

DOI: 10.5846/stxb201405010868

李韵诗, 冯冲凌, 吴晓芙, 石润. 重金属污染土壤植物修复中的微生物功能研究进展. 生态学报, 2015, 35(20): - .

Li Y S, Feng C L, Wu X F, Shi R. A review on the functions of microorganisms in the phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(20): - .

重金属污染土壤植物修复中的微生物功能研究进展

李韵诗, 冯冲凌*, 吴晓芙, 石 润

中南林业科技大学 环境科学与工程研究中心, 长沙 410004

摘要:综述了国内外在重金属污染土壤植物-微生物联合修复领域的研究报道,总结了近 5 年的研究实例。植物-微生物联合修复体系具有生物固定与生物去除土壤重金属的两种功能,根际微生物可以菌根、内生菌等方式与根系形成联合体,通过增强植物抗性和优化根际环境,促进根系发展,增强植物吸收和向上转运重金属的能力。建立植物-微生物联合修复体系,可充分发挥植物与微生物作用功能的优势,提高污染土壤的修复效率。增强植物修复体系中微生物功能的重点是深入研究根际微生物、根系和介质载体三者之间复合功能,结合污染土壤类型与植物群落配置的特点筛选扩繁高效菌种与菌群。

关键词:重金属污染土壤; 植物修复; 微生物效应; 植物-微生物复合功能

A review on the functions of microorganisms in the phytoremediation of heavy metal-contaminated soils

LI Yunshi, FENG Chongling*, WU Xiaofu, SHI Run

Institute of Environmental Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: We have reviewed the current literature on plant-microorganism remediation systems for the treatment of heavy metal contaminated soils, including examples of applications developed or advanced in the past five years. In the bioremediation process, the plant-microorganism system performs two functions: metal immobilization and metal removal. Arbuscular mycorrhiza, symbiotic complexes between endophytes and plant root systems, can optimize the micro-environmental conditions for root development and enhance the ability of plants to tolerate metal toxicity, thus promoting both plant growth and metal uptake and transport. Establishment of a plant-microorganism coupling system can amplify the independent effects of the plant and the microorganism, thereby increasing the efficiency of phytoremediation. Investigation of the synergistic effects among plants, microorganisms, and their growth media will be an important topic of future study. The development of new technology requires that particular attention be given to the screening and replication of microorganisms suited to remediation of different types of heavy metal pollution.

Key Words: heavy metal contaminated soil; phytoremediation; microbial effect; integrated plant-microorganism functions

重金属污染在全球范围内受到极大的关注,重金属污染土壤生态修复技术研究已成为多个科技领域的热点和难点^[1-6]。目前,国内外研究与应用最广泛的是植物修复技术,该技术属于原位修复技术,其成本低、环保无污染,植被形成后具有保护表土、减少侵蚀和水土流失的功效,可大面积应用于矿山的复垦、重金属污染

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAC09B03); 国家“十二五”科技惠民计划项目(2012GS430203); 湖南省环境科学与工程重点学科建设项目; 中南林业科技大学研究生科技创新基金

收稿日期:2014-05-01; 修订日期:2014-12-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ddukepet@163.com

场地的植被与景观修复^[7-11]。植物修复可分为狭义和广义修复,狭义上的植物修复是指利用植物的功能去除土壤的重金属,超富集植物的筛选一直是这一领域研究的热点,尽管国内外大多数报道显示抗重金属污染的优势植物具有抗性强、富集浓度高的特点,但受重金属胁迫影响,这些植物也存在适生范围窄、根系扩展深度有限、植株整体生长缓慢、富集总量小、污染土壤修复所需要的时间漫长等不足^[12-15]。而广义上则是指植物修复还具有重建植被、修复景观、改良土壤性质、改善土壤微生态环境等功能,但关于这方面的研究国内外关注较少。

20 世纪 80 年代初,有学者就提出了利用微生物功能治理重金属污染土壤的方法,基本原理是利用微生物代谢功能固定重金属离子或将有毒的重金属离子转化成无毒或低毒价态^[16]。然而,由于利用微生物直接去除土壤重金属的难度大,单一微生物修复技术的应用范围也受到限制。在土壤微生态系统中,植物与根际微生物的作用功能是结合在一起的,因此建立植物-微生物联合修复体系,可充分发挥两者的优势,提高重金属污染土壤的修复效率^[17-19]。国内外已有很多关于重金属污染土壤植物-微生物联合修复研究方面的报道,增强植物修复体系中微生物的功能,已成为发展生物修复技术的一条重要途径。

当前国内外重金属污染土壤的治理有两种不同的途径:一是固定或钝化重金属,将有效态转化为无效态,使土壤重金属的有效浓度降低到无害的水平,从而降低土壤重金属元素的生物毒性,控制重金属进入食物链和污染周边环境^[20-21];二是活化重金属,通过促进生物吸收提高土壤重金属的去除效率,使土壤重金属的总量降低到无害的水平^[22-25]。植物-微生物联合修复体系同时具备上述两种功能,其中植物根系、根际微生物及其代谢产物在控制重金属元素形态转化中发挥重要的作用,而根际微生物的吸收、富集和向地上部分的转移决定土壤重金属的去除效率,其强化功能主要表现在以下三个方面:

(1) 以菌根、内生菌等方式与植物根系形成联合体,提高植物抗重金属毒性的能力,通过增强植物抗性来提高植物存活率和生长速率;

(2) 通过转化重金属形态优化植物根际环境,通过改善植物生存条件来促进植物生长,提高植物的生物量;

