

污染土壤的微生物修复原理与技术进展

滕 应^{1,2}, 骆永明^{1,2*}, 李振高^{1,2}

(1 中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008;

2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所) 南京 210008)

摘 要: 微生物修复是土壤环境生物修复技术的重要组成部分, 是最具发展和应用前景的生物学环保新技术。本文以土壤中重金属及典型有机污染物为对象, 从土壤微生物与污染物质的相互作用入手, 较为系统地综合评述国内外污染土壤的微生物修复原理与技术, 并结合当前土壤污染的新特点, 提出了需进一步认识和解决微生物修复过程中出现的新现象和新问题, 以不断丰富和拓展土壤环境微生物修复范畴与内涵。

关键词: 污染土壤; 微生物; 修复原理; 修复技术

中图分类号: S154.36

土壤污染已经成为全球性的重要环境问题之一^[1]。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。

土壤微生物是土壤生态系统的重要生命体, 它不仅可以指示污染土壤的生态系统稳定性, 而且还具有巨大的潜在环境修复功能。由此, 污染土壤的微生物修复理论及修复技术便应运而生。微生物修复是指利用天然存在的或所培养的功能微生物群, 在适宜环境条件下, 促进或强化微生物代谢功能, 从而达到降低有毒污染物活性或降解成无毒物质的生物修复技术, 它已成为污染土壤生物修复技术的重要组成部分和生力军。至此, 本文以土壤中污染物 (重金属及典型有机污染物) 为对象, 从土壤微生物与污染物质的相互作用入手, 较为系统地综合评述污染土壤的微生物修复原理与技术。

1 重金属污染土壤的微生物修复原理

土壤微生物种类繁多、数量庞大, 是土壤的活性有机胶体, 比表面大、带电荷和代谢活动旺盛, 在重金属污染物的土壤生物地球化学循环过程中起到了积

极作用。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, 可促进有毒、有害物质解毒或降低毒性, 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、生物吸着) 和生物转化 (如生物氧化还原、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。

1.1 微生物对重金属的生物积累和生物吸着

微生物对重金属的生物积累和生物吸着主要表现在胞外络合、沉淀以及胞内积累等 3 种形式, 其作用方式有以下几种: ①金属磷酸盐、金属硫化物沉淀; ②细菌胞外多聚体; ③金属硫蛋白、植物螯合肽和其他金属结合蛋白; ④铁载体; ⑤真菌来源物质及其分泌物对重金属的去除。由于微生物对重金属具有很强的亲合吸附性能, 有毒金属离子可以沉积在细胞的不同部位或结合到胞外基质上, 或被轻度螯合在可溶性或不溶性生物多聚物上^[2]。研究表明, 许多微生物, 包括细菌、真菌和藻类可以生物积累 (bioaccumulation) 和生物吸着 (biosorption) 环境中多种重金属和核素^[3]。一些微生物如动胶菌、蓝细菌、硫酸盐还原菌以及某些藻类, 能够产生胞外聚合物如多糖、糖蛋白等具有大量的阴离子基团, 与重金属离子形成络合物。Macaskie 等^[4]分离的柠檬酸细菌属 (*Citrobacter*), 具有一种抗 Cd 的酸性磷酸酯酶, 分解有机的 2-磷酸甘油, 产生 HPO_4^{2-} 与 Cd^{2+} 形成 CdHPO_4 沉淀。Bargagli^[5]在

①基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB41089/10)、国家自然科学基金 (40371070)、江苏省自然科学基金 (BK2005166) 和国家高技术研究发展计划 (863 计划) (2004AA649210) 资助。

* 通讯作者(ymluo@issas.ac.cn)

作者简介: 滕应 (1975—), 男, 贵州江口人, 博士, 副研究员, 主要从事土壤环境化学生物学方面研究。E-mail: yteng@issas.ac.cn

