

污染土壤的菌根修复

盛海彦¹, 曹广民^{2*}, 郭竟世³, 王艳萍¹

(1. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810003; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 3. 青海省环境监测中心站, 青海西宁 810001)

摘要 菌根是植物根系与菌根真菌形成的共生体, 能有效促进污染物的降解和转化, 使污染环境得以修复。阐述了多环芳烃(PAHs)、农药、重金属等污染土壤中菌根的作用, 分析了菌根修复可能的机理, 旨在说明利用菌根修复是生物修复的一个重要方面, 具有广阔的发展前景, 为进一步研究菌根的作用以及更好地运用菌根技术奠定基础。

关键词 污染土壤; 菌根真菌; 生物修复

中图分类号 X53 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)30-09631-03

Repair Polluted Soil with Mycorrhiza

SHENG Haiyan et al (Agriculture and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xining, Qinghai 810003)

Abstract Mycorrhiza is symbiosis of plant and mycorrhizal fungi, it could promote degradation and transform environmental pollutants effectively, and repair polluted environment effectively. The article reviewed the role of mycorrhizal fungi in rehabilitating soils polluted by PAHs, pesticide, heavy metals, etc, analyzed the mechanism of it. The purpose of this paper is to state that fungi rehabilitation is one of the important aspects in the field of bioremediation and its prospects is good. It established the base to further study on the mechanism of mycorrhizal fungi and better applying on mycorrhizal rehabilitation technology.

Key words Polluted soil; Mycorrhizal fungi; Rehabilitation

环境污染的清除治理有多种方法, 常用的主要物理和化学的方法, 包括化学淋洗、填埋、客土改良、焚烧和电磁分解等。这些方法虽然行之有效, 但通常成本很高, 并容易造成二次污染, 且带来一定程度的环境健康风险危害^[1-2]。而生物修复作为一项潜在的高效、低成本的清除技术正日益受重视。生物修复是指在一定的条件下, 利用微生物、植物和动物, 降解、吸收、转化环境中的污染物, 去除其毒性, 使受污染生态系统的正常功能得以恢复。生物修复可分为3类: 微生物修复、植物修复、菌根生物修复。微生物修复中使用的细菌或真菌菌剂因其竞争不过土著微生物群, 而导致目标微生物或其代谢活性的丧失^[3], 且当土壤中的污染物浓度过低, 不足以满足微生物降解的底物要求时, 就无法发挥其正常的降解功能^[4]; 应用植物修复, 植物的生物量小, 生长缓慢、生长周期长, 且植物修复的效率很大程度上取决于污染土壤与其根的接触, 无法满足大面积污染的植物修复要求^[5-6], 特别是西北矿产资源丰富的区域多是干旱地区, 污染土壤应用植物修复, 难度大、周期长, 而菌根生物修复往往能克服以上修复的局限性, 因此, 应用菌根技术进行污染环境的生物修复已成为新的研究方向。

1 菌根类型

在自然界中植物与真菌共生是一种普遍的现象, 菌根(Mycorrhiza)是土壤中的真菌菌丝与高等植物营养根系形成的一种联合体^[7]。黄亦存等^[8]将菌根分为: 泡囊-丛枝菌根真菌即内生菌根真菌(Vesicular-Arbuscular mycorrhizal fungi VAMF)、外生菌根真菌(Ecto mycorrhizal fungi, ECMF)、内外生菌根真菌(Ectendo mycorrhizal fungi)、浆果鹃类菌根真菌、水晶兰类菌根真菌、杜鹃类菌根真菌和兰科菌根真菌7类。降解环境污染物的主要是外生菌根真菌和丛枝菌根真菌。它们可以侵染自然界中绝大多数高等植物的根系形成菌根共生

体。菌根可以通过根外菌丝的形成去扩大宿主植物根系的吸收面积, 扩大了微生物与土壤的接触面积和作用时间, 同时也增强了植物根系的吸收作用, 增加宿主植物对营养的吸收^[9-10], 尤其在贫瘠的土壤中, 由于菌根真菌的活动改善了根际周围的微生态环境, 从而使宿主植物的抗逆性得到增强。此外, 由于植物根系活动的作用, 根际微生物生态系统的物理、化学与生物学性质明显不同于非根系环境, 根际中微生物数量明显高于非根系土壤, 根际可以促进许多污染物的降解。

