

污染土壤的微生物修复技术

土壤污染已经成为全球性的重要环境问题之一。近 20 年来，随着社会经济的高速发展和高强度的人类活动，我国土壤的污染面积在不断扩大，土壤质量持续恶化加剧，危害更加严重，已经影响到全面建设小康社会和实现可持续发展的战略目标，未来 15 年将面临着更为严峻的挑战。在这一形势下，发展污染土壤的治理与修复技术在我国显得尤为必要而紧迫，尤其是生物修复技术。

1 土壤的微生物修复技术概述

微生物修复是指利用微生物的生命代谢活动减少壤环境中有毒有害物的浓度或使其完全无害化，从而使污染了的土壤环境能够部分地或完全地恢复到原初状态的过程。是较为理想的一种治理污染的途径，具有处理费用低、对环境影响小、效率高等优点。

首次记录实际使用生物修复是在 1972 年，于美国宾夕法尼亚州的 Ambler 清除管线泄露的汽油。1989 年，美国阿拉斯加海域受到大面积石油污染以后才首次大规模应用生物修复技术。

根据来源不同可以把起作用的微生物分为 3 类：土著微生物、外来微生物和基因工程菌 (GEM)。目前在实际的生物修复工程中应用的大多是土著微生物，土著微生物无论在数量上还是在降解潜力上都是巨大的。当土著微生物由于种种原因不能用来作为修复污染土壤菌种时，就需要在污染的土壤中接种一些高效的外来微生物。近年来，由于生物工程技术的飞速发展，科学家利用基因工程把不同的降解基因移植到同一菌株中，创造出了具有多种降解功能的超级微生物。

2 农药污染土壤的微生物修复

2.1 农药污染土壤的生物修复背景

化学农药作为保障农业丰收的重要手段，在农业生产中发挥着非常重要的作用。然而，由于人们长期的不科学用药，剧毒、高残留、难降解农药的大量使用，我们面临着不断增加的土壤农药污染的环境问题。

2001 年联合国环境规划署 (UNEP) 通过的《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》列出了 12 种优先控制持久性有机污染物 (POPs)，其中农药占了 9 种 (艾氏剂、六氯代苯、氯丹、灭蚁灵、狄氏剂、毒杀芬、DDT、异狄氏剂、七氯)；另外，20 种被列为潜在持久性有机污染物中农药也占据了大部分。鉴于农药残留的持久性、农药施用的普遍性和农药污染

的严重性，土壤农药污染的修复成为必须解决的重大问题。

2.2 农药污染土壤的生物修复研究

农药污染土壤的微生物修复研究呈现两个方面的研究重点。一方面，在许多研究中，通过添加营养元素等外在条件刺激土著降解性微生物的作用来达到修复效果。Fulthorpe 等从巴基斯坦土壤中分离的微生物都能矿化 2,4-D，并发现添加硝酸盐、钾离子和磷酸盐能增加降解率。加拿大的 Stauffer Management 公司数年来发展了一些农药污染土壤的生物修复技术，他们在特定环境中通过激发降解性土著微生物群落的功能达到修复目的，并且在美国专利局获得了 3 项专利。另一方面，许多研究证实了通过接种外源降解性微生物可以达到很好的生物修复效果。Nassser 从污染了氯乙异丙嗪的土壤中分离到混合微生物培养物，接种到土壤中可将 0.14mol 的氯乙异丙嗪在 25 天内完全降解，使其矿化速度提高了 20 倍。Shapir 等人报道，在受除草剂阿特拉津污染的土壤中投加 *Pseudomonas* sp. ADP 进行生物强化，可使阿特拉津达到 90%~100% 的降解。Struthers 等分离到 *A. radiobacter* J14a，并将其接种到只具有少量野生降解菌的阿特拉津污染土壤中，发现阿特拉津的矿化速度提高了 2~5 倍；而将其接种到含大量阿特拉津降解菌的土壤中则缩短了降解的延滞时间。1993~1995 年，Spadaro 在波兰的 ODOT 进行了土壤中 2,4-D 的生物修复田间试验，在厌氧环境下加入厌氧消化污泥，经过 7 个月的处理，土壤中 2,4-D 从 1100mg/kg 降低到 18mg/kg，并在大规模试验中证实了生物修复的可行性。