(3) 在协同与共生作用下,促进根系发展,增大植物根部吸收量和增强植物向其地上部分转运重金属的能力。

目前,在植物—微生物联合修复体系研究中,有关功能性菌种、微生物解毒机理、增强植物抗性、促进植物生长等方面有一系列报道^[26-29]。但联合修复的理论与机制研究尚有待深入,同时相关的功能菌株的筛选、鉴定与繁殖,菌剂的制备,接种方法与工程应用等技术方面还有大量工作要做。

1 植物—微生物联合修复体系中微生物的作用机制

1.1 微生物自身的解毒机理

利用微生物作用降低土壤重金属毒性是促进植物生长的重要环节之一,其要求微生物自身具有抵抗重金属的毒性或解毒的功能,一些内生和根际微生物通过自身对重金属的吸收富集减少植物对重金属的积累。有学者指出,微生物的生物吸附机制是植物降低金属吸收的一个重要原因^[30-32]。

微生物对重金属的吸收分两步进行:第一步与代谢无关,为生物吸附过程,进行较快,第二步是生物积累过程,和细胞代谢直接相关,进行较迟缓,是微生物吸收、转化和利用重金属离子的主要途径。在第一步微生物吸附过程中,金属离子可通过配位、螯合与离子交换、物理吸附及微沉淀等作用中的一种或几种复合至细胞表面。生物吸附的机理主要发生的是细胞壁上的官能团—COOH、—NH₂、—PO₄³⁻、—OH 等与金属离子的结合或以其他方式的配位^[33]。熊芬等^[34]研究发现烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)胞外聚合物(EPS)中的羟基、羧基和 C—O—C 等基团是与 Pb²⁺结合的主要基团。潘响亮^[35]等对 SRB 混合菌群分泌的 EPS 进行 IR 分析表明,EPS 吸附 Zn²⁺起主要作用的官能团是多聚糖 C—O—C,羧基和脂类官能团。

而微生物累积过程又可分为:(1) 胞外富集、沉淀;(2) 细胞表面吸附或络合;(3) 胞内富集。其中细胞

表面吸附或络合可存在于死、活微生物中,而胞内和胞外重金属元素的富集,则往往要求微生物具有活性。因此,微生物吸附、转化和吸收重金属通常受多种机制控制。

当重金属被吸收运送至细胞内后,微生物可通过区域化作用将其放置于代谢不活跃的区域(如液泡、线粒体)封闭起来,再或将金属离子与微生物体内合成的热稳定蛋白(金属硫蛋白 MTs、谷胱甘肽 GSH、植物凝集素 PCs、不稳定硫化物等)结合,将其转变成为低毒的形态^[36]。生物积累过程与细胞代谢直接相关,因为生物的生命活动需要有金属离子的参与,细胞在运输这些金属离子时,某些重金属离子会竞争运输吸附位点。因此很多影响细胞生物活性的因素(如 pH、温度、生物体对营养物质的需求量以及重金属离子浓度水平等)均会对微生物的解毒功能产生显著的影响。

1.2 降低重金属对植物的毒害作用

在重金属复合污染下,植物生长同时受到多种重金属的抑制,而富集植物对重金属的吸收具有元素专一性,与此不同的是,许多细菌可以同时具有多种重金属耐性,研究证实内生细菌能同时耐受多种重金属胁迫,利用其可降低复合重金属污染对植物的毒害。Wei 等^[37]研究显示,野生豆类根部的根瘤菌土壤杆菌同时对铅、铜、镉、锌具有抗性,并且可促进植物生长。黄文^[38]等筛选出一株能产生物表面活性剂的根际细菌 LKS06,其在促进龙葵生长的同时显著地提高了龙葵对镉的富集能力,根和地上部镉的总累积量最高的分别比对照增加了 36.7%和 42.4%,并且证实该菌株对多种重金属(Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+})也有很高的耐受性。然而目前,内生细菌以及根际细菌提高植物重金属抗性及其解毒机理的相关研究报道不多。因此不同菌类如何协同植物防御重金属毒害可作为今后的研究侧重点。

并且微生物能在重金属胁迫下诱导植物抗氧化防御系统、金属电阻/封存系统的启动,以抵御有氧胁迫对植物的伤害,抗氧化防御系统能力的增强能提高植物对重金属的耐受性,以此降低重金属对植物的毒害。重金属胁迫会造成植物体内活性氧(ROS)的累积,打破活性氧在植物体内的平衡,从而引起膜脂的过氧化伤害,重金属富集植物通过产生抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、超氧化物歧化酶 CAT、过氧化物酶 POX、抗坏血酸过氧化物酶 APX、谷胱甘肽还原酶 GR 等)形成高效的抗氧化防御系统进行自我保护。Zhang 等^[39]研究发现内生细菌可提高植株抗氧化酶系统的防御能力,能够有效抵御重金属引起的氧化胁迫。此外,菌根共生体也可以通过影响宿主植物体内某些酶或激素(谷胱甘肽 S-转移酶 GST)的活性,进而启动抗氧化系统;或合成某种应激蛋白或植物络合素(重金属转运蛋白、MTs、热休克蛋白 Hsp90 等),以此与重金属螯合,进而抵御宿主植物体内的氧化反应^[40,41]。还有研究发现,植物内生菌具有金属电阻/封存系统,在重金属胁迫下,该系统可降低植物地上部重金属含量,抑制重金属的移动性^[19,42]。