Hg 矿附近土壤中分离得到许多高级真菌,一些菌根种和所有腐殖质分解菌都能积累 Hg 达到 100 mg/kg 干重。

重金属进入细胞后,可通过“区域化作用”分配于细胞内的不同部位,体内可合成金属硫蛋白(MT),MT 可通过 Cys 残基上的巯基与金属离子结合形成无毒或低毒络合物。研究表明,微生物的重金属抗性与 MT 积累呈正相关,这使细菌质粒可能有抗重金属的基因,如丁香假单胞菌和大肠杆菌均含抗 Cu 基因,芽孢杆菌和葡萄球菌含有抗 Cd 和抗 Zn 基因,产碱菌含抗 Cd、抗 Ni 及抗 Co 基因,革兰氏阳性和革兰氏阴性菌中含抗 As 和抗 Sb 基因。Hiroki^[6]发现在重金属污染土壤中加入抗重金属产碱菌可使得土壤水悬浮液得以净化。可见,微生物生物技术在净化污染土壤环境方面具有广泛的应用前景。

1.2 微生物对重金属的生物转化作用

重金属污染土壤中存在一些特殊微生物类群,它们对有毒重金属离子不仅具有抗性,同时也可以使重金属进行生物转化。其主要作用机理包括微生物对重金属的生物氧化和还原、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转化重金属,改变其毒性,从而形成某些微生物对重金属的解毒机制^[2]。在细菌对重金属抗性和生物修复的可行性研究中,人们多关注 Hg 的脱甲基化和还原挥发、亚砷酸盐氧化和铬酸盐还原以及 Se 的甲基化挥发等^[7]。细菌对 Hg 的抗性归结于它所含的两种诱导酶:一种 Hg 还原酶和一种有机 Hg 裂解酶,其机制是通过 Hg-还原酶将有机的 Hg²⁺化合物转化成低毒性挥发态 Hg。也有研究表明,土壤中分布着多种可以使铬酸盐和重铬酸盐还原的微生物,如产碱菌属(*Alcaligenes*)、芽孢杆菌属、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、肠杆菌属、假单胞菌属和微球菌属(*Micrococcus*)等,这些菌能将高毒性的 Cr⁶⁺还原为低毒性的 Cr³⁺。可见,利用无机和有机 Hg 化合物还原及挥发,铬酸盐还原和亚砷酸盐氧化特性,可应用于重金属污染土壤的微生物修复。

微生物也可通过改变重金属的氧化还原状态,使重金属化合价发生变化,改变重金属的稳定性。Silver 等^[8]提出,在细菌作用下氧化还原是最有希望的有毒废物生物修复系统。微生物能氧化土壤中多种重金属元素,某些自养细菌如硫-铁杆菌类(*Thiobacillus ferrobacillus*)能氧化 As、Cu、Mo 和 Fe 等,假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)能使 As、Fe 和 Mn 等发生生物氧化,降低这些重金属元素的活性。硫还原细菌可通过两种途径将硫酸盐还原成硫化物,一是在呼吸过程中硫酸盐作为电子受体被还原,二是在同化过程中利用硫酸盐合成氨基酸,如胱氨酸和蛋氨酸,再通过脱

硫作用使 S²⁻分泌于体外,与重金属 Cd 形成沉淀,这一过程在重金属污染治理方面有重要的意义。另外,金属价态改变后,金属的络合能力也发生变化,一些微生物的分泌物与金属离子发生络合作用,这可能是微生物具有降低重金属毒性的另一机理。

2 有机污染土壤的微生物修复原理

2.1 有机污染物进入微生物细胞的过程

土壤中大部分有机污染物可以被微生物降解、转化,并降低其毒性或使其完全无害化。微生物降解有机污染物主要依靠两种作用方式: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。

