

## 回顾与展望

**刘志培** 博士，研究员，博士生导师。1987年至今，一直从事环境微生物研究，包括高效菌种资源的筛选与收集、特性研究；高效菌种的应用及相关技术开发研究；高效菌株应用相关环境的微生物生态学研究；开发了系列环境微生物菌剂，有些已应用于废水处理工程并取得明显效果。现任中国环境科学学会理事，《环境科学》、《微生物学通报》和《环境污染与防治》编委。在国内外刊物发表论文100余篇。



**刘双江** 博士，中国科学院微生物研究所研究员、所长，中国科学院“百人计划”、国家杰出青年基金获得者。《生物工程学报》第二、三届编委、第四届副主编。1984年毕业于河北大学生物系微生物生物化学专业，理学学士；1987年毕业于浙江农业大学环境工程系，农学硕士；1991年毕业于清华大学环境工程系，工学博士。目前担任 *Applied & Environmental Microbiology*、*Archives Microbiology* 编辑，担任中国生物工程学会副理事长。从事污染环境和特殊环境中微生物的种群多样性和功能多样性研究；近年来开展了芳烃类化合物的代谢途径、代谢调控、趋化机制等方面的工作，以谷氨酸棒杆菌 *Corynebacterium glutamicum* 和睾丸酮丛毛单胞菌 *Comamonas testosteroni* 为材料，开展系统的生理和遗传学研究；已在国内外重要学术杂志刊物上发表研究论文100多篇。



# 我国污染土壤生物修复技术的发展及现状

刘志培，刘双江

中国科学院微生物研究所，北京 100101

刘志培，刘双江. 我国污染土壤生物修复技术的发展及现状. 生物工程学报, 2015, 31(6): 901-916.  
Liu ZP, Liu SJ. Development of bioremediation in China – a review. Chin J Biotech, 2015, 31(6): 901-916.

**摘要:** 本文简要回顾了近30年来我国污染土壤生物修复技术的发展过程，主要包括生物修复技术在我国

**Received:** February 26, 2015; **Accepted:** March 20, 2015

**Corresponding author:** Zhipei Liu. Tel: +86-10-64806081; E-mail: liuzhp@im.ac.cn

网络出版时间: 2015-05-08

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20150508.0944.001.html>

发展阶段、生物修复的 4 大类型及其所适用对象与范围、生物修复用菌株的筛选与特性研究、活性菌株 (菌剂) 在典型污染土壤中的应用及其效果等, 并针对土壤污染和生物修复技术的发展现状, 简要讨论了未来生物修复技术的发展。

**关键词:** 污染土壤, 生物修复, 微生物-植物联合修复, 高效菌株

## Development of bioremediation in China – a review

Zhipei Liu, and Shuangjiang Liu

*Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*

**Abstract:** The development of bioremediation for contaminated soil in China during past 30 years was briefly reviewed, mainly including the developing stages, bioremediation techniques/strategies and their applications, and isolation, screening and characterizations of microbial strains for bioremediation as well as their efficiencies in bioremediation of contaminated soils. Finally, future development of bioremediation techniques/strategies and their applications were also discussed.

**Keywords:** contaminated soil, bioremediation, combination of microbial-phytoremediation, efficient strains

### 1 环境修复技术的发展阶段

据 2014 年国家环境保护部和国土资源部联合公布的《全国土壤污染调查公报》显示, 全国土壤总的超标率为 16.1%, 其中耕地土壤点位超标率高达 19.4%; 在调查的重污染企业用地和工业废弃地点位中, 超标率分别高达 36.3% 和 34.9%<sup>[1]</sup>。因此, 我国土壤污染的总体形势严峻, 在重污染企业或工业密集区、工矿开采区及周边地区、城市和城郊地区出现了土壤重污染区和高风险区。土壤污染类型多样, 呈现出新老污染物并存、无机有机复合污染的局面。其中有机污染物主要有六六六、滴滴涕、多环芳烃以及来源于化工厂、采油区、工业区、氮肥厂、电子厂、焦化厂、农药厂等的废弃物。无机污染物主要有镉、铅、砷等重金属元素; 另外耕种过程中过度施用化肥、农药、固体废弃物等

都不同程度地造成了土壤污染<sup>[2-3]</sup>。据不完全统计调查, 因土壤污染而减产粮食 1 000 万 t, 全国每年因重金属污染的粮食达 1 200 万 t, 造成的直接经济损失超过 200 亿元。

我国土壤修复技术经历 3 个阶段<sup>[3]</sup>: 第 1 阶段为 20 世纪 80 年代以前, 土壤治理方式为物理修复, 主要是土地资源的稳定利用, 相关基本环境工程的配套。第 2 阶段是 20 世纪 90 年代, 土壤治理方式为物理、化学和生物恢复, 但主要修复技术是土地复垦, 选用先锋植物、耐性植物恢复土壤特性。第 3 阶段是 21 世纪以来, 土壤治理方式为物理、化学和生物恢复, 修复技术主要采用微生物、植物、动物、固化/稳定化、土壤气提、化学氧化还原、热脱附、淋洗、化学萃取等, 其中以微生物修复、植物修复、微生物-植物联合修复为研发应用重点。可见, 我国的生物修复处于刚刚起步阶段, 最

初的生物修复主要是利用细菌治理石油、农药之类的有机污染。随着研究的不断深入,生物修复又应用在地下水、土壤等环境的污染治理上。生物修复已由细菌修复拓展到真菌修复、植物修复、微生物-植物联合修复、动物修复,由有机污染物的生物修复拓展到无机污染物的生物修复<sup>[4]</sup>。

## 2 环境生物修复技术类型

生物修复 (Bioremediation) 是一项清洁环境的低投资、高效益、便于应用、发展潜力较大的新兴技术,它具有成本低、操作简单、无二次污染、处理效果好且能大面积推广应用等优点,生物修复利用生物(包括植物、微生物和原生动物的)代谢功能,吸收、转化、清除或降解环境污染物,实现环境净化、生态恢复<sup>[5]</sup>。从参与修复过程的生物类型来划分,生物修复包括微生物修复、植物修复、动物修复和联合修复等类型。

### 2.1 微生物修复技术

土壤中存在丰富的微生物,这些微生物具有多种多样的代谢功能,驱动着土壤环境中的物质元素循环。微生物修复技术就是利用土壤中的土著微生物的代谢功能,或者补充具有降解转化污染物能力的人工培养的功能微生物群,通过创造适宜环境条件,促进或强化微生物代谢功能,从而降解并最终消除污染物的生物修复技术。微生物修复的实质是生物降解或者生物转化,即微生物对有机污染物的分解作用或者对无机污染物的钝化作用<sup>[6]</sup>。利用微生物修复技术既可治理农药、除草剂、石油、多环

芳烃等有机物污染的环境,又可治理重金属等无机物污染的环境;既可使用土著微生物进行自然生物修复,又可通过补充营养盐、电子受体及添加人工培养菌或基因工程菌进行人工生物修复;既可进行原位修复,也可进行异位修复<sup>[7]</sup>。

