件及植物修复技术的研究进展	11
1.3.1 土壤重金属污染修复的局限条件	11
1.3.2 植物修复技术的研究进展	15
1.4 重金属污染土壤植物修复的展望	17
1.4.1 植物修复技术展望	17
1.4.2 植物修复技术展望	18
第二章 植物修复与试验设计	21
2.1 试验设计与调查	21
2.2 试验设计	23
2.3 试验设计	24

目 录

第一章 土壤重金属污染过程、生态效应及植物修复研究进展	1
1.1 土壤重金属污染的现状、危害与特点	1
1.1.1 土壤重金属污染的现状与危害	1
1.1.2 土壤重金属污染的特点	3
1.1.3 重金属在土壤环境中的行为特征	5
1.1.4 土壤重金属污染的治理途径	6
1.2 重金属污染的生物修复技术	8
1.2.1 微生物对土壤重金属污染的修复研究	8
1.2.2 土壤重金属污染的植物修复技术及其特点	9
1.3 植物修复的局限性及亟待解决的问题和技术强化	21
1.3.1 土壤中重金属的生物有效性	22
1.3.2 植物修复技术强化措施	25
1.4 重金属污染土壤的原位固定技术	37
1.4.1 国内外研究现状	38
1.4.2 原位固定技术研究	40
第二章 总体思路与试验设计	51
2.1 立题依据与背景	51
2.2 研究意义	53
2.3 研究内容	54

2.3.1 Cd、Pb、Zn 复合污染土壤超富集植物的筛选研究	54
2.3.2 重金属生物有效性对植物吸收的影响研究	55
2.3.3 印度芥菜根区微生物及生理生化指标对镉胁迫的 响应研究	55
2.3.4 特异功能微生物强化印度芥菜修复重金属污染土 壤效果研究	55
2.3.5 土壤中产酸菌的筛选及其对土壤中重金属生物有 效性的影响研究	55
2.3.6 目标微生物的菌种鉴定及代谢产物分析研究	56
2.4 拟解决的关键问题	56
2.5 技术路线	57
第三章 Cd、Pb、Zn 复合污染土壤超富集植物的筛选	58
3.1 材料与方法	59
3.1.1 供试材料	59
3.1.2 试验方案与布置	60
3.1.3 样品的采集、测试与分析	61
3.1.4 数据处理	61
3.2 结果与分析	62
3.2.1 印度芥菜的生长状况及生物学特征	62
3.2.2 复合污染条件下印度芥菜对 Cd、Pb、Zn 的吸收	63
3.2.3 7 个品种印度芥菜转移系数与富集系数比较分析	69
3.2.4 印度芥菜品种 VII (Wild Garden Pangent Mix) 吸收重 金属的能力	71
3.2.5 印度芥菜品种 VII (Wild Garden Pangent Mix) 富集系 数与提取量	72
3.2.6 重金属毒害下黑麦草和高羊茅的生长状况分析	73
3.2.7 高羊茅和黑麦草对土壤 Cd、Pb、Zn 的富集特征	74
3.2.8 土壤 Cd、Zn、Pb 复合污染处理的植物吸收效应	77

3.3 小结	80
第四章 印度芥菜对 Cd 的耐性及其根区微生物和生理生化指标对 Cd	
胁迫的响应	82
4.1 材料与方法	83
4.1.1 供试材料	83
4.1.2 试验方案与布置	83
4.1.3 样品的采集、测试与分析	84
4.1.4 数据处理	87
4.2 结果与分析	87
4.2.1 Cd 污染对印度芥菜生长的影响	87
4.2.2 印度芥菜对 Cd 的耐性及吸收累积特征	88
4.2.3 Cd 污染下印度芥菜部分生理生化指标的变化特征	90
4.2.4 Cd 不同处理水平印度芥菜土壤中微生物数量变化分析	92
4.3 小结	93
第五章 重金属生物有效性对印度芥菜吸收能力的影响	95
5.1 材料与方法	96
5.1.1 供试材料	96
5.1.2 试验方案与布置	96
5.1.3 样品测试与分析	98
5.2 结果与分析	98
5.2.1 印度芥菜的生物学特征	98
5.2.2 不同基质条件下印度芥菜吸收重金属 Cd、Pb、Zn 的 能力差异分析	99
5.2.3 不同基质条件下印度芥菜富集效应特点分析	102
5.3 小结	105
第六章 印度芥菜修复重金属污染土壤的 EDTA 调控效果研究	106
6.1 材料与方法	107

