

电厂灰渣场微生物分布及其 重金属耐性菌的筛选研究

丁佳红, 薛正莲, 杨超英

(安徽工程大学, 安徽 芜湖 241000)

摘要:为了探索重金属污染与土壤微生物学指标的内在联系,选取芜湖发电厂灰渣场的土壤,研究其微生物的分布,并对重金属耐性菌株进行筛选。结果表明:灰渣场周围土壤中的细菌和真菌数量较多,而放线菌数量较少,并且采样点距离排污口越近,微生物的数量越少。镜检发现重金属铜和铅耐性菌株均为单一的短杆状真菌,对铜和铅最大耐受浓度分别为 70 和 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;重金属镉耐性菌株筛选出的菌落并非单一菌落,最大耐受浓度为 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:灰渣场;微生物;重金属;耐性菌株

中图分类号:X503.23

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)11-0041-05

土壤微生物群落与土壤重金属污染之间的关系是国内外环境科学领域的一个研究热点,重金属污染能够明显影响土壤的微生物群落结构^[1],如降低土壤微生物生物量^[2],降低活性细菌菌落的数量等^[3]。已有研究表明微生物群落结构的变化能较早地预测土壤养分及环境质量的变化,被认为是具有潜力的敏感性生物指标^[4]。

土壤微生物是土壤基础呼吸的主要来源,是土壤中数量最多的生物类群,它几乎参与土壤中的一切生物化学反应,不但直接或间接地影响土壤功能,包括动植物残体的分解和养分的储存转化等,还是表征土壤质量的重要生物学指标,能较敏感地反映出土壤环境的微小变化^[5],对土壤污染物起到安全预警作用^[6]。因此,研究土壤微生物与土壤重金属污染之间的关系已成为国内外环境科学领域的一个热点^[7]。越来越多的证据表明,土壤微生物对重金属的胁迫要比同一环境中的动物和植物敏感得多,被认为是最有潜力的评价土壤环境质量的指标^[8]。在重金属污染环境中,土壤酶活性、微生物生物量、微生物的群落结构、微生物商和代谢商等微生物学参数会发生变

化以响应重金属胁迫,这些信息均可用于重金属的生物有效性检测,指示环境污染程度,起到环境污染预警作用^[9-10]。

该文通过对芜湖火力发电厂粉煤灰堆放地重金属污染土壤的微生物学指标的检测,探索重金属污染与土壤微生物学指标的内在联系,为粉煤灰重金属污染提供预警;同时从高浓度重金属污染的土壤中筛选出对重金属污染具有较强耐受能力的菌株,以便进一步研究其去除重金属污染的特性以及微生物-植物体系联合修复作用的机理,为污染土壤的质量评价、生物治理及环境修复提供理论依据,以期为发电厂粉煤灰重金属污染的综合治理提供可行性方案,并为类似污染源的重金属污染治理提供科学依据和参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

土壤采自芜湖发电厂灰渣场,以电厂灰渣场排污口为起点,采用对角线布点法间隔 10 m 采 1 个土样,共采集土样 6 份,每个土样取 500 g 左右,用干净的牛皮纸袋装好封口,编号备用。

1.2 方法

称取样土 1.0 g,放入盛有 99 mL 无菌水的三角烧瓶中,置摇床振荡 30 min,让土壤均匀分散成为土壤悬液(10^{-2})。分别配制成稀释度为 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 的土壤溶液(稀释度由前期摸索试验确定),记录平板的菌落数,对照平板(CK)中滴加等量的无菌水。

收稿日期:2013-05-05

基金项目:安徽省高校省级自然科学研究资助项目(KJ2010B286);安徽省省级自然科学研究资助项目(KJ2009B089Z);安徽工程大学青年基金资助项目(2005yq018)

第一作者简介:丁佳红(1977-),女,安徽省宿州市人,硕士,讲师,从事环境污染生态学方面的研究。E-mail: djiahong@163.com。

2 结果与分析

2.1 发电厂灰渣场土壤中微生物分布状况

由表 1 可知,不同土壤之间的细菌菌落数没有明显的变化规律,但是可以看出距离排污口最

近的位置由于污染较重,细菌的数量最少,仅为 960 个。距离排污口越远,细菌数越多,其中土样 3 和土样 5 的细菌数较多,分别为 12 900 和 10 420 个,说明距离电厂灰渣场较远的土壤受污染程度有所减轻。