#### 2.1.1 有机物污染土壤的微生物修复

土壤微生物利用有机物(包括有机污染物)为碳源,满足自身生长需要,并同时将有有机污染物转化为低毒或者无毒的小分子化合物,如 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 、简单的醇或酸等,达到净化土壤的目的。对具有降解能力的土著微生物特性的研究,始终是环境生物修复领域的研究重点。常见的降解有机污染物的微生物有细菌(假单胞菌、芽胞杆菌、黄杆菌、产碱菌、不动杆菌、红球菌和棒状杆菌等)、真菌(曲霉菌、青霉菌、根霉菌、木霉菌、白腐真菌和毛霉菌等)和放线菌(诺卡氏菌、链霉菌等)<sup>[8]</sup>,其中以假单胞菌属最为活跃,对多种有机污染物,如农药及芳烃化合物等具有分解作用。有些情况下,受污染环境溶解氧或其他电子受体不足的限制,土著微生物自然净化速度缓慢,需要采用各种方法来强化,包括提供 $\text{O}_2$ 或其他电子受体例如 $\text{NO}_3^-$ ,添加氮、磷营养盐,接种经驯化培养的高效微生物等,以便能够提高生物修复的效率和速率<sup>[9]</sup>。

有机污染物质的降解是由微生物酶催化进行的氧化、还原、水解、基团转移、异构化、酯化、缩合、氨化、乙酰化、双键断裂及卤原子移动等过程<sup>[8]</sup>。该过程主要有两种作用方式:1) 通过微生物分泌的胞外酶降解;2) 污染物被

微生物吸收至其细胞内后,由胞内酶降解。微生物从胞外环境中吸收摄取物质的方式主要有主动运输、被动扩散、促进扩散、基团转位及胞饮作用等<sup>[6]</sup>。

一些有机污染物不能作为碳源和能源被微生物直接利用,但是在添加其他的碳源和能源后也能被降解转化,这就是共代谢 (Co-metabolism)<sup>[10]</sup>。研究表明,微生物的共代谢作用对于难降解污染物的彻底分解起着重要作用。例如甲烷氧化菌产生的单加氧酶是一种非特异性酶,可以氧化多种有机污染物,包括对人体健康有严重威胁的三氯乙烯和多氯联苯等<sup>[11]</sup>。

微生物对氯代芳香族污染物的降解主要依靠两种途径:好氧降解和厌氧降解<sup>[10]</sup>。脱氯是氯代芳烃化合物降解的关键步骤,好氧微生物可以通过双加氧酶和单加氧酶使苯环羟基化,然后开环脱氯;也可以先脱氯后开环<sup>[12-14]</sup>。其厌氧降解途径主要依靠微生物的还原脱氯作用,逐步形成低氯的中间产物<sup>[13]</sup>。

一般情况下微生物对多环芳烃的降解都是需要氧气的参与,在加氧酶的作用下使芳环分解。真菌主要是以单加氧酶催化起始反应,把一个氧原子加到多环芳烃上,形成环氧化物,然后水解为反式二醇化合物和酚类化合物。而细菌主要以双加氧酶起始加氧反应,把两个氧原子加到苯环上,形成二氢二醇化合物,进一步代谢<sup>[15]</sup>。除此之外,微生物还可以通过共代谢降解大分子量的多环芳烃。此过程中微生物分泌胞外酶降解共代谢底物维持自身生长的物质,同时也降解了某些非微生物生长必需的物质<sup>[16]</sup>。

### 2.1.2 无机物污染土壤的微生物修复

微生物不仅能降解环境中的有机污染物,

而且能将土壤中的重金属、放射性元素等无机污染物钝化、降低毒性或清除。重金属污染环境的微生物修复近几年来受到重视,微生物可以对土壤中重金属进行固定、移动或转化,改变它们在土壤中的环境化学行为,从而达到生物修复的目的。因此,重金属污染土壤的微生物修复原理主要包括生物富集(如生物积累、生物吸附)和生物转化等作用方式<sup>[6,17]</sup>。微生物可以将有毒金属被吸收后贮存在细胞的不同部位或结合到胞外基质上,将这些离子沉淀或螯合在生物多聚物上,或者通过金属结合蛋白(多肽)等重金属特异性结合大分子的作用<sup>[18]</sup>,富集重金属原子,从而达到消除土壤中重金属的目的。同时,微生物还可以通过细胞表面所带有的负电荷通过静电吸附或者络合作用固定重金属离子<sup>[19]</sup>。生物转化包括氧化还原、甲基化与去甲基化以及重金属的溶解和有机络合配位降解等作用方式<sup>[20-21]</sup>。在微生物的作用下,汞、砷、镉、铅等金属离子能够发生甲基化反应。其中,假单胞菌在金属离子的甲基化作用中起到重要作用,它们能够使多种金属离子发生甲基化反应,从而使金属离子的活性或者毒性降低;其次一些自养细菌如硫杆菌类 *Thiobacillus* 能够氧化  $As^{3+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mo^{4+}$ 、 $Fe^{2+}$  等重金属<sup>[22-23]</sup>。生物转化中具有代表意义的是汞的生物转化,  $Hg^{2+}$  可以被酶催化产生甲基汞,甲基汞和其他有机汞化合物裂解并还原成  $Hg$ ,进一步挥发,使得污染消除<sup>[24]</sup>。

从目前来看,微生物修复是最具发展潜力和应用前景的技术,但微生物个体微小,富集有重金属的微生物细胞难以从土壤中分离,还存在与修复现场土著菌株竞争等不利因素。近

年来微生物修复研究工作着重于筛选和驯化高效降解微生物菌株,提高功能微生物在土壤中的活性、寿命和安全性,并通过修复过程参数的优化和养分、温度、湿度等关键因子的调控等方面,最终实现针对性强、高效快捷、成本低廉的微生物修复技术的工程化应用。

## 2.2 植物修复技术

从20世纪80年代以来,利用植物修复环境污染物的技术迅速发展,植物修复技术就是利用自然生长植物根系(或茎叶)吸收、富集、降解或者固定污染土壤、水体和大气中的污染物的环境技术总称<sup>[25-26]</sup>。主要通过植物提取、植物蒸腾作用、根系过滤和植物钝化来实现<sup>[7,27]</sup>。一般来说,植物对土壤中的有机和无机污染物都有不同程度的降解、转化和吸收等作用,有的植物可能同时具有几种作用方式。植物修复技术目前主要应用于重金属污染土壤的修复,利用对重金属有富集特征的植物来吸收或者吸附积累重金属,达到从土壤中除去重金属的目的。对有机污染物的修复机制主要是根际修复,利用植物根际的环境来刺激微生物生长,改变根际微生物大的群落结构、分泌与有机物降解相关的氧化还原酶来降解有机污染物<sup>[28]</sup>。

## 2.3 动物修复技术

动物修复是利用土壤中某些低等动物(如蚯蚓等)和其体内的微生物,在污染土壤中生长、繁殖等活动过程中对土壤中的污染物进行转化和富集的作用,最后通过对这些动物集中处理,从而降低土壤中的污染物<sup>[29-30]</sup>。该方法主要应用于重金属污染土壤修复过程中,采用土壤动物这种天然的方法来转化重金属形态或