1.1 外生菌根真菌 外生菌根真菌可在人工纯培养的条件下生长, 也可脱离植物独立生存, 这有助于研究其菌丝和子实体对污染物的转化降解吸收, 可以实现纯培养。关于外生菌根对有机污染物降解影响的研究报道较多^[11-14], 大多数研究采用有机污染物作为碳源, 直接监测外生菌根真菌对有机污染物的利用。外生菌根真菌对不同类型的有机污染物都具有一定程度的降解和矿化能力, 其降解程度与降解速率取决于真菌的种类、污染物的存在状态(单一污染、复合污染)、土壤的理化条件、植物根际环境土壤其他微生物群落等因素。

1.2 丛枝菌根真菌 丛枝菌根真菌是一类重要的菌根真菌, 它能与绝大多数的高等植物形成共生体系。它的根外菌丝能向土壤中广泛伸展, 形成根外菌丝网, 有利于吸收土壤中的矿质养分, 并在根际生态系统中起着多种重要作用。有研究表明, 在逆境条件下, 丛枝菌根能通过扩大根系吸收范围、自身产生或刺激植物产生一些特殊的酶^[15]活化土壤养分、增强植物抗性, 显著促进寄主植物的生长, 还可能直接降解和利用有机污染物, 并将其转化为自身和宿主的养分源, 降低土壤污染程度和植物毒害程度^[16]。

2 对污染物环境的修复

2.1 对有机污染土壤的修复 植物根区的菌根具有独特的酶系统和代谢途径, 作为植物根系和土壤微生物之间的桥梁, 菌根在促进有机污染物的降解和转化、促进污染土壤中植物的生长、有机污染土壤的生物修复等方面具有积极的作

基金项目 青海省土壤现状调查及污染防治专项。

作者简介 盛海彦(1967-), 男, 河南项城人, 副教授, 从事资源与环境生态研究。*通讯作者。

收稿日期 2007-04-28

用^[17~18]。研究表明,外生菌根真菌能产生一系列与降解有机污染物相关的酶类,如蛋白酶、酯酶、多酚氧化酶、过氧化物酶、植酸酶、液化酶、木聚糖酶、纤维素酶、白明胶酶、酯酶-D-乳糖吡喃糖苷酶、-D-木糖吡喃糖苷酶、-D-葡萄糖吡喃糖苷酶等,这些酶能以不同的方式作用于有机污染物,将其转化为易于降解的物质加速降解,还可以降解不能被细菌单独降解的有机污染物,同时减轻污染物的毒性,增加其生物可利用性。目前对细菌与真菌在土壤石油类污染物的降解性研究也表明,真菌要优于细菌^[13,15,19]。

在污染土壤的有机物中,多环芳烃(PAHs)广泛分布,多环芳烃通常指含有2个或2个以上苯环以线状、角状或簇状排列的稠环化合物。其主要来源于有机物的不完全燃烧或热解,随着苯环数量的增加,其脂溶性越强,水溶性越小,环境中存在时间越长,遗传毒性越高,致癌性增强。土壤微生物本身能降解PAHs,在植物存在条件下,其降解能力能提高2.0%~4.7%,投加特效降解菌也可不同程度地提高土壤PAHs总量的降解率,尤其对蒽、芘和苯等的降解有明显促进作用^[20]。Meharg等^[12]研究43种外生菌根真菌,发现其中33种能降解1种或多种有机污染物,其中一种粘盖牛肝菌(*Suillus variegatus*)对菲(Phe)、蒽(Ant)、芘(Pyr)、4-氯苯酚(PPB)、三硝基甲苯(TNT)、2,4-二氯酚(DCP)等都具有降解能力。Salzer等^[21]研究表明,某些豆科植物在受到内生菌根真菌侵染后,过氧化物酶活性增加,而通常胞外过氧化物酶的活性与PAHs的氧化有关。酰酸酯类(PAEs)是又一大类对土壤造成污染的有机物,主要用于塑料薄膜的增塑剂。酰酸酯进入农田系统能使土壤质量和作物生长发育及产品品质受到影响,利用菌根修复PAEs污染土壤的研究已取得进展,王曙光等^[22]以豇豆为供试植物,接种丛枝菌根真菌,结果表明接种丛枝菌根真菌促进了DEHP(邻苯二甲酸二[2-乙基己基]酯)在土中的降解,说明丛枝菌根真菌菌丝在DEHP降解和转移过程中起了重要作用。Donneiy等^[23]研究了21种外生菌根真菌对19种多氯联苯(PCBs)的降解,将外生菌根真菌在以PCBs混合物作为唯一碳源的液体培养基中振荡培养5d后,分析液体培养基中PCBs的残留量表明:21种外生菌根真菌中有14种至少使培养基中的PCBs减少20%,不同的菌根真菌对PCBs的降解能力不同,随PCBs氯原子取代数(0~7)的增加降解速度减慢。