国内的一些单位也进行了大量的生物修复研究。福建农业大学将分离出的有机氯农药 (六六六、DDT) 降解菌株制成复合菌剂，应用于盆栽试验和田间小区试验，所得到的降解效应类似于纯培养试验，对有机氯的降解率达到了 50%~60%。裘娟萍等人通过循环富集法筛得多效唑高效降解菌群，能彻底降解多效唑产生 CO_2 ，并建立了受多效唑污染土壤的再生修复技术，35 天土壤中多效唑的降解效果达 86.2%。

2.3 生物修复的前景与展望

在各种消除农药污染的措施中，微生物修复虽然受农药的种类、环境条件等因素的限制，但因其高效、安全、成本低、无二次污染等而最具有发展前景，这方面的研究将持续快速发展，并推动应用的步伐。

在今后一段时间内，微生物修复技术研究将在以下几个领域进一步展开：(1) 白腐真菌的应用研究；(2) 环境微生物种质资源和基因资源的收集与保护；(3) 高分子有机污染物降

解过程中的共代谢机理；（4）代谢工程与生物修复相结合，解决难降解污染物的生物降解问题；（5）污染环境中的降解性微生物分子生态研究；（6）污染物的资源化及生物修复的产业化等。

3 重金属污染土壤的植物-微生物联合修复

3.1 重金属污染土壤的生物修复背景

随着世界工业的迅速发展，地球上许多地区的土壤都不同程度地受到重金属污染。据我国农业部的调查，我国遭受重金属污染的土地面积占污水灌区总面积的64.18%。重金属污染已经成为土壤环境质量下降的重要因素之一。

与其他污染物不同，污染土壤中的重金属不易被水淋滤，因此生物修复以其低廉的成本、修复彻底等优点逐渐为人们所重视。生物修复技术主要包括植物修复及微生物修复技术。

植物特别是超积累植物在污染环境治理的具体应用中存在很多局限性：首先，植物修复会受到植物生长速度和生物量的限制，修复速度较慢；其次，植物修复会受到土壤类型、温度、湿度、营养等环境条件的制约；另外，过高或过低的污染物浓度均能影响植物修复的效果。

土壤污染的微生物修复是利用对有毒重金属离子有抗性的微生物来改变和转化金属离子形态。对微生物本身而言，是一种很好的解毒作用；对环境而言，则是一种很好的修复作用。目前，微生物多被用于进行土壤生物改造或改良，以及利用高效微生物的降解活性就地净化污染土壤。微生物修复的局限性在于：微生物有些情况下不能将污染物全部去除；微生物对环境的变化响应比较强烈，环境条件的改变能大大影响微生物修复效果；加入到修复现场中的微生物可能会与土著菌株竞争或难以适应环境从而导致作用结果与实验结果有较大出入；同植物修复技术一样，微生物修复污染土壤的周期也相对较长。

近几年，重金属污染土壤的植物-微生物联合修复作为一种强化植物修复技术逐渐成为国内外研究的热点。这种修复方法利用土壤—微生物—植物的共存关系，充分发挥植物与微生物修复技术各自优势，弥补不足，进而提高土壤中污染物的植物修复效率，最终达到彻底修复重金属污染土壤的目的。