富集,可以在一定程度上提高土壤肥力。土壤动物不仅自己能够直接富集土壤中的污染物,还能够和周围的微生物共同富集,并在其中起到一种类似“催化剂”的作用<sup>[31]</sup>。土壤动物能够通过3个方面影响土壤中的微生物,首先土壤动物可以通过直接取食土壤微生物,使其始终保持高活性状态,而且通过取食降低微生物的生存空间的竞争,使微生物更好地生长<sup>[32]</sup>;其次,土壤动物通过自身分泌物刺激微生物生长繁殖<sup>[33]</sup>;再次,通过土壤动物的活动,使得土壤通气透水,改善了土壤生态环境,有利于土壤微生物的生长<sup>[34-35]</sup>,从而实现共同修复污染土壤的目的。土壤动物修复技术未来的发展方向,是将土壤动物作为一种“催化剂”,将其放入被污染的土壤中,提高传统的生物土壤修复技术的修复速度和效率。

## 2.4 联合生物修复技术

联合修复技术就是协同两种或两种以上修复方法,克服单项修复技术的局限性,实现对多种污染物的同时处理和对复合污染土壤的修复,提高污染土壤的修复速率与效率。该方法已成为土壤修复技术中的重要研究内容,其中植物-微生物联合修复是最为广泛采用的联合生物修复技术。

### 2.4.1 重金属污染土壤的联合修复

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,这种方式可以充分发挥各自的优势,从而提高污染环境的修复效率。微生物可以辅助超积累植物修复重金属污染土壤,其中有关微生物调控植物修复的机理及效应是

人们关注的重点<sup>[36-39]</sup>。微生物在其代谢过程中可改变根际土壤重金属的生物有效性,从而有利于超积累植物对重金属的吸收和积累<sup>[39-40]</sup>;微生物的代谢产物还可改善土壤生态环境;另外,微生物还能够分泌植物激素类物质、铁载体等活性物质,促进植物的生长<sup>[39,41-42]</sup>。反之,植物根系分泌氨基酸、糖类、有机酸及可溶性有机质等可以被微生物代谢利用,促进微生物的生长,有利于提高植物-微生物联合修复的效率<sup>[39]</sup>。在重金属联合修复过程中,微生物主要通过两种方式提高植物修复效率:直接活化重金属,提高植物对重金属的吸收和转运;通过间接作用提高植物对污染物的耐受及抗逆性,从而促进植物生长,增加植物对重金属的吸收和积累<sup>[39]</sup>。

#### 2.4.2 有机物污染土壤的联合修复

在有机物污染土壤中,有植物生长时,其根系提供了微生物生长的最佳场所,反过来,微生物的旺盛生长,增强了对有机污染物的降解,也使得植物有更好的生长环境,所以,植物-微生物联合体系就能够促进有机污染物的快速降解、矿化<sup>[43]</sup>。其作用原理主要包括:1) 对于环境中中等亲水性有机污染物,植物可以直接吸收,然后转化为没有毒性的代谢中间产物,并储存在植物体内,达到去除环境污染物的作用;2) 植物释放促进化学反应的根际分泌物和酶,刺激根际微生物的生长和生物转化活性,并且植物还能释放一些物质到土壤中,有利于降解有毒化学物质,有些还可作为有机污染物降解的共代谢基质<sup>[44]</sup>;3) 植物能够强化根际(根-土界面)的矿化作用,特别是菌根菌和共生菌存在时的矿化作用更为显著,菌根菌能够增

加其寄主植物对营养和水的吸收,提高其抗逆性,增加有机污染物降解的有效性,提高吸收效率<sup>[45]</sup>。

目前,植物-微生物联合修复方面已经取得了许多有价值的结果,为植物-微生物联合修复重金属、有机物污染土壤的实际应用与推广提供了重要的研究数据。

### 3 环境生物修复技术的研究进展

#### 3.1 高效降解菌的筛选

筛选污染物高效降解菌株是发展微生物修复技术的第一步,根据微生物与污染物的作用机制,所选择的高效降解微生物需要对污染物有较高的耐受力 and 适应性,对污染物降解效率高,不影响环境中原有微生物的多样性。我国对微生物修复降解菌株的筛选工作最初起源于农药高效降解菌株的筛选,其后才开展石油类污染物的生物降解微生物的筛选工作。目前已经筛选出大量的可用于土壤有机污染物修复的相关专利菌株(表1)。

表1表明,我国污染土壤微生物修复工作主要涉及农药和石油类污染环境的修复。如在农药污染环境微生物修复方面,李顺鹏等分离到多种农药降解菌株,其中有机氯农药降解菌株鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* sp. BHC-A 和 *Sphingomonas* sp. DB-1 可以分别降解六六六和滴滴涕,降解菌产品可以直接施用于土壤中,其中六六六残留量可以降解 95%以上,滴滴涕残留量降低 90%以上,能够有效地消除土壤污染,缓解植株受农害症状,解决农业生产中有机氯农药残留超标问题<sup>[46-53]</sup>。刘双江等分离到一株对氯硝基苯降解菌株鞣丸酮从毛单胞菌

表 1 我国筛选出的部分土壤有机污染物修复专利菌株

Table 1 Partial patent strains for bioremediation of contaminated soil in China

Pollutant	Strain	Reference
Cavbofuran	<i>Sphingomonas agrestis</i> CDS-1	[46]
Atrazine	<i>Exiguobacterium</i> sp. BTAH1	[47]
Hexachlorocyclohexanes	<i>Sphingomonas</i> sp. BHC-A	[48]
Phoxim	<i>Ochrobactrum</i> sp. X-12	[49]
Metsulfuron-methyl	<i>Methylopolus</i> sp. S113	[50]
DDT	<i>Sphingomonas</i> sp. DB-1	[51]
Nicosulfuron	<i>Pseudomonas</i> sp. YM3	[52]
Avermectins, or Abamectin	<i>Burkholderia</i> sp. AW64	[53]
<i>p</i> -Chlor-nitrobenzene	<i>Comamonas testosteroni</i> CNB-1	[54]
Composition of diesel	<i>Burkholderia cepacia</i> GS3C	[55]
Polycyclic aromatic hydrocarbon	<i>Rhodococcus ruber</i> Em1	[56]
Composition of oil	<i>Mycobacterium gilvum</i> CP13	[58]
Crude oil	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MZ01	[59]
Oil hydrocarbon	<i>Bacillus licheniformis</i> PS5	[60]
Polychlorinated biphenyl	<i>Mesorhizobium</i> sp. ZY1	[61]
Phthalates	<i>Rhodococcus globerulus</i>	[62]
Benzo[ $\alpha$ ]pyrene	<i>Brevundimonas</i> sp. CGMCC No. 2746	[63]

*Comamonas testosteroni* CNB-1, 该菌株的生长细胞、细胞悬浮液、固定化细胞可以降解对氯硝基苯, 并能够以对氯硝基苯为唯一碳源、氮源和能源生长, 并将对氯硝基苯完全降解利用。在以对氯硝基苯为唯一碳源、氮源和能源生长时, 先将硝基还原成羟胺, 然后在菌株生产的 2-氨基酚 1,6-双加氧酶的作用下, 通过间位开环的方式, 将 2-氨基-5-氯苯酚开环成烃, 从而进一步降解。该菌株适用于对氯硝基苯的工业废水的生物处理和对氯代硝基苯污染土壤的生物修复中并显现非常明显的效果<sup>[54-55]</sup>。石油污染物修复方面, 党志等从环境中分离到了许多