此外,微生物作用下某些重金属的直接减量或通过价态变化减毒是降低重金属对植物毒害作用的关键途径。微生物通过“排斥”限制对金属的吸收或降低吸收量或增加排出量达到对重金属的直接减量,例如 Pb 的毒性削减机理就包括:细胞壁和胞外多糖的限制、细胞排斥、不溶性磷酸盐的封存以及细胞内和细胞外的沉淀(如特定蛋白质和铁载体对 Pb 的结合)^[43],这归于微生物自身及其代谢产物的贡献。对变价金属而言,微生物通过氧化/还原作用将有毒金属离子转化为稳定无毒态,实际上是降低了植物对重金属的吸收,以此增强植物对重金属的耐受性,如微生物中的汞还原酶催化还原离子汞为元素汞,通过价态变化减汞毒,使形成的 Hg 从环境中挥发出去或以沉淀方式存在,消除有机汞对植物的威胁^[44]。再如土壤中无处不在的 Cr(VI)还原微生物通过酶促反应或存在其它还原性化合物作为电子供体的条件下,调解异化还原可溶且有毒的 Cr(VI)为不可溶无毒的 Cr(III)^[45]。

微生物与植物共生时,降低了植物对重金属的吸收,阻隔了其向地上部转移,从而间接地提高了植物的抗性,植物抗性的提高是有效降低重金属对植物毒害作用的途径之一。在对菌根真菌的研究中发现,真菌菌丝外表面(松结合态粘液 LAS 对重金属有固定能力、真菌分泌物如摩西球囊霉等螯合重金属)、真菌细胞壁和原生质膜组分(壳多糖、黑色素、不透明颗粒、纤维素及其衍生物等成分均能与重金属结合,其中壳多糖能钝化固定 90%的外加重金属)以及真菌体内物质(有机、无机酸根离子、金属硫蛋白 MTs、液泡等)是降低重金属毒

性的三道屏障,基于这三道屏障的存在,金属可以大量积累在植物根部或根器官的真菌组织中,从而有利于排斥金属进入地上部,降低重金属对植物地上部的毒害^[31,46-47]。有学者指出菌根真菌促进植物对营养元素的吸收使得植物组织生长超过重金属积累增加所引起的“稀释效应”是植物减弱重金属毒害的原因之一^[48,49],但并不能完全解释重金属含量的下降,其机理有待进一步明确。

1.3 改变重金属形态与价态,增加植物对重金属吸收

植物修复效率在很大程度上依赖于重金属的生物有效性,因此根际细菌、内生菌以及菌根真菌作用改变重金属形态与价态,活化土壤重金属的功能可增强植物对重金属的吸收^[50]。根际微生物的代谢可把一些大分子化合物转化为小分子化合物,这些转化产物如有机酸、铁载体和生物表面活性剂等对植物根际的重金属有显著的活化作用,微生物分泌的螯合物还可与植物体内重金属结合,改变重金属在植物体内的存在形态^[51],促进重金属向地上部分转运。

(1) 有机酸:作为重金属元素的配基,有机酸与重金属配位结合,参与重金属元素的吸收、运输、积累等过程,有机酸的释放亦可酸化土壤微环境,使得难溶性矿物溶解,同时还能促进土壤中重金属的溶解。Siegel 等^[52]报道,真菌可以通过分泌氨基酸、有机酸及其他代谢产物,溶解重金属化合物和含重金属的矿物,提高金属元素的有效性,从而促进植物对重金属的吸收。Li 等^[53]研究超富集植物东南景天的根际细菌时发现,接种耐 Cd/Zn 的细菌后,土壤中水溶态 Zn 和 Cd 浓度与未接种对照组相比显著增加,分析得出,重金属水溶态的增加与有机酸如甲酸、乙酸、酒石酸、琥珀酸和草酸的量相关,而有机酸的不同效应决定了有机酸产生菌可以应用于不同的植物修复技术中。另一方面,有机酸对植物重金属吸收的影响报道很不一致,植物体内的重金属含量或增加^[54],或降低^[55],或没有影响^[56,57],相应机理也有一定探讨,但不够系统全面,有待进一步研究。

(2) 铁载体:在植物根际铁离子缺乏时,大多数植物相关细菌和真菌能产生铁载体。Machuca 等^[58]从辐射松子实体中分离出来的外生菌根真菌 *Scleroderma verrucosum*, *Suillus luteus* 和 *Rhizopogon luteolus* 能产生胆酸盐铁载体和异羟肟酸铁载体。铁载体能够与重金属(Al、Cd、Cu、Ga、In、Pb、Zn 等)发生络合反应,其在重金属植物修复中发挥重要的作用。Dimkpa 等^[59]人发现链霉菌 *tendae* F4 产生的铁载体能显著提高向日葵对镉的吸收。但一些研究也表明,铁载体的产生并不总是促进植物重金属吸收量的增加,例如, Tank 等^[60]人发现接种镍抗性细菌能促进植物的生长,但是降低了植物对镍的吸收量。目前,铁载体辅助植物吸附重金属过程的机制尚不清楚,因此,出现的不同研究结果可能是由于植物吸附重金属的能力、植物种类、根系活性以及土壤养分状况的差异所导致的。

(3) 生物表面活性剂:在土壤界面,微生物产生的生物表面活性剂与重金属形成配合物,从土壤基质中解析重金属,增加土壤中植物可利用的重金属形态。Miller^[61]提出生物表面活性剂可能通过 2 种方式促进土壤中重金属的解吸,一是与土壤液相中的游离金属离子络合;二是通过降低界面张力使土壤中重金属离子与表面活性剂直接接触。大量研究表明,微生物分泌的生物表面活性剂在促进土壤重金属的释放以及提高植物修复潜力方面有显著的作用^[62-64]。Sheng 等^[65]将能够产生表面活性物质的菌株 J119 接种到重金属污染土壤进行盆栽实验,结果表明玉米、高粱、油菜和番茄地上部的重金属浓度都有一定程度的增加,且不同植物增加的幅度有差异。目前存在的问题是,在实验室条件下已报告有前景的结果,缺少野外条件下微生物产生的生物表面活性剂强化植物修复效率的证据支持。