表 1 电厂灰渣场细菌分布情况

Table 1 The bacteria distribution in ash field of power plant

土样 Soil samples	稀释度 Dilutability					菌落数/个 Bacterial colony count
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
1	96	0	0	0	0	960
2	346	73	0	0	0	4830
3	417	129	24	0	0	12900
4	162	52	10	0	0	3410
5	214	187	0	0	0	10420
6	240	19	22	0	0	2400
CK	0	0	0	0	0	0

由表 2 可以看出,各土样中的真菌含量由 920 个逐渐增加至 221 067 个,从数量上说,真菌数量比相应土样的细菌数量要多,这可能与细菌、真菌对土壤中重金属污染的响应不同,随着污染

程度的提高,菌落数有一定程度的降低。这与土壤受污染的程度密切相关,土样 6 的质量状况已经较为接近正常的农田土壤。

表 2 电厂灰渣场真菌分布情况

Table 2 The fungi distribution in ash field of power plant

土样 Soil samples	稀释度 Dilutability					菌落数/g Fungi colony count
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
1	92	1	0	0	0	920
2	97	24	3	3	0	970
3	无法计数	246	8	5	0	24600
4	无法计数	257	106	28	0	65850
5	167	11	4	25	0	125835
6	无法计数	282	45	59	0	221067
CK	0	0	0	0	0	0

由表 3 可知,电厂灰渣场土壤中的放线菌含量相对较少。排污口和距离排污口较近的区域,重金属污染的程度较为严重,大部分均为排出的粉煤灰

颗粒,所以放线菌数量极少。距离排污口较远的区域,土壤的污染程度有所减轻,放线菌数量开始有所上升,其中土样 4 放线菌数量最多,为 1 405 个。

表 3 电厂灰渣场放线菌分布情况

Table 3 The actinomycetes distribution in ash field of power plant

土样 Soil samples	稀释度 Dilutability					菌落数/g Actinomycete colony count
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	17	2	0	0	0	0
4	61	22	3	0	0	1405
5	50	7	0	0	0	500
6	54	2	0	0	0	540
CK	0	0	0	0	0	0

重金属污染影响了细菌、真菌和放线菌群落的大小。有研究表明,细菌、真菌和放线菌的数量在受重金属污染的土壤中均比在未污染的土壤中有明显的降低^[11]。不过由于细菌、真菌、放线菌对土壤中各种重金属的耐受性不同,所以分布规律也会有所不同,一般真菌对重金属的耐受性要比细菌和放线菌强,所以在重金属污染土壤中真菌的菌落数分布往往较细菌和放线菌大。重金属污染土壤中,微生物种群的变化并非同一规律,这可能与电厂灰渣场多种重金属复合污染的综合效应有关。

2.2 电厂灰渣场重金属铜耐性菌的筛选

筛选出的重金属铜耐性菌株菌落较为单一,

菌落直径较大,表面光滑,呈白色。经显微镜镜检发现,筛选出的菌株为单一的短杆状真菌。由表 4 可知,土样稀释度越大,筛选出的微生物量越少,土样稀释度为 10^{-4} 时,基本筛选不出抗性菌落。随着培养基中 Cu^{2+} 浓度的逐渐增加,平板上能够培养出的菌落数目越来越少,当 Cu^{2+} 浓度达到 $70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,6 种土样中除了土样 2 其它土样均未能筛选出耐性菌株。电厂灰渣场土壤中的微生物对铜较为敏感。此外,由于距离排污口越远,土壤受污染的程度越小,从土样 3 开始微生物数量逐渐增多,能够筛选的范围就相应地增加,筛选出的抗铜菌株的概率也就相对增加,所以土样 4、土样 5 和土样 6 中筛选出的抗铜菌落数较多。

表 4 电厂灰渣场重金属铜耐性菌的筛选

Table 4 The screening of tolerance strain to Cu in ash field of power plant

项目 Items	菌落数/个 Colony count							
	土样稀释度为 10^{-2} 时的铜浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$				土样稀释度为 10^{-3} 时的铜浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			
	40	50	60	70	40	50	60	70
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	7	1	0	2	0	2	3	0
3	101	15	0	0	13	2	0	0
4	221	79	13	0	4	3	0	0
5	216	89	1	0	2	1	0	0
6	207	62	0	0	0	1	0	0