可降解石油烃类菌株, 洋葱伯克霍尔德氏菌 *Burkholderia cepacia* GS3C 能够在 4 d 内将 750 mg/L 的正十六烷烃降解至 200 mg/L 以内, 以柴油为唯一碳源时, 发现该菌株能够很好地降解柴油中的烷烃组分 (C<sub>12</sub>-C<sub>30</sub>)。该菌株具有高效的烷烃降解能力和良好的环境适应性, 在石油类污染的生物修复中具有很好的应用前景<sup>[56]</sup>。多环芳烃微生物修复方面, 刘志培等分离的赤红球菌 *Rhodococcus ruber* Em1 菌株能够降解十六烷等烷烃及蒽、菲、芘等多环芳烃, 并且该菌株在降解的同时产生脂类生物乳化剂, 该乳化剂能够明显降低水溶液的表面张力、

具有很强的油脂类的乳化能力、提高烷烃和多环芳烃在水中的溶解度、明显促进活性菌株对烷烃和多环芳烃的降解,该菌株可用于含油废水的处理和石油污染土壤的生物修复中<sup>[57]</sup>。庄国强等发明了一种适用于修复石油污染盐碱土壤的微生物复合菌剂及其制备方法,其主要由复合微生物菌液、营养物质和表面活性剂 3 种成分组成。其中复合微生物包含 3 株石油烃降解菌:巨大芽胞杆菌 *Bacillus megaterium* P9,假单胞菌 *Pseudomonas* sp. P4,木糖氧化无色杆菌 *Achromobacter xylosoxidans* P2。将 3 株菌通过液体培养与营养物质混合,按照 1%的施加量将其加入到石油污染盐碱土壤中,10 d 后,烷烃含量由 3 870 mg/kg 降低至 2 748 mg/kg,降低了 29%,芳烃由 793 mg/kg 降低至 605 mg/kg,下降了 24%<sup>[64]</sup>。

### 3.2 微生物对污染物高效降解性能

大多数环境中都存在着能够降解有毒有害污染物的天然微生物(土著微生物),但由于营养盐缺乏、溶解氧不足,能高效降解的微生物生长缓慢甚至不生长等因素,往往自然净化过程极为缓慢。土壤的微生物修复技术就是基于这一情况,通过提供氧气、添加营养盐、提供电子受体、接种经驯化培养具有高效降解作用的微生物等方法加强土壤自净过程<sup>[8]</sup>。微生物修复与传统的分解不同的是它有分解作用所没有的新特征(如共代谢作用、降解质粒等),因此可视为是分解作用的扩展和延伸。由于微生物个体小、繁殖快、适应性强、易变异,所以可随环境变化产生新的自发突变株,也可能通过形成诱导酶产生新的酶系,具备新的代谢功能

以适应新的环境,从而降解和转化那些陌生的化合物<sup>[65]</sup>。

环境中农药的清除主要靠细菌、放线菌、真菌等微生物作用。例如有机氯农药(滴滴涕)可以被芽孢杆菌、棒状杆菌、诺卡氏菌降解;五氯硝基苯可以被链霉菌属、诺卡氏菌属等降解等。残留在土壤中的农药,经过复杂的转化、分解,最终形成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ 。微生物降解农药的方式主要有:1)以农药为唯一碳源和能源生长,降解速度较快;2)共代谢方式,微生物利用营养基质的同时将污染物降解。石油污染土壤中,添加优势降解菌可以提高生物处理石油类污染物的能力。在石油污染环境中,真菌和细菌降解石油烃类化合物可以形成不同立体异构体的中间产物,真菌一般形成反式二醇化合物,细菌形成顺式二醇<sup>[66]</sup>。其中多环芳烃类污染物是石油污染土壤修复的重点,细菌主要通过双加氧酶作用于苯环,在苯环上引入两个氧原子,被进一步代谢为邻苯二酚等中间产物,最终代谢为  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ <sup>[67]</sup>。真菌对多环芳烃的降解主要涉及两大酶系:1)木质素降解酶体系<sup>[68]</sup>;2)单加氧酶降解体系<sup>[69]</sup>。其中木质素降解体系包括无底物特异性的木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶,能够氧化很多种类的有机物。单加氧酶体系是通过细胞色素 P450 单加氧酶的催化,形成多环芳烃环氧化物,然后经过环氧化物水解酶形成反式二氢二醇化合物,继而形成高水溶性、低毒性的酚化合物,很容易进一步降解。

在土壤修复过程中共代谢起到了重要作用,有些难于降解的化合物不能被完全矿化利用,降



解菌在降解这些污染物的同时,必须从其他底物获取碳源和能源。农药和石油污染土壤修复过程中有很多属于共代谢类型。例如:在单甲脒修复过程中,门多萨假单胞菌 DR8 不能以单甲脒为生长的唯一碳源,但是在葡萄糖存在同时,便可以降解单甲脒<sup>[70]</sup>。巩宗强等将几种真菌加入到多环芳烃污染土壤中,研究土壤中几种共存底物(菲、芘、邻苯二甲酸)对苯并芘降解的影响及其共代谢过程。结果表明,芘可以促进镰刀菌和毛霉菌对苯并芘的降解<sup>[71]</sup>。

### 3.3 微生物-植物联合修复石油污染土壤技术

通过微生物-植物联合修复技术,对降解石油污染土壤已经取得了较好的成效。其中,王京秀等从石油污染土壤中筛选到高效石油降解菌,并结合种植能源草,进行了微生物-植物联合修复石油污染土壤室内实验,经过 150 d 的降解,最高降解率达到 73.47%,石油污染物得到一定程度的生物降解<sup>[72]</sup>。Xu 等利用考克氏菌 *Kocuria* sp. P10 菌株与黑麦草联合修复多环芳烃长期重污染土壤,发现联合修复对多环芳烃的去除效果明显高于微生物修复或植物修复单独应用的效果,土壤微生物群落的多样性和结构也得到明显改善<sup>[73]</sup>。刘继朝等通过单独添加微生物、单独种植植物、微生物与植物组合实验表明,在相同时间内,微生物与植物组合的降解率比单一修复的降解率可提高 30%<sup>[74]</sup>。林立宁通过种植紫花苜蓿、添加氮、磷营养盐并接种驯化微生物,降解效果比单一修复好<sup>[75]</sup>。李丹选用东营当地的盐生植物碱蓬和优势 AM 菌根真菌摩西球囊霉 *Glomus mosseae*,建立了 AM 菌根真菌-植物-氮添加联合修复技术,经过 90 d 的修复,修复组比对照组石油降解率提高

了 1.66 倍,因此联合修复是石油污染修复的较佳选择<sup>[76]</sup>。

### 3.4 微生物-植物联合修复重金属污染土壤技术

在重金属污染土壤中,微生物-植物联合修复也已经成为研究热点。土壤中许多细菌不仅能够刺激并保护植物生长,还能够活化土壤中重金属污染物。腾应等利用里氏木霉 *Trichoderma reesei* FS10-C 联合伴矿景天应用于镉污染农田土壤的修复,不同浓度镉处理下,联合修复植株鲜重(干重)和镉含量都明显提高<sup>[77]</sup>。盛下放等利用从污染土壤中分离的 3 株镉抗性菌株,将其与番茄进行联合修复镉污染土壤实验,结果表明,供试菌都能够显著促进植物生长,活化植物根际,与对照组相比,地上植株干质量增加 64%,根际有效镉含量及植株吸收镉含量分别增加了 46%和 107%<sup>[78]</sup>。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 21.4%–76.3% 和 18.0%–23.6%<sup>[79]</sup>。