6.1.1 供试材料	107
6.1.2 试验方案与布置	108
6.1.3 样品的采集、测试与分析	109
6.2 结果与分析	110
6.2.1 EDTA 诱导印度芥菜富集 Cd 增效研究	110
6.2.2 EDTA 施用量不同对印度芥菜富集 Cd、Pb、Zn 效果 的影响	112
6.2.3 EDTA 施用阶段不同对印度芥菜富集 Cd、Pb、Zn 效 果的影响	114
6.2.4 最优处理下 EDTA 诱导对印度芥菜吸收重金属的影响 ...	114
6.3 小结	115
第七章 微生物促进植物修复 Cd、Pb、Zn 污染土壤的效果研究	117
7.1 材料与方法	118
7.1.1 供试材料	118
7.1.2 试验方案与布置	119
7.1.3 样品的采集、测试与分析	121
7.2 结果与分析	122
7.2.1 接种微生物对印度芥菜生长发育的影响	122
7.2.2 微生物处理对印度芥菜重金属吸收量的影响	123
7.2.3 微生物处理对土壤有效态重金属含量的影响	124
7.2.4 微生物处理对印度芥菜重金属提取量的影响	126
7.2.5 不同处理植株体内部分生理生化指标的变化	127
7.2.6 功能微生物代谢产物分析	128
7.3 小结	129
第八章 土壤中促进植物修复产酸菌的筛选及机理初探	132
8.1 材料与方法	133
8.1.1 供试材料	133
8.1.2 土壤中产酸菌的筛选	134

8.1.3 土壤中产酸菌对土壤中重金属生物有效性的影响	136
8.1.4 土壤中产酸菌的菌种鉴定	137
8.1.5 土壤中产酸菌的产物分析	145
8.2 结果与分析	147
8.2.1 土壤中产酸菌的筛选	147
8.2.2 产酸菌的施入对印度芥菜吸收重金属的影响	148
8.2.3 产酸菌的菌种鉴定结果	150
8.2.4 16S rDNA 的提取与纯化	152
8.2.5 反相高效液相色谱法对产酸菌的产物分析	154
8.3 小结	157
第九章 重金属污染土壤原位固定技术研究	158
9.1 供试材料	159
9.1.1 菌源样品	159
9.1.2 培养基	160
9.1.3 铬吸附能力测定试剂	161
9.1.4 菌种鉴定试剂与染液	161
9.1.5 试验仪器	163
9.2 菌株筛选试验方法	163
9.2.1 铬吸附菌株的分离筛选	163
9.2.2 六价铬标准曲线的绘制	164
9.2.3 菌株复筛—菌株吸附 Cr^{6+} 能力测定	164
9.2.4 菌株种属鉴定	164
9.3 菌株吸附能力试验方法	165
9.3.1 菌株的抗性实验	165
9.3.2 菌体的制备	165
9.3.3 筛选吸附重金属性能的微生物	165
9.4 实验结果与分析	166
9.4.1 铬吸附菌株的富集和分离	166

9.4.2 菌株吸附 Cr^{6+} 能力测定	168
9.4.3 菌株种属鉴定	170
9.4.4 高效吸附 Cr 离子的微生物对重金属吸附效果的研究	173
9.4.5 吸附时间对吸附率的影响	175
9.4.6 pH 值对吸附率的影响	176
9.4.7 正交试验	176
第十章 结论与展望	178
10.1 主要研究结果	178
10.2 创新点	182
10.2.1 揭示了重金属生物有效性不同对植物吸收的影响 程度	182
10.2.2 揭示了印度芥菜生理生化指标及根区微生物对 Cd 胁迫的响应	182
10.2.3 寻找出强化印度芥菜修复重金属污染土壤的特异功 能微生物	182
10.2.4 筛选出对土壤中重金属生物有效性产生影响的土著 产酸菌	183
10.2.5 初步完成对目标微生物的菌种鉴定及代谢产物分析	183
10.3 对未来研究工作的展望	183
10.3.1 继续筛选修复植物及活化功能微生物	183
10.3.2 深入探讨微生物生产、保存及代谢产物分析工作	184
10.3.3 尝试富集植物的转基因技术研究	184
10.3.4 原位固定技术研究方向	184
参考文献	186

第一章 土壤重金属污染过程、生态效应及植物修复研究进展

1.1 土壤重金属污染的现状、危害与特点

1.1.1 土壤重金属污染的现状与危害

土壤是人类获取食物和其他再生资源的物质基础,是人类赖以生存的自然环境和农业生产的重要资源。世界面临的粮食、资源和环境问题与土壤密切相关。随着世界经济的发展,人口的增加,土壤作为人类赖以生存的自然资源,越来越暴露出不堪重负的迹象。随着科技的迅猛发展,重金属在生活、生产中得到广泛应用。然而,对重金属产品的不科学处理与处置,已经对人类的生产生活环境造成了严重的污染。而最引起人们关注和担忧的是其危害的隐蔽性、不可逆性和长期性。由于环境中的重金属不能被自然降解,因此土壤一旦被重金属污染,就很难彻底消除。重金属可以通过空气、水、土壤等途径进入动植物体,并经由食物链放大富集进入人体,损害人体健康,重金属在极低浓度下就能破坏人体正常的生理活动。目前,环境污染物的排放量与日俱增,环境污染和生态破坏给土壤带来了严重的污染,其中重金属污染的土壤面积在不断增加,这不仅退化土壤肥力,降低农产品产量和品质,而且恶化水环境,并通过食物链危及人类的生命健康。据粗略统计,过去 50 年中,全球排放到环境中的 Cd 达到 $2.20 \times 10^4 \text{ t}$, Cu $9.39 \times 10^5 \text{ t}$, Pb $7.83 \times 10^5 \text{ t}$, Zn $1.35 \times 10^6 \text{ t}$ 目前,全世界平均每