有研究认为^[24],菌根根际分泌物可作为细菌的底物,使菌际微生物密度变大,代谢活性增强,提高了细菌降解有机污染物的效率。菌根对有机污染物的降解和转化,一般认为分子量小环数少的有机物可直接降解,分子量大环数多需共代谢^[25]。所谓共代谢,是指化合物不能被完全矿化利用,降解菌必须从其他底物获得大部分碳源和能源^[26],对于降解土壤有机污染物的微生物来说,即利用一种易于摄取的初级底物作为碳源和能量来源,而有机污染物作为第二底物被降解^[27]。菌根真菌通过从植物获得基本能量和底物,再通过共代谢的方式加速降解土壤中的有机污染物。

2.2 对农药污染土壤的修复

农药的广泛使用对保障作物生长和提高作物产量发挥了巨大作用,但也引起了严重的土壤污染,浸种、拌种、毒谷等农药使用方式或使用除草剂,

将农药直接施入土壤,有机磷和有机氯农药是造成土壤农药污染的主要种类。菌根化植物对农药有很强的耐受性,并能把一些有机成分转化为菌根真菌和植株的养分源,降低农药对土壤的污染程度。林先贵等^[28]研究了施用绿麦隆、二甲四氯和氟乐灵的土壤接种菌根对白三叶草生长的影响,发现接种孢囊-丛枝菌根真菌后,植株的菌根侵染率、生长量和氮、磷的吸收都显著高于不接种的对照植株。Menendez^[29]指出,菌根真菌(*Glomus mosseae*)侵染的大豆,其生长不受杀虫剂乐果的影响,在施用0.5 mg/L乐果时反而增加了*Glomus mosseae*的孢子萌发。可见,菌根真菌对修复农药污染的土壤有一定作用。

2.3 对重金属污染土壤的修复

土壤重金属污染是指由于人类活动将重金属加到土壤中,致使土壤中重金属含量明显高于原有土壤,并造成生态环境质量恶化的现象。重金属也可通过生物体的富集,经食物链进入人和动物体,构成对人类和家畜健康的危害。与其他类型的污染物相比,重金属不能被微生物分解,只能在环境中迁移和转化。

Joner等研究发现,当以1、10、100 mg/kg Cd加入土壤时,菌根化植物吸收Cd的量比非菌根化植物分别高90%、127%和131%^[30],且证实生长在工业污染土壤中的菌根植物比非菌根植物体内含有更多的P、Zn、Cd、Cu、Pb^[31]。一方面,接种真菌,使植物形成菌根,菌根能促进植物富集重金属离子^[32~33],起到转移土壤重金属污染物,加快土壤中重金属元素的生物提取速度。这在矿山复垦绿化和超积累植物提取污染土壤中的重金属等生物措施得以应用和发展^[34]。另一方面,接种真菌,使植物形成菌根,菌根能改变植物生长的微区域环境条件,如使土壤的pH、Eh等发生变化,进而引起重金属离子的形态变化,增强宿主植物对重金属污染的抗(耐)性。根据Willenborg的研究^[35],15种菌根真菌对Cd²⁺、Hg²⁺都有较高的耐受力。申鸿等研究结果表明^[36],丛枝菌根真菌对铜污染具有较好的抗性,并且由于菌根的形成,使宿主植物明显地改善了对磷的吸收和运输,并通过抑制土壤酸化、降低土壤可溶态铜的浓度等机制,增强宿主植物对铜污染的抗(耐)性。

对内生菌根真菌而言,由于不能进行纯培养,不利于研究内生菌根真菌耐受重金属的机理,其耐受高浓度重金属的机理仍不十分清楚。丛枝菌根之所以能用于重金属污染土壤的生物修复是通过直接作用和间接作用两种方式实现的。丛枝菌根对重金属的直接作用机制可能是^[37]螯合作用:丛枝菌根真菌在菌丝内有可能提供结合重金属的位点,使重金属积聚于真菌中。有研究认为^[36,38],真菌细胞成分如几丁质、纤维素、纤维素衍生物能与金属结合,其中几丁质能结合90%的外加重金属。也可能是:当土壤中的重金属达到毒害水平时,真菌细胞壁分泌的粘液和真菌组织中的聚磷酸、有机酸等均能结合过量的重金属元素,减少重金属向地上部的转移而达到解毒作用;间接作用:由于菌根的形成而在一定程度上改变了宿主植物根系的形态结构,进而使其生理生化功能发生改变,并引起根际土壤的pH值发生变化。而土壤的pH值下降,会导致DTPA提取态金属元素的含量减少,即降低了重金属元素的有效性^[39]。此外,廖继佩等^[40]认为,菌