3.2 联合修复技术的不同形式

3.2.1 植物与专性菌株的联合修复

土壤中许多细菌不仅能够刺激并保护植物的生长，而且还具有活化土壤中重金属污染物

的能力。俄罗斯科学家培育出一种耐重金属污染并保护植物生长的细菌，这种细菌能够在 Zn、Ni、Cd 和 Co 存在的条件下产生抗生素细菌的细胞不具备稳定的基因，但是位于染色体外能够自动复制的环状 DNA 分子，可以有效阻止重金属离子进入细胞，同时能够刺激并保护植物的生长；2003 年盛放等利用从污染土壤中分离得到的 3 株 Cd 抗性细菌分别接种到含有 200mg/kg-Cd 的土壤中并利用番茄进行富集实验，结果表明，供试菌株均能显著促进植株生长，活化植株根际 Cd；2008 年江春玉等从土壤样品中筛选出一株对碳酸铅、碳酸镉活化能力最强的铅镉抗性细菌 WS34，通过盆栽试验发现菌株 WS34 能促进供试植物印度芥菜和油菜的生长，使其干质量分别比对照增加 21.14%~76.13% 和 18.10%~23.16%；2004 年 Idris 等在遏蓝菜属植物 *Thlaspi goesingense* 根际分离出大量对 Ni 耐受性较强细菌，包括 *Cytophaga*、*Flexibacter*、*Bacteroides* 等，这些细菌可以明显提高 *Thlaspi goesingense* 对 Ni 的富集能力。可见，植物修复重金属污染土壤过程中向土壤中接种专性菌株，不仅可以提高植物生物量，而且还可以提高土壤中重金属的生物可利用性。

3.2.2 植物与菌根的联合修复

所谓菌根就是土壤中真菌菌丝与高等植物营养根系形成的一种联合体。菌根植物与土壤重金属污染的研究开始于 20 世纪 80 年代初。1981 年 Bradle 等在调查重金属含量很高的矿区时发现，少量生存的植物中多为菌根植物，且与非菌根植物相比较生长好。含有大量微生物的菌根是一个复杂的群体，包括放线菌、固氮菌核真菌，这些菌类有一定的降解污染的能力，同时，菌根根际提供的微生态使菌根根际维持较高的微生物种群密度和生理活性，从而使微生物菌群更稳定。越来越多的研究表明，菌根表面的菌丝体可大大增加根系的吸收面积，大部分菌根真菌具有很强的酸溶和酶解能力，可为植物传递营养物质，并能合成植物激素，促进植物生长；菌根真菌的活动还可改善根际微生态环境，增强植物抗病能力，极大地提高了植物在逆境（如干旱、有毒物质污染等）条件下的生存能力。

2001 年陈晓东等比较了生长在污染土壤中菌根小麦与无菌根小麦根际 Cu、Zn、Pb、Cd 的形态与变化，得出了菌根环境对土壤中交换态重金属含量有较大影响，必需元素交换态增加，而 Cu、Zn、Pb 的有机结合态含量在菌根根际都高于非菌根际；2005 年李婷等在离体培养条件下对外生菌根真菌 *Boletus edulis* 菌丝铜镉积累分配与生长微环境变化进行研究，发现 *B. edulis* 具有很强的铜镉吸收积累能力，最高处理浓度时，菌丝体内的 Cu、Cd 浓度分别是对照的 2616 和 28 倍。此外，一些研究认为，VA 菌根作为一类重要的内生菌根，具有较强的络合重金属元素的能力，当土壤中重金属含量过高时，VA 菌根可以显著提高宿主植物对这些重金属离子的耐性。

虽然菌根化植物抗逆性强、吸收降解能力强，但不容易获得。因此，菌根与植物修复体系的选择与建立有非常广阔的应用价值，也是重金属污染土壤生态恢复的一个新的研究方向。

4 石油污染土壤的微生物修复

4.1 石油污染土壤的概况

我国作为石油生产、消费大国，由于生产条件、环保技术等方面相对落后，石油污染问题相当突出。据统计，我国有机污染土壤面积约为 0.2 亿 hm^2 ，其中石油污染占相当比例。据统计，我国每年有 60 万 t 石油经跑、冒、滴、漏途径进入环境，对土壤、地下水、地表水造成污染。此外，污灌也是造成土壤石油污染的原因之一。