2.2 微生物降解有机污染物的主要反应类型

微生物降解和转化土壤中有机污染物,通常依靠以下基本反应模式来实现的。

(1) 氧化作用:①醇的氧化,如醋化醋杆菌(*Acetobacter aceti*)将乙醇氧化为乙酸,氧化节杆菌(*Arthrobacter oxydans*)可将丙二醇氧化为乳酸;②醛的氧化,如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)将乙醛氧化为乙酸;③甲基的氧化,如铜绿假单胞菌将甲苯氧化为安息香酸,表面活性剂的甲基氧化主要是亲油基末端的甲基氧化为羧基的过程;④氧化去烷基化:如有机磷杀虫剂可进行此反应;⑤硫醚氧化:如三硫磷、扑草净等的氧化降解;⑥过氧化:艾氏剂和七氯可被微生物过氧化降解;⑦苯环羟基化:2,4-D 和苯甲酸等化合物可通过微生物的氧化作用使苯环羟基化;⑧芳环裂解:苯酚系列的化合物可在微生物作用下使环裂解;⑨杂环裂解:五元环(杂环农药)和六元环(吡啶类)化合物的裂解;⑩环氧化:环氧化作用是生物降解的主要机制,如环戊二烯类杀虫剂的脱卤、水解、还原及羟基化作用,等等。

(2) 还原作用:①乙烯基的还原,如大肠杆菌(*Escherichia coliform*)可将延胡索酸还原为琥珀酸;②醇的还原,如丙酸梭菌(*Clostridium propionicum*)可将乳酸还原为丙酸;③芳环羟基化,甲苯酸盐在厌氧条件下可以羟基化;也有醌类还原、双键、三键还原作用等等。

(3) 基团转移作用:①脱羧作用,如戊糖丙酸杆菌(*Propionibacterium pentosaceum*)可使琥珀酸等羧酸脱羧为丙酸;②脱卤作用,是氯代芳烃、农药、五氯酚等的生物降解途径;③脱烃作用,常见于某些有烃基连接在氮、氧或硫原子上的农药降解反应;还存在脱

氢卤以及脱水反应等。

(4) 水解作用: 主要包括有酯类、胺类、磷酸酯以及卤代烃等的水解类型。

(5) 其他反应类型: 包括酯化、缩合、氨化、乙酰化、双键断裂及卤原子移动等。

2.3 典型有机污染物的微生物转化与降解机理

2.3.1 氯代芳香族污染物的微生物转化与降解机理

前人研究表明, 土壤中存在大量可降解氯代芳香族污染物的微生物类群, 它们对氯代芳香族污染物的降解主要依靠两种途径: 即好氧降解和厌氧降解^[3]。脱氯是氯代芳香族有机物生物降解的关键, 好氧微生物可通过双加氧酶/单加氧酶作用使苯环羟基化, 形成氯代儿茶酚, 进行邻位、间位开环, 脱氯; 也可在水解酶作用下先脱氯后开环, 最终矿化^[9]。如 Mars 等^[10]发现恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) GJ31 存在特异的氯代儿茶酚 2,3-双加氧酶, 通过间位裂解途径降解氯苯, 可使 3-氯代儿茶酚同时进行开环与脱氯, 形成 2-羟基粘康酸。但是, 也有部分氯代芳香族污染物的降解是通过单加氧酶作用实现的, 如 2,4-D、2,4,5-三氯苯氧乙酸和 2,4,5-TCP 等可通过单加氧酶作用得到转化降解。Xun 等^[11]发现在 *Burkholderia cepacia* AC1100 和 *Ralstonia eutropha* JMP134 中存在利用 FADH₂ 的单加氧酶, 前者单加氧酶催化两步氧化, 使 2,4,5-TCP 先后转化为 2,5-二氯苯醌和 5-氯羟基苯二酚; 后者单加氧酶催化 2,4,6-TCP 序列脱氯形成 2,6-二氯苯醌, 而后水解脱氯产生 6-氯苯二酚。