2.3 电厂灰渣场重金属铅耐性菌的筛选研究

重金属铅耐性菌株的筛选结果菌落较为单一,菌落呈圆形直径较大,表面光滑呈白色。镜检发现也为单一的短杆状真菌。由表 5 可以看出,铅在 100 和 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度条件下,土壤中能够筛选出的重金属耐性菌株较多,其它浓度条件下筛选出的微生物量相对较少。筛选出的菌株比较耐高浓度的铅,在低浓度铅时生长状况较高浓度铅差。土样 1 由于直接采自出灰口,受污染的程度较严重,原本其中真菌的含量较其它土样少,所

以能够筛选出的重金属铅耐性菌株含量几乎为零。土样 3 中筛选出的抗铅菌株较其它土样多,这是由于土样 3 距离出灰口较远,受重金属的污染程度减轻,此时土壤中微生物含量也比较丰富,能够筛选出的抗性菌株的概率也就逐渐上升。故土样 1 到土样 3 筛选出的菌落数明显上升。但由于土样 4、土样 5 和土样 6 距离污染口过远,越来越接近正常的农田土壤,所以土壤中的微生物的抗重金属能力也较差,所以在其中筛选出的抗性菌株也较少。

表 5 电厂灰渣场重金属铅耐性菌的筛选

Table 5 The screening of tolerance strain to Pb in ash field of power plant

项目 Items	菌落数/个 Colony count							
	土样稀释度为 10^{-2} 时的铅浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$				土样稀释度为 10^{-3} 时的铅浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			
	50	100	150	200	50	100	150	200
1	0	0	0	1	0	0	0	1
2	9	3	1	3	0	0	1	236
3	165	132	146	184	32	209	347	38
4	115	45	96	56	4	10	13	5
5	69	31	93	56	4	7	101	3
6	63	26	98	47	3	8	97	4

2.4 电厂灰渣场重金属镉耐性菌的筛选研究

重金属镉耐性菌株筛选出的菌落并非单一菌落,主要可以划分为三大类:第1类,菌落表面较为光滑,呈白色,菌落直径较大;第2类,菌落表面相对光滑,呈淡黄色,菌落直径较大;第3类,菌落表面相对比较粗糙,呈白色,菌落直径较小。在Cd²⁺浓度为5 mg·L⁻¹时,能够筛选出的菌落数较其它的Cd²⁺浓度要多。土样稀释度越大,能够筛

选出的微生物量越少;土样稀释度为10⁻⁴时,基本筛选不出重金属抗性菌株。随着距污染口的距离增加,土壤受污染的程度逐渐降低,土壤中的微生物含量逐渐升高,能够筛选出的抗性菌株的概率也逐渐上升。故土样1到土样3筛选出的菌落数明显上升。但由于土样4、土样5和土样6距离污染口比较远,越来越接近正常的农田土壤,所以土壤中的微生物的抗重金属能力呈下降的趋势。

表 6 电厂灰渣场重金属镉耐性菌的筛选

Table 6 The screening of tolerance strain to Cd in ash field of power plant

项目 Items	菌落数/个 Colony count							
	土样稀释度为10 ⁻² 时的镉浓度/mg·L ⁻¹				土样稀释度为10 ⁻³ 时的镉浓度/mg·L ⁻¹			
	2.5	5.0	7.5	10	2.5	5.0	7.5	10
1	107	57	0	1	0	0	0	1
2	184	0	1	1	63	93	1	1
3	193	85	24	16	114	7	60	1
4	49	135	98	11	10	161	0	10
5	151	332	77	54	30	16	11	0
6	137	283	82	43	21	18	3	0

2.5 电厂灰渣场3种单一重金属耐性菌的特性比较

通过对3种单一重金属Cu、Pb和Cd耐性菌的筛选研究可知,电厂灰渣场的重金属耐性菌

耐Pb的能力最强,Cu次之,Cd最差。对筛选出的铜耐性菌株和铅耐性菌株进行镜检发现,2类菌株均为单一的短杆状真菌(见图1和图2)。



图1 铜耐性菌株镜检图

Fig. 1 The tolerance strain to Cu by microscope



图2 铅耐性菌株镜检图

Fig. 2 The tolerance strain to Pb by microscope

表 7 重金属耐性菌落特征比较

Table 7 The characteristics comparison of tolerance colony to heavy metal

菌落特征 The characteristics of tolerance colony	重金属 Heavy metal		
	Cu	Pb	Cd
单一与否 Single or not	较为单一	较为单一	不单一
菌落颜色 Colour of colony	白色	白色	白色、淡黄色
菌落直径 Diameter of colony	较大	较大	较小
菌落表面 Surface of colony	光滑、较光滑	光滑	较光滑、粗糙