4.2 石油污染土壤的微生物修复

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。在石油组分中饱和烃最易降解，其次是低分子量芳香烃，高分子量芳香烃、胶质和沥青质则极难降解。

国内外许多研究者对石油污染土壤的微生物降解原理、影响因素、降解菌筛选等方面进行了大量研究。不少研究表明，利用特定细菌对石油类物质的共代谢作用可以有效去除某些难降解有机物。Bertrand 等发现，难降解的沥青和树脂可以通过共氧化作用进行降解。

通过改善土壤环境条件可以提高微生物活性、加速石油的生物降解。钟毅等选用原油污染土壤进行了投加除油菌、调节氮磷营养含量和水分含量的强化修复试验，180d 后油去除率达 70.16%，石油半衰期由自然条件下的 929d 减少为 103d。张旭等发现在翻耕和调节土壤含水率的条件下，微生物的降解速率大大加快，石油半衰期由对照的 173d 减少到 90d，在综合生物治理的条件下，石油半衰期可缩短至 42d。此外，添加表面活性剂、木屑和蛭石等调理剂、提供电子受体等措施也有很好的强化效果。

为了进一步提高生物修复效果，人们希望通过运用基因工程技术，把编码降解污染物酶的基因或质粒转移到土著微生物的 DNA 中，构建适应性强的超级工程菌，但目前基因工程菌的环境安全问题仍存在很大争议，实际应用仍受严格限制。

4.3 生物修复的前景与展望

生物修复技术一般适于治理中、低浓度土壤石油污染，对于高浓度石油污染则需要与物

理、化学处理方法联合使用，作为土壤修复的最后一个步骤，以减少成本和其他修复技术对环境的影响。对于污染土壤修复来说，这种结合将使以微生物降解为基础的修复技术能够修复多种污染物符合污染的土壤；有效的去除土壤中的持久性污染物；增加污染物的生物可利用性，提高修复效率；并缩短修复周期，因而更具有可行性。

生物修复技术虽取得了一定成功，但目前仍存在很多问题，制约着生物修复的效果，要使生物修复技术发展成为一名成熟的实用修复技术，至少还应在以下方面进行深入研究：（1）环境因子的选择和调控，这是获得高效处理效果的保证；（2）污染物降解过程监测及生物修复运行周期的确定；（3）优良生物品种的选育及其活性的保持；（4）污染物及其代谢产物的生物毒性监测与评价；（5）应用转基因技术的安全性；（6）建立生物修复技术的统一评价程序和标准；（7）根据污染土壤的具体状况制定有针对性的治理方案，将生物修复技术与物理、化学处理方法有机组合，构建高效的修复技术体系，以达到科学性、合理性和可行性的统一。

参考文献：

- [1] 滕应，黄昌勇编 . 重金属污染土壤的微生物生态效应及修复研究进展 . 土壤与环境，2002，11(1)：85～89.
- [2] O'heben Gere Engineers Inc. Innovative engineering technologies for hazardous waste remediation. New York：International Thomson Publishing Inc, 1995. 162～175.
- [3] 张从，夏立江编 . 污染土壤生物修复技术 . 北京：中国环境科学出版社，2000. 51～55.
- [4] 李顺鹏，蒋建东编 . 农药污染土壤的微生物修复研究进展 . 土壤，2004，36(6)：577～583.
- [5] 程国玲编 . 石油污染土壤的植物与微生物修复技术 . 环境工程学报，2007，1(6)：91～96.
- [6] 蔺昕，李培军等编 . 石油污染土壤的植物—微生物修复研究进展 . 生态学杂志，2006，25(1)：93～100.
- [7] 牛之欣，孙丽娜等编 . 重金属污染土壤的植物—微生物联合修复研究进展 . 生态学杂志，2009，28(11)：2366～2373