氯代芳香族污染物的厌氧生物降解主要是依靠微生物的还原脱氯作用, 逐步形成低氯代中间产物或被矿化生成 CO₂ + CH₄ 的过程。一般情况下, 高氯代芳香族有机物易于还原脱氯, 低氯代的芳香族有机物厌氧降解较难^[10]。近年来人们已经分离到一些厌氧还原脱氯降解微生物, 如对单氯酚、二氯酚类、羟基氯代联苯具有间位、邻位、对位脱氯活性的 *Desulfomonile teidjei* DCB-1, *Desulfitobacterium hafniense* DCB-2, *Desulfitobacterium dehalogenans*, *Desulfovibrio dechlorivorans* 等^[12-15]。Fennell 等^[16]发现四氯乙烯脱氯降解菌 *Dehalococcoides etheno-genes strain* 195 对多种氯代芳烃具有还原脱氯活性, 如将 1,2,3,4-TeCDD 转化为 1,2,4-TrCDD 和 1,3-DiCDD, 2,3,4,5,6-五氯联苯还原脱氯形成 2,3,4,6-四氯联苯或 2,3,5,6-四氯联苯和 2,4,6-三氯联苯, 1,2,3,4-四氯萘转化为二氯萘, 六氯苯序列还原脱氯形成 1,2,3,5-四氯苯和 1,3,5-三氯苯。以上研究表明, 氯代芳香族污染物的厌氧微生物降解具有很大的应用潜力, 已成为有机污染土壤环境修复的研究热点。美国 EPA 已提出将有机污染物厌氧生物降解作为

生物修复行动计划的优先领域。

2.3.2 多环芳烃 (PAHs) 的微生物转化与降解机理

微生物对 PAHs 的降解通常有两种方式: 一种是微生物在生长过程中以 PAHs 作为唯一的碳源和能源生活而降解 PAHs。一般情况下, 微生物对 PAHs 的降解都是需要氧气的参与, 产生加氧酶, 然后再在加氧酶的作用下使苯环分解。其中真菌主要产生单加氧酶, 首先进行 PAHs 的羟基化, 把一个氧原子加到 PAHs 上, 形成环氧化合物, 接着水解生成反式二醇和酚类^[17]。而细菌一般产生双加氧酶, 把两个氧原子加到苯环上形成双氧乙烷, 进而形成双氧乙醇, 接着脱氢产生酚类。不同的途径会产生不同的中间产物, 其中邻苯二酚是最普遍的。这些中间代谢产物经过相似的途径降解: 苯环断裂, 丁二酸, 反丁烯二酸, 丙酮酸, 乙酸或乙醛^[18]。这些物质都能被微生物所利用, 同时产生 H₂O 和 CO₂。

另外一种方式是微生物可通过共代谢途径 (即 PAHs 与其他有机物共氧化) 降解大分子量的 PAHs。在共代谢降解过程中, 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。多环芳烃环的断开主要靠加氧酶的作用, 加氧酶能把氧原子加到 C-C 键上形成 C-O 键, 再经过加氢、脱水等作用而使 C-C 键断裂, 从而达到开环的目的。刘世亮等^[19]曾比较了邻苯二甲酸、琥珀酸钠作为共代谢底物时 B[aP] 的降解效率, 其结果表明琥珀酸钠加强了 B[aP] 的共代谢作用, 促进了 B[aP] 的降解。事实上, 共代谢已成为大分子量 PAHs 微生物降解的唯一代谢方式, 在 PAHs 污染土壤修复中具有很大的应用潜力。

3 污染土壤的微生物修复技术与应用

近 10 多年来, 微生物修复发展尤为迅猛, 给污染土壤的生物修复技术带来了丰富的研究内容和发展前景。土壤微生物修复技术是在适宜条件下利用土著微生物或外源微生物的代谢活动, 对土壤中污染物进行转化、降解与去除的方法。从修复场地来分, 土壤微生物修复技术主要分为两类, 即原位微生物修复 (in-situ bioremediation) 和异位微生物修复 (ex-situ bioremediation)。

3.1 污染土壤的原位微生物修复技术

原位微生物修复不需将污染土壤搬离现场, 直接向污染土壤投放 N、P 等营养物质和供氧, 促进土壤中土著微生物或特异功能微生物的代谢活性, 降解污染物。原位微生物修复技术主要有: 生物通风法 (bioventing)、生物强化法 (enhanced-bioremediation)、