3 结论

电厂灰渣场土壤中真菌分布较为丰富,细菌次之,放线菌含量较少。其中,取自出灰口的土样因为其成分均为粉煤灰,经试验测定其中基本没有放线菌的存在,电厂复合重金属污染均能降低细菌、真菌和放线菌的数量。

电厂灰渣场微生物对 Cu、Pb、Cd 3 种重金属的耐受性各不相同,其中对 Pb 的耐受性最高可达 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Cu 次之可达 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Cd 最差最高只能达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外,筛选出的铜耐性菌株和铅耐性菌株均为单一的短杆状真菌。

参考文献:

- [1] Pennanen T A, Frostgard H F, Baath E. Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal polluted gradients in coniferous forests[J]. Applied Environmental and Microbiology, 1996, 62: 420-428.
- [2] Brookes P C, McGrath S P. Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass[J]. Journal of Soil Science, 1984, 35: 341-346.
- [3] Jordan M J, LeChevalier M P. Effects of zinc smelter emissions on forest soil microflora[J]. Canada Journal of Microbiology, 1975, 21: 1855-1865.

- [4] 孙波,赵其国. 土壤质量与持续环境: III. 土壤质量评价的生物学指标[J]. 土壤, 1997, 29(5): 225-234.
- [5] Yao Z H, Wilson M J, Campbell C D. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. Microbial Ecol., 2000, 40: 223-237.
- [6] Hamel C, Hanson K, Selles F, et al. Seasonal and long-term resource related variations in soil microbial communities in wheat-based rotations of the Canadian prairie[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 2104-2116.
- [7] 王秀丽,徐建民,姚槐应,等. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响[J]. 环境科学学报, 2003, 23(1): 22-27.
- [8] 郭学军,黄巧云,赵振华,等. 微生物对土壤环境中重金属活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(1): 105-110.
- [9] 龙健,黄昌勇,滕应,等. 矿区重金属污染对土壤环境质量微生物学指标的影响[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(1): 60-63.
- [10] 李永涛,刘科学,张池,等. 广东大宝山地区重金属污染水田土壤的 Cu、Pb、Zn、Cd 全量与 DTPA 浸提态含量的相互关系研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(6): 1110-1114.
- [11] Bisessar S. Effect of heavy metals on microorganisms in soils near a secondary lead smelter[J]. Water, Air and Soil Pollution, 1982, 17: 305-308.

Study on Microbial Distribution and Screening of Tolerance Strains to Heavy Metal in Ash Field of Power Plant

DING Jia-hong, XUE Zheng-lian, YANG Chao-ying
(Anhui Polytechnic University, Wuhu, Anhui 241000)

Abstract: In order to explore the inner link of metal contamination and soil microbiological indicators. The soil of ash field of power plant was collected, microbial distribution and screening of tolerance strains to heavy metal was studied. The results showed that bacteria and fungi were more than actinomycetes, microbial amount was decreasing with the distance from pollution spot. The tolerance strains to heavy metal Cu and Pb were single, bacilliform fungi through microscope. Furthermore, the biggest tolerance concentration was 70 and $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; the tolerance strains to Cd was not single and the biggest tolerance concentration was $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: ash field; microbia; heavy metal; tolerance strains

计量单位写作要求

文稿中所用度量衡单位一律采用字母符号书写。如长度单位分别用 km(公里)、m(米)、cm(厘米);重量用 t(吨)、kg(千克、公斤)、g(克);面积用 m^2 (米²)、 hm^2 (公顷)、 km^2 (平方公里);体积用 m^3 (米³)、 cm^3 (厘米³);容量用 L(升)、mL(毫升);时间用 a(年)、d(天)、h(小时)、min(分)等表示。且表示浓度的 ppm 一律改用 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。复合单位采用幂的形式,即 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\text{kg} \cdot \text{hm}^2$ 。文中数据一律使用阿拉伯数字,外文字母及符号的大小写、正斜体、上下角字母、数字和易混淆的字母必须书写清楚。各种公式的上下角的字母、数码和符号的位置高低应区分明显,所有物理量符号均排成斜体,数学公式应规范化。属、种的拉丁文名称为斜体,命名人为正体,属名在文中首次出现时不能缩写。