根真菌种群有特定的生态适应性,同时对金属的耐受性存在着很大的基因型差异。

2.4 对放射性土壤污染的修复 用菌根对放射性土壤污染进行修复一直比较棘手。近几年国外有报道多种植物可以吸收污染土壤中的放射性核素,Weiersbye 等^[41]证实 U 可以积累于丛枝菌根真菌的孢囊和孢子中。有研究表明^[42],菌根真菌接种到一些草类,能有效除去土壤中的放射性核素,在一定程度可修复和开垦放射性核素污染的土壤。

3 菌根生物修复的优点

(1) 该技术可在工程菌株(微生物修复)难以生存的土壤和环境下应用而不受限制。

(2) 接种菌根真菌侵染植物后随植物的生长发育,在根际不断地有菌根真菌大量繁殖,这增强了其与土壤微生物的竞争,较工程菌株存活时间长。

(3) 该技术应用方法简便,成本低,二次污染小。

4 结语

菌根真菌与植物根系形成的共生体,既能促进植物生长,又能通过扩大根际范围,增加根系分泌物和特殊性酶的产生,增加根际其他微生物的活性等途径促进土壤有机污染物的降解和重金属污染土壤的修复。采用生物清除环境中污染物的生物修复技术代表了未来的发展方向,具有极大的潜力和广阔的发展前景,尤其是在西北生态环境脆弱的矿产资源开采和冶炼造成的土壤污染区域。但到目前为止,这一领域的研究,还有许多工作值得深入开展,还有许多问题有待解决: 菌根如何促进污染物的降解、迁移、转化积累等过程的作用机理还不很清楚,尚有许多争议; 目前对菌种的筛选还很有限,应从更广泛的区域(污染环境和兰科、杜鹃类菌根真菌)中分离筛选菌株对其进行驯化; 如何生产低成本、高质量、优性能的菌剂,急切需要实验室阶段的成果进行中试,为菌根修复技术的应用提供依据。