土地耕作法 (land farming) 和化学活性栅修复法 (chemical activated bar) 等几种。

3.1.1 生物通风法 生物通风又称土壤曝气, 是基于改变生物降解环境条件 (如通气状况等) 而设计的, 是一种强迫氧化的生物降解方法。其操作原理是在污染的土壤上至少打 2 口井, 安装鼓风机和抽空机, 将空气强制注入土壤中, 然后抽出土壤中的挥发性有机毒物。在通入空气时, 可以加入一定量的氧气和营养液, 改善土壤中降解菌的营养条件, 提高土著微生物的降解活性, 从而达到污染物降解的目的。丁克强等^[20]研究了通气对石油污染土壤生物修复的影响, 结果表明通气可为石油烃污染土壤中的微生物提供充足的电子受体, 可保持土壤 pH 稳定, 从而促进了微生物的生物活性, 强化了对石油污染物的氧化降解作用。德克萨斯研究院 Agrelot 等^[8]曾采用该方法修复四氯化碳污染土壤也获得了成功, 修复效果则是土壤挖掘法、清洗法的 5 倍以上, 大大降低了修复成本。但在使用此方法时, 应该注意选择或调理土壤物理结构, 最好是选择通透性较好的土壤结构。

3.1.2 生物强化法 生物强化是基于改变生物降解中微生物的活性和强度而设计的, 可分为土著菌培养法和投菌法。①土著菌培养法是定期向污染土壤投加 H_2O_2 和营养, 以满足土著降解菌的需要, 提高土著微生物的代谢活性, 将污染物充分矿化成 CO_2 和 H_2O 的方法。目前, 该方法在生物修复工程中实际应用较多, 其原因在于: 一方面是由于土著微生物降解污染物的潜力巨大, 另一方面是因为接种的外源微生物在土壤中难以保持较高的活性以及工程菌的应用受到较为严格的限制。②投菌法是直接向污染土壤中接入高效降解菌, 同时提供给这些微生物生长所需营养的过程。Hwang 等^[21]使用 3 种补充的营养液与分枝杆菌属 (*Mycobacterium* sp.) 一起注入土壤中, 已经取得了良好的效果。李顺鹏等^[22]在农药 (如有机磷类等) 污染土壤的微生物修复方面作了系列工作, 也取得了明显进展。但使用该方法时常常会受到土著微生物的竞争, 因此, 在应用时我们需要接种大量的外源微生物形成优势菌群, 以便迅速开始生物降解过程。

3.1.3 土地耕作法 土地耕作法也称农作法, 是以就地污染土壤作为接种物的好氧生物过程。土地耕作法相比其他处理方法, 如填埋、焚烧、洗脱等, 有对土壤结构破坏较小、实用有效等特点, 应用范围较广^[23]。其简要操作规程是: 首先对污染土壤进行耕耙, 同时施入肥料等养分, 进行灌溉, 加入石灰, 从而尽可能地为微生物降解提供一个良好的环境, 以便土壤中发生污染物的降解过程。一般情况下, 土地耕作修

复法只能适用于 30 cm 的耕层土壤, 而对于 30 cm 以下的土壤则用特殊的设备。

3.1.4 化学活性栅修复法 化学活性栅修复法是依靠掺入污染土壤的化学修复剂与污染物发生氧化、还原、沉淀、聚合等化学反应, 从而使污染物得以降解或转化为低毒性或移动性较低的化学形态的方法。其中较为典型的化学活性栅系统修复规程是: 通过注入井, 把粉状胶体物质 (如零价胶态铁粉) 注入污染地区水流走向的下方。然后, 在注入井的水流下方, 开挖第二个井, 用以抽取污染的地下水。通过污染地下水的处理, 可以达到污染土壤的修复。目前, 这一技术已经成功地应用于石油烃, 特别是卤化烃等有机物污染的土壤。

3.2 污染土壤的异位微生物修复技术

异位微生物修复是把污染土壤挖出, 进行集中生物降解的方法。主要包括预制床法 (prepared bed)、堆制法 (composting bioremediation) 及泥浆生物反应器法 (bioslurry bioreactor)。