在重金属污染土壤修复中另外一种微生物-植物联合修复模式是植物与菌根的联合修复。含有大量微生物的菌根是一个复杂的群体,包括放线菌、固氮菌等等,这些菌具有一定的污染物降解能力,同时维系着根际较高的微生物种群密度和生理活性,使得微生物菌群更稳定。关于菌根真菌用于植物-微生物联合修复重金属污染的报道较多<sup>[74,80-82]</sup>。黄艺等通过测定不同施 Zn、Cu 水平下苗木中 2 种重金属的含量,发现菌根苗体内 Cu 和 Zn 的含量是非菌根植物的

2.6 和 1.3 倍<sup>[83]</sup>。陈秀华和赵斌通过 5 个土壤 Cu<sup>2+</sup>水平 (0、20、50、100、150 mg/kg) 的盆栽试验,研究了不同土壤 Cu<sup>2+</sup>水平接种菌根真菌根内球囊霉 *Glomus intraradices* 和摩西球囊霉 *G. mosseae* 对紫云英生长的影响,结果表明, Cu<sup>2+</sup>污染土壤中接种根内球囊霉 *G. intraradices* 对紫云英生长具有促进作用<sup>[84]</sup>。一种根际促生紫金牛叶杆菌 *Phyllobacterium myrsinacearum* RC6b 对重金属镉、锌、铅具有较强的抗性,达到 350、1 000 和 4 500 mg/L,并能够分泌促进植物生长的物质,可以自身吸附重金属并且现在促进共修复植物在重金属污染条件下的生长,使植物对镉、锌、铅的吸收分别提高 138%、90%和 46%,具有良好的重金属污染土壤的生物修复应用前景<sup>[85]</sup>。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<sup>[74]</sup>。

#### 4 环境生物修复技术的发展与展望

我国微生物修复技术近些年发展较为迅速,人们在微生物资源、降解途径以及修复技术研发等方面取得了一定的研究进展,开展微生物酶制剂及其相关环境修复制剂的研发,积极探索土壤修复反应器工艺技术,开展与动物植物或者物理化学土壤修复技术相结合。但是在现实修复过程中还需要认识和解决其中出现的新问题,如:微生物代谢活动易受环境条件变化影响,特定的微生物只能吸收利用降解特定类型的污染物;外源微生物的生长条件与原则问题;生物修复过程中微生物的适应性机制

与影响因素的研究问题;有机污染物降解过程中的次生污染物安全问题等。因而未来生物修复技术需要突破应用的局限,多途径、多方法分离具有高效降解特性的菌株,建立环境修复微生物资源库;利用基因工程手段改良菌株,使其扩大降解范围,提高降解能力,解决复合污染土壤的修复问题;开展酶学研究,使微生物制剂产业化;发展多种修复方式之间的组合研究。总之,相信随着科学的发展,大规模利用生物降解土壤污染物、治理环境污染不久将会成为现实。

#### REFERENCES

- [1] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报 [EB/OL]. [2014-04-17]. [http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/qt/201404/t20140417\\_270670.html](http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/qt/201404/t20140417_270670.html).
- [2] Xiong YJ. Situation of soil contamination and the treatment strategies in China. *Mod Agr Sci Technol*, 2010(8): 294–295, 297 (in Chinese). 熊严军. 我国土壤污染现状及治理措施. *现代农业科技*, 2010(8): 294–295, 297.
- [3] Yang Y, He YM, Luan JL, et al. Comprehensive analysis on soil remediation technologies of international contaminated sites. *Environ Sci Technol*, 2012, 35(10): 92–98 (in Chinese). 杨勇,何艳明,栾景丽,等. 国际污染场地土壤修复技术综合分析. *环境科学与技术*, 2012, 35(10): 92–98.
- [4] Yang XM, Hu GJ, Yang XH, et al. The application and development of bioremediation technology. *China Min Mag*, 2007, 16(12): 58–60 (in Chinese). 杨秀敏,胡桂娟,杨秀红,等. 生物修复技术的应用及发展. *中国矿业*, 2007, 16(12): 58–60.
- [5] Wang QR, Liu XM, Cui YS, et al. Concept and advances of applied bioremediation for organic pollutants in soil and water. *Acta Ecol Sin*, 2001,

- 21(1): 159–163 (in Chinese).  
王庆仁, 刘秀梅, 崔岩山, 等. 土壤与水体有机污染的生物修复及其应用研究进展. 生态学报, 2001, 21(1): 159–163.
- [6] Teng Y, Luo YM, Li ZG. Principle and technique development of microbial remediation of contaminated soil. *Soils*, 2007, 39(4): 497–502 (in Chinese).  
滕应, 骆永明, 李振高. 污染土壤的微生物修复原理与技术进展. 土壤, 2007, 39(4): 497–502.
- [7] Yu L, Long JP, Li JJ, et al. Advances in the study on bioremediation and its application to coastal wetland. *Adv Mar Sci*, 2002, 20(4): 99–108 (in Chinese).  
喻龙, 龙江平, 李建军, 等. 生物修复技术研究进展及在滨海湿地中的应用. 海洋科学进展, 2002, 20(4): 99–108.
- [8] He YH, Hu LF, Shen DS, et al. Progress in contaminated environment bioremediation. *Bull Sci Technol*, 2007, 23(2): 271–276 (in Chinese).  
贺永华, 胡立芳, 沈东升, 等. 污染环境生物修复技术研究进展. 科技通报, 2007, 23(2): 271–276.
- [9] Zhang XH. *The Principle and Application of High Environmental Chemistry and Microbiology*. Beijing: Chemical Industry Press, 2001 (in Chinese).  
张锡辉. 高等环境化学与微生物学原理及应用. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [10] Shen DZ. *Bioremediation of Contaminated Environments*. Beijing: Chemical Industry Press, 2002 (in Chinese).  
沈德中. 污染环境的生物修复. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [11] Ma WY, Yang LY. *Environmental Microbiological Engineering*. Nanjing: Nanjing University Press, 1998 (in Chinese).  
马文漪, 杨柳燕. 环境微生物工程. 南京: 南京大学出版社, 1998.
- [12] Xu XY, Ren YH, Huang X, et al. Advances on microbial degradation of typical organic pollutants and its molecular mechanism. *J Zhejiang Univ: Agr Life Sci*, 2004, 30(6): 684–689 (in Chinese).  
徐向阳, 任艳红, 黄绚, 等. 典型有机污染物微生物降解及其分子生物学机理的研究进展. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 30(6): 684–689.
- [13] Mars AE, Kingma J, Kaschabek SR, et al. Conversion of 3-chlorocatechol by various catechol 2,3-dioxygenases and sequence analysis of the chlorocatechol dioxygenase region of *Pseudomonas putida* GJ31. *J Bacteriol*, 1999, 181: 1309–1318.
- [14] Xun L, Webster CM. A monooxygenase catalyzes sequential dechlorinations of 2, 4, 6-trichlorophenol by oxidative and hydrolytic reactions. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6696–6700.
- [15] Cerniglia CE. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 1992, 3(2/3): 351–368.
- [16] Liu SL, Luo YM, Ding KQ, et al. Enhanced phytoremediation of benzo[a]pyrene contaminated soil with arbuscular mycorrhizal fungi. *Acta Pedol Sin*, 2004, 41(3): 336–342 (in Chinese).  
刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物修复作用研究. 土壤学报, 2004, 41(3): 336–342.
- [17] Shen ZG, Chen HM. Advances on study on bioremediation of heavy metal contaminated soil. *J Ecol Rur Environ*, 2000, 16(2): 39–44 (in Chinese).  
沈振国, 陈怀满. 土壤重金属污染生物修复的研究进展. 农村生态环境, 2000, 16(2): 39–44.
- [18] Li L. Progress on bioremediation techniques. *Entrepreneur World*, 2010(5): 66–67.  
李凌. 生物修复技术研究进展. 企业家天地, 2010(5): 66–67.
- [19] Xu LH, Huang QY, Chen WL. Bacterial bioremediation and bio-detection of heavy metal-contaminated environments. *Chin J Appl Environ Biol*, 2004, 10(2): 256–262 (in Chinese).