(4) 氧化/还原作用:根际土壤微生物的活动使根际土壤的氧化-还原电位明显低于非根际土壤。氧化-还原电位的下降,土壤中变价金属氧化或者还原,提高了它们的有效性,以此促进植物对金属的吸收,这一点在植物萃取方面有重要意义。例如, Shi 等^[66]研究发现硫氧化细菌通过降低根际土壤 pH 来转化还原硫,以此促进金属铜的氧化,实现植物组织对铜的大量吸收。微生物通过氧化还原作用也可固定重金属,将有毒金属离子转化为稳定无毒的金属离子,从而减弱重金属对植物的毒害,达到植物固定的效果^[67]。

综上所述,土壤中的重金属得到活化,提高了生物可利用浓度,这一特性在植物修复中有一定的应用潜力。

1.4 微生物促进植物生长的机理

微生物促进植物生长的功能通常分为直接促进作用和间接促进作用,通过改善植物营养加速植物生长速率、增加植物生物量以及通过抑制病菌感染等改善植物对重金属的同化能力与容量来提高植物修复效率。

(1)直接促进作用:内生菌与根际细菌在促进植物生长,抵抗重金属压力等方面具有相似的机理,包括植物生长调节剂如细胞分裂素、赤霉素、生长素 IAA(可刺激细胞分裂、伸长,促进植物根系的生长、分枝,影响植物顶端优势、不定根和侧根的发展)和抑制乙烯的 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶(ACCD)的产生^[68],固氮以及增强植物对不可用营养物质如磷等矿物元素(对矿质元素的吸收可以提高植物的光合效率)的吸收^[69,70],通过促进植物生长,增大植物生物量,进而使植物从土壤中吸收更多的重金属。同样,菌根真菌也可以通过菌丝的大表面积获取磷等微量元素和水提高宿主植物营养和生长状况,其对其他营养物质(N, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn)的获取能力也已被证实。此外,微生物产生的铁载体和有机酸在增溶磷和不溶性铁方面的研究也有报道^[71,72]。

(2)间接促进作用:根际细菌、内生菌以及菌根真菌具有防病促生的潜能^[73,74],通过营养与空间竞争抑制植物病原菌的生长和活性,刺激植物分泌特异性酶如水解酶、激素、抗生素,改变植物根系形态^[75],调节根系水力导度、影响根系水分吸收^[76]等间接地促进植物在恶劣环境下的生长,提高植物吸附重金属的量。

2 根际微生物强化植物修复功能的研究与实践

植物在重金属污染土壤生长的过程中往往伴生有数量庞大、种类繁多的能耐受高浓度重金属的微生物,其对植物以及土壤本身都有益处。与植物修复相关的微生物中,根际细菌值得特别注意,国内外学者对植物根际细菌的研究报道也甚多,因为它们可以直接通过改变土壤 pH、释放螯合剂以及发生氧化/还原反应改变重金属的生物有效性来强化植物修复过程^[77,78]。但考虑到微生物-植物联合修复技术的应用潜力,植物内生细菌更优于根际细菌,因为地球上几乎所有植物体内都寄生了一种或多种内生细菌,并且内生菌与其宿主植物的紧密相互作用能更有效地提高植物修复效率^[79]。但是目前,在运用内生细菌强化植物修复重金属污染土壤方面还处于研究探讨阶段,目前的研究显示,内生细菌在促进植物生长,抵抗重金属压力等方面与根际微生物具有相似的机理,除了通过分泌相关的酶或代谢物质促进氧化还原反应来转化重金属形态以及影响重金属在植物体内的转运和积累外,还可以通过络合反应、吸附、包裹和直接吸收利用来降低植物根系环境中或者植物体内的重金属有效水平,这可能是转化 Pb、Cd、Zn 的主要途径。菌根真菌是微生物植物共生系统中研究时间最久的,其对强化超富集植物在重金属污染土壤方面有重要的意义^[80-81]。研究发现生长在重金属污染土壤中的大多数超积累植物普遍与重金属耐性的菌根真菌伴生,表明这些真菌在进化的过程中已逐渐耐受重金属毒性,并且与植物产生协同效应,这基于菌根共生体形成的物理性防御体系(三道屏障)、产生的生化拮抗物质(球囊霉素相关蛋白 GRSP、重金属诱导蛋白、影响防御酶活性)以及其通过改善宿主植物营养状况、改变植物根系形态、改变根际环境的理化状况等途径调控植物的生理代谢。总的来说,目前,关于微生物对植物重金属抗性与解毒机理的研究不多,主要集中在运用生理化学指标(包括植物激素、有机酸等)来阐明其对重金属抗性的贡献,在分子水平上对其抗性机制的研究已有探讨但不够系统全面,研究表明细菌质粒中含有 Hg^{2+} , Cd^{2+} , AsO_4^{3-} , CrO_4^{2-} , TeO_3^{2-} , Cu^{2+} , Ag^+ , Co^{2+} , Pb^{2+} 等抗性系统的决定基因,如在汞抗性系统中含有汞还原酶基因,该还原酶可以转换有毒汞离子为毒性较小的挥发性金属汞^[82]。随着研究的深入,有望探讨深层次的机理,为发展新的技术奠定理论基础。表 1 总结了国内外近 5 年来微生物强化植物修复功能的部分研究实例。

3 展望与建议

发展植物-微生物联合修复技术,通过强化联合体系中的微生物功能来提高重金属污染土壤植物修复的效率,不仅具有重要的理论与实践意义,还具有广阔的市场推广应用前景。植物-微生物联合修复领域的研

究有两个重要的方面,一是深入理论机制的研究,为发展技术提供理论依据与指导;二是加强技术产品的开发,为工程实践提供高效、经济、适用的方法。基于植物-微生物联合修复体系复合功能的特点,有以下几点建议:

表 1 微生物强化植物修复功能研究的实例

Table 1 Recent examples of phytoremediation promotion by microbes

功能菌株 Microorganism/s	供试植物 Plant/s	机理 Mechanism	微生物对重金属胁迫下植物吸收重金属的影响 Effects of microorganisms on heavy metals uptake by plants	文献来源 Reference
根际细菌				
<i>Paecilomyces lilacinus</i> NH1	龙葵 <i>S. nigrum</i> L	抗性菌株与柠檬酸的协同作用以及增强植物的抗氧化防御能力	植物不同器官对 Cd 的吸收量增加了 30%	[83]
<i>Agrobacterium radiobacter</i> D14	美洲黑杨 <i>Populus deltoids</i>	产 IAA 和铁载体	接种后,根、茎、叶中的 As 浓度相应提高了 229%,113%,291%,并增大株高和根、茎、叶的干重,增加叶绿素和可溶性糖的含量,促进 SOD 和 POX 的活性,降低丙二醛的含量	[84]
<i>Bacillus</i> spp.	油菜 <i>Brassica campestris</i> L. 番茄 <i>Lycopersicum esculentum</i> L.	自身对 Cr、Zn、Pb 的高抗性,分泌有机酸	溶解 ZnO 和 PbCl ₂	[85]
<i>Streptomyces</i> sp.MC1	玉米 <i>Z. mays</i>	还原作用:将铬(VI)还原为 Cr(III)	促进了玉米生物量的增加(57%),Cr 积累及生物有效性 Cr 分别最多减少了 46% 和 96%	[86]
菌根菌				
<i>AMFAMF</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	咖啡 <i>Coffea arabica</i> 白三叶 <i>Trifolium repens</i>	三道屏障之一:菌丝对金属元素的摄取,对 P 的吸收 产 IAA,微生物自身的生物吸附机制、促进植物对养分(N、P、K)的吸收以及细菌和酵母菌与菌根真菌的协同作用	促进植物的生长,抑制金属向芽的转运 抗性微生物的接种促进植物在重金属复合污染下的耐受能力,并提高植物生物量	[72,87]
<i>AMF</i>	牡竹 <i>Dendrocalamus strictus</i>	促进植物营对养分(P、K、Ca、Mg)的吸收,塔宾曲霉 <i>Aspergillus tubingensis</i> 与 AMF 的协同效应	降低植物 Al(50%)和 Fe 的含量	[32]
<i>Scleroderma citrinum</i> , <i>Amanitamuscaria and</i> <i>Lactarius rufus</i>	樟子松 <i>Pinus sylvestris</i> L.	微生物自身的生物吸附机制	减少 Zn、Cd、Pb 从樟子松根部到叶的转运	[88]
<i>AMF</i>	毛蔓豆 <i>Calopogonium mucunoides</i>	影响防御酶活性,促进 ROS 还原,并促进植物对养分(P、S、Fe)吸收	增强植物对铅的耐受性,增大植物生物量,促进植物的结瘤	[89]
内生细菌				
<i>Pseudomonas fluorescens</i> G10; <i>Microbacterium</i> sp. G16	油菜 <i>Oilseed rape</i>	分泌有机酸	增加土壤中水溶态 Pb 的含量	[51]
<i>cellulosimicrobium Cellulans KUCr3</i>	青辣椒 <i>Green chilli</i>	还原作用:将铬(VI)还原为 Cr(III),产 IAA 和速效 P	促进植物生长并且抑制植物对 Cr 的吸收	[90]
<i>LKR01</i> , <i>LSE02</i> , <i>LSE03</i> , <i>LSE04</i>	龙葵 <i>S. nigrum</i> L.	产 ACCD,铁载体,IAA	接种后,植物根干重从 40% 增加到 150%,地上部干重从 64% 增加到 100%,根对 Cd 的吸收量从 66% 增加到 135%,地上部对 Cd 的吸收量从 22% 增加到 64%	[91]
<i>Serratia</i> sp.MSMC541	羽扇豆 <i>Lupinus luteus</i>	对多种重金属的耐性(As、Cd、Cu、Pb、Zn)以及菌种细胞壁对重金属的大量吸附	减少 As、Cd、Cu 从羽扇豆根部向豆芽的转运(10%—50%),增大植物生物量(10%—40%)	[92]

(1)理论机制研究方面:微生物菌种筛选、鉴定、繁殖、菌剂生产等方面的技术已经很成熟,因此,在理论机制研究方面,除了继续深入了解菌种的生物和生态学特性功能机制外,还要进一步加强菌种、植物根系、介质载体三者之间复合功能的研究,包括考察不同植物种类及群落根际微生物特点,根系生长对接微生物生长繁殖和生物学特性及功能的影响,根际微生物、内生菌、菌根等与宿主的关系以及微生物增强植物抗性与促进植物吸收的过程原理等。

(2)适用技术开发方面:重金属污染土壤类型(包括土壤质地、理化性质、重金属种类与污染程度等)很多,其所处的地理环境条件(包括气候变化导致水、温度等条件的变化)差异也很大,另外,大多数采矿和冶炼污染场地是多种重金属元素共存的复合污染,用以场地修复的植物也通常不是单一的树种,因此技术产品的研发要有针对性,要结合污染土壤类型特点以及根据目的性和同植物的匹配性筛选扩繁高效菌种或高效微生物群,并建立用于植物-微生物联合修复的微生物资源库,同时结合植物群落配置开发出适用的植物-微生物联合修复技术,以使其向技术化发展。

(3)技术产品安全性问题:筛选扩繁的抗性菌种具有很强的抵抗重金属毒性的能力,因此在应用中应当注重菌种的安全性与可控性,重金属污染土壤治理的目标之一是保护周边生态环境尤其是水域,生态工程技术的开发应用必须综合考虑环境的生态安全问题。