3.2.1 预制床法 预制床修复是农耕法的延续, 它可以使污染物的迁移量减至最低。其简要操作规程为: 在不泄露的平台上铺上沙子和石子, 将污染土壤平铺 (15 ~ 30 cm 厚度) 于平台上, 并加入营养液和水, 必要时加入表面活性剂, 定期翻动供氧, 以满足土壤微生物的生长需要, 处理过程中流出的渗滤液, 及时回灌于土层, 以彻底清除污染物。该方法在 PCP、杂酚油、石油、农药等污染土壤修复中, 获得了一些成功的案例。Eullis 等^[24]用具有滤液收集和水循环系统的预制床对斯德哥尔摩中部防腐油生产区的土壤进行治理, 土壤中 PAHs 的浓度从 1024.4 mg/kg 降至 324.1 mg/kg。

3.2.2 堆制法 堆制法是利用传统的堆肥方法, 将污染土壤与有机废弃物 (如木屑、秸秆、树叶等)、粪便等混合起来, 使用机械或压气系统充氧, 同时加入石灰以调节 pH 值, 经过一段时间依靠堆肥过程中微生物作用来降解土壤中有有机污染物。堆制法包括风道式、好气静态式和机械式等 3 种, 其中机械式 (在密封容器中进行) 易于控制, 可以间歇或连续进行。近年来, 国内外学者均在积极研究堆制修复的原理、工艺、条件、影响因素、降解效果等, 并已将此工艺应用到污染土壤的修复。

3.2.3 泥浆生物反应器法 泥浆生物反应器法是将污染土壤转移至生物反应器, 加水混合成泥浆, 调节适宜的 pH, 同时加入一定量的营养物质和表面活性剂, 底部鼓入空气充氧, 满足微生物所需氧气的同时, 使微生物与污染物充分接触, 加速污染物的降解, 降

解完成后, 过滤脱水。这种方法处理效果好、速度快, 但仅仅适宜于小范围的污染治理。生物反应器一般设置在现场或特定的处理区, 通常为卧鼓型和升降机型, 有间隙式和连续式两种, 但多为间隙式。目前, 生物反应器在国外已进入实际应用, 国内仅在实验室模拟阶段^[25-26]。Robert 等^[27]在生物反应器中使用白腐真菌 (*phanerochate chrysosporium*) 处理多环芳烃污染土壤 36 天后, 土壤中低分子量多环芳烃的降解率为 70%~100%, 高分子量多环芳烃的降解率为 50%~60%。泥浆生物反应器有利于增加土壤微生物与污染物的接触面积, 可使营养物质、电子受体和主要基质均匀分布等优点, 因此, 生物反应器的修复效率较高。但是由于它增加了物料处理、固液分离、水处理以及能量消耗, 泥浆生物反应器的处理成本要比土地耕作、堆制修复等技术要高。

因此, 在选择污染土壤微生物修复技术时, 应充分考虑上述各种修复方法的优缺点, 结合污染物的类型、污染场地、污染状况等因素, 充分发挥每种微生物修复方法的长处, 加以灵活运用。

4 污染土壤的微生物修复问题与展望

从目前来看, 微生物修复是最具发展和应用前景的生物修复技术, 人们在微生物材料、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, 并展示了一些成功的修复案例。但是随着微生物修复范畴及内涵的不断拓展, 特别是针对复杂的污染土壤生态系统, 每种微生物修复技术不仅要克服自身原有的不足, 而且还需进一步认识和解决在修复过程中出现的新现象和新问题, 如新型污染物类型的发现、新微生物资源的评价、污染物的土壤修复过程与生态/健康风险、修复技术的复合机制及高效应用等方面。因此, 污染土壤的微生物修复仍面临着极大的挑战, 任务十分艰巨。鉴此, 今后我们需在以下几个方面展开深入研究。

4.1 微生物资源及其生物降解途径

土壤微生物资源十分丰富, 我们在挖掘现有高效微生物资源的基础上, 仍继续筛选和驯化新的降解菌株; 重点研究典型有机污染物的微生物降解途径、机理与生物降解代谢流; 进一步解析典型污染物降解基因的结构、功能与调控机制, 阐明降解过程的分子生物学机理; 应用系统生物学方法, 开展典型污染物微生物降解的基因组研究, 以揭示其微生物遗传多样性与功能基因; 在全面掌握污染物降解菌生理生化、遗传学特性基础上, 重组构建污染物降解关键酶和功能优化的基因工程菌等。