- 徐磊辉, 黄巧云, 陈雯莉. 环境重金属污染的细菌修复与检测. 应用与环境生物学报, 2004, 10(2): 256-262.
- [20] Chen FY. Microbial remediation techniques of heavy metal contamination. Mod Agr Sci Technol, 2008(24): 297-299 (in Chinese).  
陈范燕. 重金属污染的微生物修复技术. 现代农业科技, 2008(24): 297-299.
- [21] Lin CM. Situation of bioremediation techniques for heavy metal contaminated soil. J Environ Health, 2008, 25(3): 273-275 (in Chinese).  
林春梅. 重金属污染土壤生物修复技术研究现状. 环境与健康杂志, 2008, 25(3): 273-275.
- [22] Zhang WW, Chen LX, Liu DY. Characterization of a marine-isolated mercury-resistant *Pseudomonas putida* strain SP1 and its potential application in marine mercury reduction. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(3): 1305-1314.
- [23] Fan T, Ye WL, Chen HY, et al. Review on contamination and remediation technology of heavy metal in agricultural soil. Ecol Environ Sci, 2013, 22(10): 1727-1736 (in Chinese).  
樊霆, 叶文玲, 陈海燕, 等. 农田土壤重金属污染状况及修复技术研究. 生态环境学报, 2013, 22(10): 1727-1736.
- [24] Li FY. Bioremediation techniques for soil contaminated with heavy metals. Environ Sci Technol, 2011, 34(S2): 148-151 (in Chinese).  
李飞宇. 土壤重金属污染的生物修复技术. 环境科学与技术, 2011, 34(S2): 148-151.
- [25] Scragg A. Environmental Biotechnology. Beijing: World Books Press, 2000.
- [26] Schwitzguébel JP, Comino E, Plata N, et al. Is phytoremediation a sustainable and reliable approach to clean-up contaminated water and soil in Alpine areas? Environ Sci Pollut Res, 2011, 18(6): 842-856.
- [27] Luo YM. Situation and trends of remediation of contaminated soil. Chem Adv, 2009, 21(2/3): 558-565 (in Chinese).  
骆永明. 污染土壤修复技术研究现状与趋势. 化学进展, 2009, 21(2/3): 558-565.
- [28] Yi H, Crowley DE. Biostimulation of PAH degradation with plants containing high concentrations of linoleic acid. Environ Sci Technol, 2007, 41(12): 4382-4388.
- [29] Li XF, Deng H, Huang YZ, et al. Resistance and resilience of soil ecosystem: a review. Acta Ecol Sin, 2009, 29(12): 6712-6723 (in Chinese).  
李小方, 邓欢, 黄益宗, 等. 土壤生态系统稳定性研究进展. 生态学报, 2009, 29(12): 6712-6723.
- [30] Li Q, Zhou LB, Zhu YB. A review on remediation techniques for mineral soil contaminated with heavy metals. Nonferrous Met Eng, 2013, 3(2): 56-59 (in Chinese).  
李青, 周连碧, 祝怡斌. 矿山土壤重金属污染修复技术综述. 有色金属工程, 2013, 3(2): 56-59.
- [31] Li FY, Qu XR, Wu LH. Theory Basic and Technology for Bioremediation of Contaminated Soil. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 55-63 (in Chinese).  
李法云, 曲向荣, 吴龙华. 污染土壤生物修复理论基础与技术. 北京: 化学工业出版社, 2006: 55-63.
- [32] Sundin P, Valeur A, Olsson S, et al. Interactions between bacteria-feeding nematodes and bacteria in the rape rhizosphere: effects on root exudation and distribution of bacteria. FEMS Microbiol Lett, 1990, 73(1): 13-22.
- [33] Hu F, Li HX. Interactions of bacterivorous nematode and bacteria and their effects on mineralization immobilization of nitrogen and phosphorus. Acta Ecol Sin, 1999, 19(6): 914-920 (in Chinese).  
胡锋, 李辉信. 土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其对N, P矿化-生物固定的影响及机理. 生态学报, 1999, 19(6): 914-920.
- [34] Edwards CA. The use of earthworms in processing