参考文献(References):

- [1] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展. 生态学报, 2001, 21(7):1196-1203.
- [2] Brooks R R. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals. Wallingford: CAB International, 1998:1-2.
- [3] Baker A J M, Proctor J. The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. Plant Systematics and Evolution, 1990, 173(1/2):91-108.
- [4] Ingrouille M J, Smirnov N. *Thlaspi caerulescens* J. & C. presl. (*T. alpestre* L.) in Britain. New Phytologist, 1986, 102(1):219-233.
- [5] Kumar P B A N, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. Phytoextraction; the use of plants to remove heavy metals from soils. Environmental Science and Technology, 1995, 29(5):1232-1238.
- [6] Dushenkov V, Kumar P B A N, Motto H, Raskin I. Rhizofiltration; The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. Environmental Science and Technology, 1995, 29(5):1239-1245.
- [7] Watanabe M E. Phytoremediation on the brink of commercialization. Environmental Science and Technology, 1997, 31(4):182A-186A.
- [8] Salt D E, Blaylock M, Kumar N P B A, Dushenkov V, Ensley B D, Chet I, Raskin I. Phytoremediation; a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Biotechnology, 1995, 13(5):468-474.
- [9] 刘庆, 吴晓芙, 陈永华, 郭丹丹. 铅锌矿区的植物修复研究进展. 环境科学与管理, 2012, 37(5):110-114.
- [10] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复. 土壤, 1999, 31(5):261-265, 280-280.
- [11] 欧阳林男, 吴晓芙, 郭丹丹, 陈永华. 锰污染土壤修复的植物筛选与改良效应. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(12):7-11.
- [12] 邓华, 李明顺, 陈英旭. 超富集植物短毛藜对锰的富集特征. 生态学报, 2009, 29(10):5450-5454.
- [13] Ma Y, Prasad M N V, Rajkumar M, Freitas H. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advances, 2011, 29(2):248-258.
- [14] Pilon-Smits E. Phytoremediation. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56:15-39.
- [15] Takenaka C, Kobayashi M, Kanaya S. Accumulation of cadmium and zinc in *Evodiopanax innovans*. Environmental Geochemistry and Health, 2009, 31(6):609-615.
- [16] Channugathas P, Bollag J. Microbial role in immobilization and subsequent mobilization of cadmium in soil suspensions. Soil Science Society of America Journal, 1987, 51:1184-1191.
- [17] Rajkumar M, Ae N, Prasad M N V, Freitas H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends in Biotechnology, 2010, 28(3):142-149.
- [18] Glick B R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechnology Advances, 2010, 28(3):367-374.
- [19] Weyens N, van der Lelie D, Taghavi S, Vangronsveld J. Phytoremediation; plant-endophyte partnerships take the challenge. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(2):248-254.
- [20] 凌薇薇, 吴晓芙, 陈永华, 刘庆, 郭丹丹. 除锰微生物的筛选及其除锰特性研究. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(6):152-156.
- [21] 田卫东. 重金属污染土壤的生态修复原理. 科协论坛, 2008, (4):100-101.