4.2 污染土壤的修复过程与生态风险评估

加强认识污染土壤修复的微生物代谢化学生物学过程, 如生物修复的关键环节、中间过程、酶学和共代谢机制、根际效应等; 研究土壤中污染物的中间产物、结构、性质及表征, 密切关注生物修复过程中污染物的次生污染问题; 构建污染土壤微生物修复过程的生态毒理及生物学评价方法, 如生态毒理诊断指标、诊断机理以及生态毒理标准体系; 建立生物修复技术相应的法律和法规, 保证修复技术的公众认可与推广实施。

4.3 微生物修复的复合化或组合式修复技术研发

由于土壤复合污染的普遍性、复杂性和特殊性, 复合污染土壤的修复不可能单独依靠一种修复措施就能彻底解决问题, 往往需要多途径、多方式的修复手段; 另一方面, 即使是单一污染土壤, 我们也可以采用多途径、多方式强化微生物修复效果, 以达到彻底修复的目的。目前, 基于微生物的复合修复思路主要有: 微生物-土壤物理改良、微生物-化学活化、微生物-动物、微生物-植物、甚至于采用微生物-植物-动物等多生命体的系统组合, 其中微生物 (特别是菌根真菌)-植物的联合修复近年来深受人们关注^[19, 28-29], 在重金属和有机污染土壤的修复中显示出很好的应用前景。

4.4 微生物修复技术的污染场地应用

污染场地应用是各种生物修复技术研发的最终目的。一般说来, 实验室的微生物修复研究, 因修复条件较为理想化, 被干扰因素极少, 其修复可能很好。如一旦将室内的微生物修复技术放大到现场条件下, 干扰因素复杂, 一系列的新问题可能会出现, 甚至可能会遭致完全否定等现象。因此, 微生物修复技术的场地应用是一项复杂的系统工程, 必须融合环境工程、水利学、环境化学及土壤学等多学科知识, 创造现场的修复条件, 如土地翻耕、农艺措施、添加物质、高效微生物、植物修复, 季节更替等, 构建出一套因地制宜的污染土壤田间修复工程技术。

参考文献:

- [1] 骆永明, 滕应, 过园. 土壤修复—新兴的土壤科学分支学科. 土壤, 2005, 37 (3): 230-235
- [2] 滕应, 黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及其修复研究进展. 土壤与环境, 2002, 11 (1): 85-89
- [3] 沈德中编著. 污染环境的生物修复. 北京: 化学工业出版社, 2002
- [4] Macaskie LE, Dean ACR, Cheethan AK, Jakeman RJB, Skarmulis AJ. Cadmium accumulation by a *citrobacter* sp.: The chemical nature of the accumulated metal precipitate and its location on the bacterial cells. J Gen. Microbiol., 1987, 133: 539-544