- organic wastes into plant growth media and animal feed protein//Vermiculture Technology-Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management. Edwards CA, Arancon NQ, Sherman R, ed. Boca Raton/London/New York: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2004: 327.
- [35] Mamilov AS, Byzov BA, Zvyagintsev DG, et al. Predation on fungal and bacterial biomass in a soddy-podzolic soil amended with starch, wheat straw and alfalfa meal. *Appl Soil Ecol*, 2001, 16(2): 131-139.
- [36] Khan S, Cao Q, Zheng YM, et al. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environ Pollut*, 2008, 152(3): 686-692.
- [37] Weyens N, van der Lelie D, Taghavi S, et al. Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Curr Opin Biotech*, 2009, 20(2): 248-254.
- [38] Glick BR, Steams JC. Making phytoremediation work better: maximizing a plant's growth potential in the midst of adversity. *Int J Phytoremediat*, 2011, 13(S1): 4-16.
- [39] Rajkumar M, Sandhya S, Prasad MNV, et al. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol Adv*, 2012, 30(6): 1562-1574.
- [40] Yang Q, Tu S, Wang G, et al. Effectiveness of applying arsenate reducing bacteria to enhance arsenic removal from polluted soils by *Pteris vittata* L.. *Int J Phytoremediat*, 2012, 14(1): 89-99.
- [41] Glick BR. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv*, 2010, 28(3): 367-374.
- [42] Babu AG, Reddy MS. Dual inoculation of arbuscular mycorrhizal and phosphate solubilizing fungi contributes in sustainable maintenance of plant health in fly ash ponds. *Water Air Soil Pollut*, 2011, 219(1/4): 3-10.
- [43] Liu SL, Luo YM, Cao ZH, et al. Advances on study on microbial-phytoremediation of polycyclic aromatic compounds contaminated soil. *Soils*, 2002, 34(5): 257-265 (in Chinese).  
刘世亮, 骆永明, 曹志洪, 等. 多环芳烃污染土壤的微生物与植物联合修复研究进展. *土壤*, 2002, 34(5): 257-265.
- [44] Jin GX, Zhang SM. Progress of research on pollution ecology in rhizosphere. *J Ecol Rur Environ*, 2000, 16(3): 46-50 (in Chinese).  
金国贤, 张莘民. 植物根圈污染生态研究进展. *农村生态环境*, 2000, 16(3): 46-50.
- [45] Leyval C, Binet P. Effect of poluaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. *J Environ Qual*, 1998, 27: 402-407.
- [46] Li SP, Wu J, He J, et al. A carbofuran residual-degrading strain and its agent: CN, 200410013835.7, 2004-01-08 (in Chinese).  
李顺鹏, 武俊, 何健, 等. 一种呋喃丹农药残留降解菌及其生产的菌剂: 中国, 200410013835.7, 2004-01-08.
- [47] Li SP, Hu J, Cui ZL, et al. A triazine herbicide residual-degrading strain and its agent: CN, 200410044952.X, 2004-06-07 (in Chinese).  
李顺鹏, 胡江, 崔中利, 等. 一种三嗪类除草剂残留降解菌及其生产的菌剂: 中国, 200410044952.X, 2004-06-07.
- [48] Li SP, Ma AZ, Wu J, et al. A hexachlorocyclohexane residual-degrading strain and its agent: CN, 200410066054.4, 2004-12-16 (in Chinese).  
李顺鹏, 马爱芝, 武俊, 等. 六六六农药残留降解菌及其生产的菌剂: 中国, 200410066054.4, 2004-12-16.
- [49] Li SP, Gu LF, He J, et al. A phoxim residual-degrading strain and its agent: CN, 200510022545.3, 2005-12-23 (in Chinese).  
李顺鹏, 顾立峰, 何健, 等. 一种辛硫磷农药残

- 留降解菌及其生产的菌剂：中国，200510022545.3, 2005-12-23.
- [50] Li SP, Huang X, Sun JQ, et al. A metsulfuron-methyl residual-degrading strain and its agent: CN, 200510022552.3, 2005-12-23 (in Chinese).  
李顺鹏, 黄星, 孙纪全, 等. 一种甲磺隆农药残留降解菌及其生产的菌剂：中国，200510022552.3, 2005-12-23.
- [51] Li SP, Zhang MX, Hong Q, et al. A DDT residual-degrading strain and its agent: CN, 200510095664.1, 2005-11-28 (in Chinese).  
李顺鹏, 张明星, 洪青, 等. 一种滴滴涕农药残留降解菌及其生产的菌剂：中国，200510095664.1, 2005-11-28.
- [52] Li SP, Ma JP, Huang X, et al. A nicosulfuron residual-degrading strain and its agent: CN, 200910024757.3, 2009-02-13 (in Chinese).  
李顺鹏, 马吉平, 黄星, 等. 一种烟嘧磺隆农药残留降解菌及其生产的菌剂：中国，200910024757.3, 2009-02-13.
- [53] Li SP, Jiang JD, Li R, et al. An avermectin residual-degrading strain and its agent: CN, 201010204224.6, 2010-06-21 (in Chinese).  
李顺鹏, 蒋建东, 李荣, 等. 阿维菌素农药残留降解菌及其生产的菌剂：中国，201010204224.6, 2010-06-21.
- [54] Liu SJ, Wu JF, Liu ZP, et al. A *p*-chloro-nitrobenzene-degrading *Comamonas* sp. strain and its application: CN, 200310114337, 2003-11-14 (in Chinese).  
刘双江, 吴建峰, 刘志培, 等. 一种降解对氯硝基苯的羧基酮丛毛单胞菌及其用途：中国，200310114337, 2003-11-14.
- [55] Liu L, Jiang CY, Liu XY, et al. Plant-microbe association for rhizoremediation of chloronitroaromatic pollutants with *Comamonas* sp. strain CNB-1. *Environ Microbiol*, 2007, 9(2): 465-473.
- [56] Dang Z, Tao XQ, Lu GN. A polycyclic aromatic compound-degrading strain and its application: CN, 200610034169.4, 2006-03-08 (in Chinese).  
党志, 陶雪琴, 卢桂宁. 一株多环芳烃降解菌及其应用：中国，200610034169.4, 2006-03-08.
- [57] Liu ZP, Li XW, Liu SJ, et al. A bio-emulsifier-producing and polycyclic aromatic compound-degrading *Rhodococcus ruber* Em1 and its application: CN, ZL03101920.X, 2005-10-19 (in Chinese).  
刘志培, 李习武, 刘双江, 等. 一种产生生物乳化剂和降解多环芳烃的赤红球菌 Em1 及用途：中国，ZL03101920.X, 2005-10-19.
- [58] Dang Z, Wu FJ, Guo CL, et al. A *Mycobacterium gilvum* strain and its application in the degradation of oil: CN, 201310479232.5, 2013-10-14 (in Chinese).  
党志, 伍凤姬, 郭楚玲, 等. 一种微黄分支杆菌及其在降解石油组分多环芳烃中的应用：中国，201310479232.5, 2013-10-14.
- [59] Guo CL, Zhang H, Dang Z, et al. A lipid biosurfactant-producing and crude oil-degrading strain and its application: CN, 201210474165.3, 2012-11-20 (in Chinese).  
郭楚玲, 章慧, 党志, 等. 产脂类生物表面活性剂的原油降解菌及应用：中国，201210474165.3, 2012-11-20.
- [60] Guo SH, Li FM, Zhang LY, et al. An electric field-adapted and hydrocarbon-degrading strain and its application: CN, 201110415635.4, 2011-12-13 (in Chinese).  
郭书海, 李凤梅, 张玲妍, 等. 适合于电场条件下的石油烃降解菌及其应用：中国，201110415635.4, 2012-11-13.
- [61] Teng Y, Li XF, Luo YM, et al. *Mesorhizobium* sp. ZY1 and its application in soil remediation: CN, 20120417029, 2012-10-26 (in Chinese).  
腾应, 李秀芬, 骆永明, 等. 中慢生根瘤菌 ZY1 及其在土壤修复中的应用：中国，20120417029, 2012-10-26.