- [22] Siegel S M, Keller P, Siegel B Z, Galun E. Metals Speciation, Separation and Recovery. Chicago:Kluwer Academic Publishers, 1986:77-94.
- [23] Zeng M, Liao B H, Lei M, Zhang Y, Zeng Q R, Ouyang B. Arsenic removal from contaminated soil using phosphoric acid and phosphate. Journal of Environmental Science, 2008, 20(1):75-80.
- [24] 曾敏, 廖柏寒, 张永, 雷鸣, 曾清如, 周航. 几种酸和盐对 As 污染土壤的化学萃取修复. 水土保持学报, 2009, 23(3):69-73.
- [25] 吴双桃. 镉污染土壤治理的研究进展. 广东化工, 2005, 32(4):40-41, 50-50.
- [26] Compant S, Clément C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology Biochemistry, 2010, 42(5):669-678.
- [27] Leung H M, Ye Z H, Wong M H. Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils. Environmental Pollution, 2006, 139(1):1-8.
- [28] Abou-Shanab R A, Ghanem K, Ghanem N, Al-Kolaibe A. The role of bacteria on heavy-metal extraction and uptake by plants growing on multi-metal-contaminated soils. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2008, 24(2):253-262.
- [29] Chen X, Wu C H, Tang J J, Hu S J. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. Chemosphere, 2005, 60(5):665-671.
- [30] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sa T. Metal tolerating methylophilic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Chemosphere, 2007, 69(2):220-228.
- [31] Kuffner M, De M S, Puschenreiter M, Fallmann K, Wieshammer G, Gorfer M, Strauss J, Rivelli A R, Sessitsch A. Culturable bacteria from Zn- and Cd-accumulating *Salix caprea* with differential effects on plant growth and heavy metal availability. Journal of Applied Microbiology, 2010, 108(4):1471-1484.
- [32] Babu A G, Reddy M S. Dual inoculation of arbuscular mycorrhizal and phosphate solubilizing fungi contributes in sustainable maintenance of plant health in fly ash ponds. Water, Air and Soil Pollution, 2011, 219(1/4):3-10.
- [33] 陈亚刚, 陈雪梅, 张玉刚, 龙新宪. 微生物抗重金属的生理机制. 生物技术通报, 2009, (10):60-65.
- [34] 熊芬, 胡勇有, 银玉容. 烟曲霉胞外聚合物对 Pb^{2+} 的吸附特性. 环境科学学报, 2009, 29(11):2289-2294.
- [35] 潘响亮, 王建龙, 张道勇, 王凡. 硫酸盐还原菌混合菌群胞外聚合物对 Zn^{2+} 的吸附和机理. 环境科学研究, 2005, 18(6):53-55.
- [36] Rai U N, Dubey S, Shukla O P, Dwivedi S, Tripathi R D. Screening and identification of early warning algal species for metal contamination in fresh water bodies polluted from point and non-point sources. Environmental Monitoring Assessment, 2008, 144(1/3):469-481.
- [37] Wei G H, Fan L M, Zhu W F, Fu Y Y, Yu J F, Tang M. Isolation and characterization of the heavy metal resistant bacteria CCNWS33-2 isolated from root nodule of *Lespedeza cuneata* in gold mine tailings in China. Journal of Hazardous Materials, 2009, 162(1):50-56.
- [38] 黄文. 产表面活性剂根际菌协同龙葵修复镉污染土壤. 环境科学与技术, 2011, 34(10):48-52.
- [39] Zhang X X, Li C J, Nan Z B. Effects of cadmium stress on growth and anti-oxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*. Hazardous Materials, 2010, 175(1/3):703-709.
- [40] Hildebrandt U, Regvar M, Bothe H. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. Phytochemistry, 2007, 68(1):139-146.
- [41] Ouziad F, Hildebrandt U, Schmelzer E, Bothe H. Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(6):634-649.
- [42] Lodewyckx C, Taghavi S, Mergeay M, Vangronsveld J, Clijsters H, van der Lelie D. The effect of recombinant heavy metal-resistant endophytic bacteria on heavy metal uptake by their host plant. International Journal of Phytoremediation, 2001, 3(2):173-178.
- [43] Jaroslwiecka A, Piotrowska-Seget Z. Lead resistance in micro-organisms. Microbiology, 2014, 160(Pt1):12-25.
- [44] Aiking H, Govers H, van't Riet J. Detoxification of mercury, cadmium, and lead in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 50(5):1262-1267.
- [45] Kamaludeen S P B, Megharaj M, Juhasz A L, Sethunathan N, Naidu R. Chromium-microorganism interactions in soils: remediation implications. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 178:93-164.
- [46] 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. 土壤, 2003, 35(5):370-377.
- [47] 罗巧玉, 王晓娟, 林双双, 李媛媛, 孙莉, 金樑. AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理. 生态学报, 2013, 33(13):3898-3906.
- [48] Orłowska E, Przybyłowicz W, Orłowski D, Turnau K, Mesjasz-Przybyłowicz J. The effect of mycorrhiza on the growth and elemental composition of Mi-hyperaccumulating plant *Berkheya coddii* Roessler. Environmental Pollution, 2011, 159(12):3730-3738.
- [49] Chen B D, Zhu Y G, Duan J, Xiao X Y, Smith S E. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and metal uptake by four plant species in copper mine tailings. Environmental Pollution, 2007, 147(2):374-380.
- [50] Sun R B, Sheng X F, Li Y, He L Y. Phyto-accumulation of heavy metals and characteristics of rhizosphere microbes in heavy metal contaminated soils Qixia, Nanjing. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(5):1013-1020.

- [51] Sheng X F, Xia J J, Jiang C Y, He L Y, Qian M. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3):1164-1170.
- [52] Patterson J W, Passino R. *Metals Speciation, Separation, and Recovery*. Chelsea, Mich: Lewis Publishers, 1986:437-465.
- [53] Li W C, Ye Z H, Wong M H. Metal mobilization and production of short-chain organic acids by rhizosphere bacteria associated with a Cd/Zn hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*. *Plant and Soil*, 2010, 326(1/2):453-467.
- [54] Arwidsson Z, Allard B. Remediation of metal contaminated soil by organic metabolites from fungi II-Metal Redistribution. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2010, 207(1/4):5-18.
- [55] de la Fuente J M, Ramirez-Rodriguez V, Cabrera-Ponce J L, Herrera-Estrella L. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science*, 1997, 276(5318):1566-1568.
- [56] Braud A, Jézéquel K, Vieille E, Tritter A, Lebeau T. Changes in extractability of Cr and Pb in a polycontaminated soil after bioaugmentation with microbial producers of biosurfactants, organic acids and siderophores. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2006, 6(3/4):261-279.
- [57] Evangelou M W H, Ebel M, Schaeffer A. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. *Chemosphere*, 2006, 63(6):996-1004.
- [58] Machuca A, Pereira G, Aguiar A, Milagres A M F. Metal-chelating compounds produced by ectomycorrhizal fungi collected from pine plantations. *Letter in Applied Microbiology*, 2007, 44(1):7-12.
- [59] Dimkpa C O, Merten D, Svatoš A, Büchel G, Kothe E. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(1):154-162.
- [60] Tank N, Saraf M. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR. *Journal of Basic Microbiology*, 2009, 49(2):195-204.
- [61] Miller R M. Biosurfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils. *Environmental Health Perspectives*, 1995, 103(S1):59-62.
- [62] Juwarkar A A, Nair A, Dubey K V, Singh S K, Devotta S. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils. *Chemosphere*, 2007, 68(10):1996-2002.
- [63] Torrens J L, Herman D C, Miller-Maier R M. Biosurfactant (rhamnolipid) sorption and the impact on rhamnolipid-facilitated Removal of cadmium from various soils under saturated flow conditions. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32(6):776-781.
- [64] Venkatesh N M, Vedaraman N. Remediation of soil contaminated with copper using rhamnolipids produced from *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 2297 using waste frying rice bran oil. *Annals of Microbiology*, 2012, 62(1):85-91.
- [65] Sheng X F, He L Y, Wang Q Y, Ye H S, Jiang C Y. Effects of inoculation of biosurfactant-producing *Bacillus* sp. J119 on plant growth and cadmium uptake in a cadmium-amended soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 155(1/2):17-22.
- [66] Shi J Y, Lin H R, Yuan X F, Chen X C, Shen C F, Chen Y X. Enhancement of copper availability and microbial community changes in rice rhizospheres affected by sulfur. *Molecules*, 2011, 16(2):1409-1417.
- [67] Di Gregorio S, Lampis S, Vallini G. Selenite precipitation by a rhizospheric strain of *Stenotrophomonas* sp. isolated from the root system of *Astragalus bisulcatus*: a biotechnological perspective. *Environment International*, 2005, 31(2):233-241.
- [68] Cavalca L, Zanchi R, Corsini A, Colombo M, Romagnoli C, Canzi E, Andreoni V. Arsenic-resistant bacteria associated with roots of the wild *Cirsium arvense* (L.) plant from an arsenic polluted soil, and screening of potential plant growth-promoting characteristics. *Systematic and Applied Microbiology*, 2010, 33(3):154-164.
- [69] de Andrade S A L, da Silveira A P D, Jorge R A, de Abreu M F. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation*, 2008, 10(1):1-13.
- [70] Sadeque Ahmed F R, Killham K, Alexander I. Influences of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and nutrition of lentil irrigated with arsenic contaminated water. *Plant and Soil*, 2006, 283(1/2):33-41.
- [71] Ma Y, Rajkumar M, Vicente J A, Freitas H. Inoculation of Ni-resistant plant growth promoting bacterium *Psychrobacter* sp. strain SRS8 for the improvement of nickel phytoextraction by energy crops. *International Journal of Phytoremediation*, 2010, 13(2):126-139.
- [72] Andrade S A L, Silveira A P D, Mazzafera P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of coffee arabica seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(22):5381-5391.
- [73] 石晶盈, 陈维信, 刘爱媛. 植物内生菌及其防治植物病害的研究进展. *生态学报*, 2006, 26(7):2395-2401.
- [74] 李敏, 刘润进. 蔬菜作物菌根研究新进展. *中国农学通报*, 2000, 16(6):1-4.
- [75] Solís-Domínguez F A, Valentín-Vargas A, Chorover J, Maier R M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead / zinc mine tailings. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(6):1009-1016.
- [76] Wu Q S, Zou Y N. Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. *Plant, Soil and Environment*, 2009, 55(10):436-442.