- [5] Bargagli R, Baldi F, Mercury and methyl mercury in higher fungi and their relation with the substrata in a cinnabar mining area. *Chemosphere*, 1984, 13(9): 1059-1071
- [6] Hiroki M. Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. *Soil Sci. plant Nutr.*, 1992, 38: 141-147
- [7] 王保军, 杨惠芳. 微生物与重金属的相互作用. *重庆环境科学*, 1996, 18 (1): 35-38
- [8] 陈玉成编. 污染环境生物修复工程. 北京: 化学工业出版社, 2003
- [9] 徐向阳, 任艳红, 黄绚, 郑平. 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
- [10] Mars AE, Kingma J, Kaschabek SR, Reineke W, Janssen DB. 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
- [11] Xun L, Webster CM. A monooxygenase catalyzes sequential dechlorinations of 2,4,6-trichlorophenol by oxidative and hydrolytic reactions. *J. BioI.Chem.*, 2004, 279(8): 6696-6700
- [12] Holliger C, Wohlfarth G, Diekert G. Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEEMS Microbial Rev.*, 1999, 22: 3983-398
- [13] Sun B, Cole JR, Sanfor RA, Tiedje JM. Isolation and characterization of *Desulfovibrqo dechloractivorans* sp.nov., fl marine dechlorinating bacterium growing by coupling the oxidation of acetate to the reductive dechlorination of 2-chlorophenol. *Appl. Environ. MicrobioI.*, 2000, 66: 2408-2413
- [14] Adrian L, Szewzyk U, Wecke J, Grisch H. Bacterial dehalorespiration with chlorinated benzenes. *Nature*, 2000, 408: 580-583
- [15] Bunge M, Adrian L, Kraus A, Görisch H. Reductive dehalogenation of chlorinated dioxins by flu anaerobic bacterium. *Nature*, 2003, 421: 357-360
- [16] Fennell DE, Nijenhuis I, Wilson SF, Zinder SH, Haggblom MM. Dehalococcoid ethenogenes Strain 195 Reductively dechlorinates diverse chlorinated aromatic pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 2004, 38: 2075-2081
- [17] Barbosa AM, Dekker RF, Hardy GE. Veratryl alcohol as an inducer of laccase by an ascomycete, *Botryosphaeria* sp., when screened on the polymeric poly R-478. *Letters in Applied Microbiology*, 1996, 23: 93-96
- [18] Cerniglia CE. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 1992, 3: 351-368
- [19] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 李华, 吴龙华, 邢维芹, 宋静, 曹志洪, 陶澍. 苯并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
- [20] 丁克强, 孙铁珩. 通气对石油污染土壤生物修复的影响. *土壤*, 2001, 33 (4): 185-188
- [21] Hwang S, Cutright TJ. Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil. *Chemosphere*, 2002, 47(9): 891-899
- [22] 李顺鹏, 蒋建东. 农药污染土壤的微生物修复研究进展. *土壤*, 2004, 36 (6): 577-583
- [23] 郑海龙, 陈杰, 邓文靖. 土壤环境中的多氯联苯 (PCBs) 及其修复技术. *土壤*, 2004, 36 (1): 16-20
- [24] Eullis B, Harold P, Kronberg H. Bioremediation of a creosote contaminated site. *Environmental Technology*, 1991, 12: 447-459
- [25] 李培军, 巩宗强, 井欣. 生物反应器法处理 PAHs 污染土壤的研究. *应用生态学报*, 2002, 13 (3): 327-330
- [26] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 邢维芹, 吴龙华, 宋静, 李振高. 利用改进的生物反应器研究不同通气条件下土壤中菲的降解. *土壤学报*, 2004, 41 (2): 245-251
- [27] Robert M, Peter S, Heinrich SJ. Ex-situ process for treating PAH-contaminated soil with *Phanerochaete chrysosporium*. *Environmental Science and Technology*, 1997, 31: 2626-2633
- [28] 王曙光, 林先贵, 尹睿. 接种丛枝菌根 (AM) 真菌对植物 DBP 污染的影响. *应用生态学报*, 2003, 14 (4): 589-592
- [29] 王曙光, 林先贵. 菌根在污染土壤生物修复中的作用. *农村生态环境*, 2001, 17 (1): 56-59

Principles and Techniques of Microbial Remediation of Polluted Soils

TENG Ying^{1,2}, LUO Yong-ming^{1,2}, LI Zhen-gao^{1,2}

(1 *Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China;*

2 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China*)

Abstract: Microbial remediation of soil is an important component of the soil environmental biological remediation technology, and a new biological technique with high potential for development and application in environment protection. A comprehensive review is presented of current researches on and development of microbial remediation of soils contaminated with typical pollutants at home and abroad, based on interaction between soil microorganisms and pollutants. Directed at new characteristics of the soil pollution in China, some new phenomena and new problems in microbial remediation are discussed in order to enrich and develop the category and connotation of microbial remediation of polluted soils.

Key words: Polluted soils, Microorganisms, Principles, Techniques