- [62] Wang J, Teng Y, Zhang MY, et al. *Rhodococcus globerulus* WJ4 and its application in bioremediation of phthalates-contaminated soil: CN, 201310431042.6, 2013-09-18 (in Chinese).  
汪军, 腾应, 张满云, 等. 一株球状红球菌 WJ4 及其在邻苯二甲酸酯污染土壤修复中的应用: 中国, 201310431042.6, 2013-09-18.
- [63] Sun JG, Ren TZ, Xu J, et al. An effective organic pollutant-degrading bacterium and its application: CN, 200810226193.7, 2008-11-17 (in Chinese).  
孙建光, 任天志, 徐晶, 等. 一株高效降解有机污染物的细菌及其用途: 中国, 200810226193.7, 2008-11-17.
- [64] Zhuang GQ, Wang XX, Zhu YG, et al. A complex microbial agent for remediation of crude oil contaminated alkaline soil: CN, 201010519297.4, 2000-10-26 (in Chinese).  
庄国强, 王新新, 朱永官, 等. 一种修复石油污染盐碱土壤的微生物复合菌剂: 中国, 201010519297.4, 2000-10-26.
- [65] Chen HY, Wang JH. Microbial remediation of polluted soils. *Environ Sci Manag*, 2008, 33(8): 114–117 (in Chinese).  
陈红艳, 王继华. 受污染土壤的微生物修复. *环境科学与管理*, 2008, 33(8): 114–117.
- [66] Ding KQ, Sun TY, Li PJ. Bioremediation techniques for crude oil contaminated soil. *Chin J Ecol*, 2000, 19(2): 50–55 (in Chinese).  
丁克强, 孙铁衍, 李培军. 石油污染土壤的生物修复技术. *生态学杂志*, 2000, 19(2): 50–55.
- [67] Moody JD, Frerman JP, Doerge DR. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(4): 1476–1483.
- [68] Hammel KE, Gai WZ, Green B. Oxidative degradation of phenanthrene by the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(6): 1832–1838.
- [69] Bezalel L, Hadar Y, Cerniglia CE. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *pleurotus ostreatus*. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(7): 2495–2501.
- [70] Wang BJ, Liu ZP, Yang HF. A study on microbial degradation of methanimidamide. *Acta Sci Circum*, 1998, 18(3): 296–302 (in Chinese).  
王保军, 刘志培, 杨惠芳. 单甲脒农药的微生物降解代谢研究. *环境科学学报*, 1998, 18(3): 296–302.
- [71] Gong ZQ, Li PJ, Wang X, et al. Fungal co-metabolic degradation of benzo[a]pyrene in soil. *Acta Sci Circum*, 2001, 14(6): 36–39 (in Chinese).  
巩宗强, 李培军, 王新, 等. 真菌对土壤中苯并[a]芘的共代谢降解. *环境科学学报*, 2001, 14(6): 36–39.
- [72] Wang JX, Zhang ZY, Wan YY, et al. Experimental study on plant-microbial remediation of oil-contaminated soil. *Chin J Environ Eng*, 2014, 8(8): 3454–3460 (in Chinese).  
王京秀, 张志勇, 万云洋, 等. 植物-微生物联合修复石油污染土壤的实验研究. *环境工程学报*, 2014, 8(8): 3454–3460.
- [73] Xu Y, Sun GD, Jin JH, et al. Successful bioremediation of an aged and heavily contaminated soil using a microbial/plant combination strategy. *J Hazard Mater*, 2014, 264: 430–438.
- [74] Liu JC, Cui YS, Zhang YP, et al. Effect of plants and microorganisms on remediation of petroleum contaminated soil. *J Ecol Rural Environ*, 2009, 25(2): 80–83 (in Chinese).  
刘继朝, 崔岩山, 张燕平, 等. 植物与微生物对石油污染土壤修复的影响. *生态与农村环境学报*, 2009, 25(2): 80–83.
- [75] Lin LN. Study on microbial-phytoremediation techniques of petroleum contaminated soil in Shanbei[D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2009 (in Chinese).  
林立宁. 陕北石油污染土壤微生物-植物联合修

- 复技术研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2009.
- [76] Li D. Combining remediation of petroleum contaminated saline soil by *Arbuscular mycorrhiza* fungi-plant-nitrogen addition[D]. Ji'nan: Shandong Normal University 2013 (in Chinese).  
李丹. AM 菌根真菌-植物-氮添加对石油污染盐渍土壤的联合修复[D]. 济南: 山东师范大学, 2013.
- [77] Teng Y, Ma WT, Luo YM, et al. Application of *Trichoderma reesei* combined with *Sedum plumbizincicola* in the remediation of cadmium contaminated field soil: CN, 201310104049.7, 2013-03-28 (in Chinese).  
腾应, 马文亭, 骆永明, 等. 里氏木霉联合伴矿景天在镉污染农田土壤修复中的应用: 中国, 201310104049.7, 2013-03-28.
- [78] Sheng XF, Bai Y, Xia JJ. Screening of cadmium-resistant strain and its effect on cadmium adsorption by tomato. *China Environ Sci*, 2003, 23(5): 467-469 (in Chinese).  
盛下放, 白玉, 夏娟娟. 镉抗性菌株的筛选及对番茄吸收镉的影响. *中国环境科学*, 2003, 23(5): 467-469.
- [79] Jiang CY, Sheng XF, He LY, et al. Characterization of a lead-cadmium resistant strain WS34 and its augmentation for phytoremediation of lead-cadmium contaminated soil. *Acta Sci Circum*, 2008, 28(10): 1961-1969 (in Chinese).  
江春玉, 盛下放, 何琳燕, 等. 一株铅镉抗性菌株 WS34 的生物学特性及其对植物修复铅镉污染土壤的强化作用. *环境科学学报*, 2008, 28(10): 1961-1969.
- [80] Li T, Huang Y, Huang ZJ. Changes of accumulation and distribution of elements and micro-ambient for ectomycorrhizal hyppa. *Ecol Environ*, 2005, 14(6): 870-875 (in Chinese).  
李婷, 黄艺, 黄志基. 重金属胁迫下外生菌根真菌 *Boletus edulis* 重金属积累分配与生长微环境变化. *生态环境*, 2005, 14(6): 870-875.
- [81] Chen XD, Chang WY, Shao CY. Development of bioremediation technology of soil contamination. *Environ Prot Sci*, 2001, 27(5): 23-25 (in Chinese).  
陈晓东, 常文越, 邵春岩. 土壤污染生物修复技术研究进展. *环境保护科学*, 2001, 27(5): 23-25.
- [82] Zhao DD, Li T, Zhao ZW. Research advances in arbuscular mycorrhizal fungi-megumes-rhizobia symbiosis. *Chin J Ecol*, 2006, 25(3): 327-333 (in Chinese).  
赵丹丹, 李涛, 赵之伟. 丛枝菌根真菌-豆科植物-根瘤菌共生体系的研究进展. *生态学杂志*, 2006, 25(3): 327-333.
- [83] Huang Y, Chen YJ, Tao S. Effect of rhizospheric environment of VA-mycorrhizal plants on forms of Cu, Zn, Pb and Cd in polluted soil. *Chin J Appl Ecol*, 2000, 11(3): 431-435 (in Chinese).  
黄艺, 陈有键, 陶澍. 菌根植物根际环境对污染土壤中 Cu, Zn, Pb, Cd 形态的影响. *应用生态学报*, 2000, 11(3): 431-435.
- [84] Chen XH, Zhao B. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of *Astragalus sinicus* L. in copper ion polluted soil. *Mycosystema*, 2006, 25(3): 416-424 (in Chinese).  
陈秀华, 赵斌.  $\text{Cu}^{2+}$  污染土壤接种 AM 真菌对紫云英生长的影响. *菌物学报*, 2006, 25(3): 416-424.
- [85] Ma Y, Luo YM, Teng Y, et al. *Phyllobacterium myrsinacearum* RC6b and its application in soil remediation: CN, 201210412951.0, 2012-10-25 (in Chinese).  
马莹, 骆永明, 腾应, 等. 紫金牛叶杆菌 RC6b 及其在土壤修复中的应用: 中国, 201210412951.0, 2012-10-25.

(本文责编 陈宏宇)