参考文献

- [1] JOHN KELL YJ ,HAGGBLOM M ,ROBERT LT. Effects of the land application of sewage sludge on soil heavy metal concentration and soil microbial communities [J]. *Soil Biology and Biochemistry*,1999,31(10):1467 - 1470.
- [2] 沈德中. 污染环境的生物修复[M]. 北京:化学工业出版社,2002:356.
- [3] REDDY C A. The potential for white rot fungi in the treatment of pollutants[J]. *Current Opinion in Biotechnology*,1995(6):320 - 328.
- [4] 马文漪,杨柳燕. 环境微生物工程[M]. 南京:南京大学出版社,1998:250 - 267.
- [5] PULFORD I D ,WATSON C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees: A review[J]. *Environment International*,2002,103:1 - 12.
- [6] 周启星. 污染土壤修复的技术再造与展望 [J]. 环境污染治理技术与设备,2002(8):36 - 40.
- [7] HAARLEY J L ,SMITH S E. Mycorrhizal symbiosis [M]. New York: Academic Press,1983.
- [8] 黄亦存,沈崇尧. 外生菌根的形态学解剖学及分类学研究进展[J]. 真菌学报,1992,11(3):169 - 172.
- [9] HEDGE R S,HETCHER J S. Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of photoremediation technology[J]. *Chemosphere*,1996,32:2 471 - 2 479.
- [10] SHIMP J F ,TRACY I C ,DAVIS L C ,et al. Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials [J]. *Critical Review Environmental Science Technology*,1993,23(1):41 - 47.
- [11] 刘营,孔繁翔,杨积晴. 菌根真菌对环境污染物的降解、转化能力概述 [J]. 上海环境科学,1998,17(2):4 - 6.
- [12] MEHARG AA ,CAIMEY J. Ectomycorrhizas extending the capabilities of rhizosphere remediation [J]. *Soil Biol Biochem*,2000,32:1475 - 1484.
- [13] BAE KS ,BATRON LL. Alkaline phosphatase and other hydrolyases by *Cenococcum graniforme*, an ectomycorrhizal fungus [J]. *Appl Environ Microbiol*,1989,55(10):2511 - 2517.
- [14] 李兆君,马国瑞. 有机污染物污染土壤环境的植物修复机理[J]. 土壤通报,2005,36(3):436 - 439.
- [15] 黄艺,姜学艳,陶澍. 菌根真菌对土壤有机污染物的生物降解[J]. 土壤与环境,2002,11(3):221 - 226.
- [16] 王曙光,林先贵. 菌根在污染土壤生物修复中的作用[J]. 农村生态环境,2001,17(1):56 - 59.
- [17] 陈瑞蕊,林先贵,尹睿,等. 有机污染土壤中菌根的作用[J]. 生态学杂志,2005,24(2):176 - 180.
- [18] 刘世亮,骆永明,丁克强,等. 菌根真菌对土壤中有机污染物的修复研究[J]. 地球科学进展,2004,19(2):197 - 203.
- [19] GUO DC ,DANAK BP. Purification and characterization of an extracellular acid proteinase from the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma crustuliniforme* [J]. *Appl Environ Microbiol*,1990,56(4):837 - 842.
- [20] 孙铁珩,宋玉芳,许华夏,等. 植物法生物修复 PAHs 和矿物油污染土壤的调控研究[J]. 应用生态学报,1999,10(2):225 - 229.
- [21] SALZER P ,COCBIERE H ,BOLLER T. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza forming fungus *Glomus intraradices*[J]. *Planta*,1999,208(3):319 - 325.
- [22] 王曙光,林先贵,尹睿,VA. 菌根对土壤中 DEHP 降解的影响[J]. 环境科学学报,2002,22(3):369 - 373.
- [23] DONNEILY PK ,HETCHER J S. PCB metabolism by ectomycorrhizal fungi [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*,1995,54:507 - 513.
- [24] JUSSI HEINONALO ,KIRSTEN S JORGENSEN ,KIHO HAAHTILA ,et al. Effect of *Pinus sylvestris* root growth and mycorrhizosphere development on bacterial carbon source utilization and hydrocarbon oxidation in forest and petroleum contaminated soils[J]. *Microbiol*,2000,146:451 - 464.
- [25] KANAL Y R A ,BARTHA R. Cometabolic mineralization of benzo[a]pyrene caused by hydrocarbon additions to soil [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*,1999,18(10):2186 - 2190.
- [26] 张锡辉,BAJPAI R. 以关键酶为基础共代谢模型的建立——以甲烷细菌共代谢三氯乙烯为例[J]. 环境科学学报,2000,20(5):558 - 562.
- [27] 巩宗强,李培军,王新,等. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程 [J]. 生态学杂志,2000,19(6):40 - 45.
- [28] 林先贵,郝文英,施亚琴. 三种除草剂 VA 菌根真菌的侵染和植物生长的影响[J]. 环境科学学报,1991,11(4):439 - 444.
- [29] MENENDEZ A. Influence of the insecticide dimethoate on arbuscular mycorrhizal colonization and growth in soybean plants[J]. *Microbiology*,1999,145(2):43 - 45.
- [30] JONER E ,LEYVAL C. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae/ Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentration of cadmium[J]. *New Phytol*,1997,135(2):353 - 360.
- [31] JONER E ,LEYVAL C. Time course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes[J]. *Biol Fertil Soils*,2001,33(5):351 - 357.
- [32] COLPAERT J V ,VAN ASSCHE J. Heavy metal tolerance in some ectomycorrhizal fungi [J]. *Functional Ecology*,1987(1):415 - 421.
- [33] LI XL ,CHRISTIE P. Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zr contaminated soil [J]. *Chemosphere*,2001,42(2):201 - 207.
- [34] 黄艺,陶澍,陈有鉴,等. 外生菌根对欧洲赤松苗 Cu、Zn 积累和分配的影响[J]. 环境科学,2000,21(2):1 - 6.
- [35] WILLENBORG R. Effects of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro[J]. *Can Bot*,1990,68:1741 - 1746.
- [36] 申鸿,刘于,李晓林. 丛枝菌根真菌对铜污染土壤生物修复机理初探 [J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(2):199 - 204.
- [37] GALLI U. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi [J]. *Physiol Plant*,1994,92:364 - 368.
- [38] TRUMAU K. Element distribution in *Pisolithus tinctorius* mycelium treated with Cadmium dust[J]. *Ann Bot*,1994,74:137 - 142.
- [39] 李晓林,冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京:华文出版社,2001:194 - 195.
- [40] 廖继佩,林先贵,曹志洪. 内外生菌根真菌对重金属的耐受性及机理 [J]. 土壤,2003,35(5):370 - 377.
- [41] WEIERSBEY IM ,STRAKER J. Micro-PIXE mapping of elemental distribution in arbuscular mycorrhizal roots of the grass, *Cynodon*,from Cold and Uranium mine tailing[J]. *Nucl Instrum Meth B*,1999,158:335 - 343.
- [42] ENTRYJA ,WATRUD LS ,REEVES M. Accumulation of ⁴Cs and ⁹⁰Sr from contaminated soil by three grass species inoculated with mycorrhizal fungi [J]. *Environ Pollution*,1999,104:449 - 457.