- [77] Khan M S, Zaidi A, Wani P A, Oves M. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils; A review // Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants. Netherlands; Springer, 2010, 1:319-350.
- [78] Wenzel W W. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. Plant and Soil, 2009, 321(1/2):385-408.
- [79] Li H Y, Wei D Q, Shen M, Zhou Z P. Endophytes and their role in phytoremediation. Fungal Diversity, 2012, 54(1):11-18.
- [80] Gherghel F, Krause K. Role of mycorrhiza in re-forestation at heavy metal-contaminated sites. Bio-Geo Interactions in Metal-contaminated Soils; Soil Biology, 2012, 31:183-199.
- [81] Sepehri M, Khodaverdiloo H, Zarei M. Fungi and their role in phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. Soil Biology, 2013, 32:313-345.
- [82] Chien C C, Huang C H, Lin Y W. Characterization of a heavy metal translocating P-Type ATPase gene from an environmental heavy metal resistance *Enterobacter* sp. isolate. Applied Biochemistry Biotechnology, 2013, 169(6):1837-1846.
- [83] Gao Y, Miao C Y, Mao L, Zhou P, Jin Z G, Shi W J. Improvement of phytoextraction and antioxidative defense in *Solanum nigrum* L. under cadmium stress by application of cadmium-resistant strain and citric acid. Hazardous Materials, 2010, 181(1/3):771-777.
- [84] Wang Q, Xiong D, Zhao P, Yu X, Tu B, Wang G. Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05-17. Journal of Applied Microbiology, 2011, 111(5):1065-1074.
- [85] Wani P A, Khan M S, Zaidi A. Chromium reduction, plant growth-promoting potentials, and metal solubilization by *Bacillus* sp. isolated from alluvial soil. Current Microbiology, 2007, 54(3):237-243.
- [86] Poltí M A, Atjián M C, Amoroso M J, Abate C M. Soil chromium bioremediation; Synergic activity of actinobacteria and plants. International Biodeterioration and Biodegradation, 2011, 65(8):1175-1181.
- [87] Azcón R, Perálvarez M D C, Roldán A, Barea J M. Arbuscular mycorrhizal fungi, *Bacillus cereus*, and *Candida parapsilosis* from a multicontaminated soil alleviate metal toxicity in plants. Microbial Ecology, 2010, 59(4):668-677.
- [88] Krupa P, Kozdrój J. Ectomycorrhizal fungi and associated bacteria provide protection against heavy metals in inoculated pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. Water, Air and Soil Pollution, 2007, 182(1/4):83-90.
- [89] de Souza L A, de Andrade S A L, De Souza S C R, Schiavinato M A. Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolerance in *Calopogonium mucunoides*. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(2):523-531.
- [90] Chatterjee S, Sau G B, Mukherjee S K. Plant growth promotion by a hexavalent chromium reducing bacterial strain, *Cellulosimicrobium cellulans* KUCr3. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2009, 25(10):1829-1836.
- [91] Luo S L, Chen L, Chen J I, Xiao X, Xu T Y, Wan Y, Rao C, Liu C B, Liu Y T, Lai C, Zeng G M. Analysis and characterization of cultivable heavy metal-resistant bacterial endophytes isolated from Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their potential use for phytoremediation. Chemosphere, 2011, 85(7):1130-1138.
- [92] Aafi N E, Brhada F, Dary M, Maltouf A F, Pajuelo E. Rhizostabilization of metals in soils using *Lupinus luteus* inoculated with the metal resistant rhizobacterium *Serratia* sp. MSMC541. International Journal of Phytoremediation, 2012, 14(3):261-274.