

土壤中高环多环芳烃微生物降解的研究进展

张银萍 王芳 杨兴伦 谷成刚 李杰 蒋新*

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

摘要: 微生物修复是去除土壤中多环芳烃(PAHs)的主要措施。本文以微生物修复 PAHs 污染土壤的理论基础及其难点为主线,全面综述了土壤中高环 PAHs 的微生物降解机理。近年来,富集分离得到的以高环 PAHs 为唯一碳源和能源的优势降解菌逐渐增多,其中,主要是代谢降解四环 PAHs 的单株降解菌,一些降解菌还能以共代谢方式利用五环 PAHs。高环 PAHs 污染土壤修复的一个难点是其低生物可利用性,微生物通过释放生物表面活性剂、形成生物膜以及分泌胞外多糖提高高环 PAHs 的生物可利用性,从而加速其降解。真菌和细菌联合作用能增强污染土壤实地修复的效果。因此,通过微生物修复技术来去除土壤中 PAHs 具有环境友好性、经济适用性以及可持续应用性。

关键词: 高环多环芳烃(PAHs), 微生物降解, 生物可利用性, 生物放大

Recent Advances in Biodegradation of High-molecular Weight PAHs in Soil

ZHANG Yin-Ping WANG Fang YANG Xing-Lun GU Cheng-Gang LI Jie JIANG Xin*

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

Abstract: Bioremediation is a promising technique for eliminating polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from contaminated soil. The microbial biodegradation mechanisms of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons (HMW)-PAHs in soils were reviewed with special emphasis on the principles and difficulties of bioremediation of PAH-contaminated soil. Some genera of microorganisms able to utilize HMW-PAHs as the sole carbon and energy source have been isolated. Most of them are mainly single strains which can metabolically degrade four-ring PAHs, and some of them can co-metabolize five-ring PAHs. Low bioaccessibility of HMW-PAHs is a difficulty in the bioremediation of contaminated soil. Release of surfactants, formation of biofilms and production of extracellular polymeric substances by some of the PAH-degrading bacteria can enhance the bioaccessibility of PAHs and therefore accelerate the biodegradation. Combination of bacteria and fungi can increase their *in situ* bioremediation efficiency. Therefore, bioremediation is an environmentally friendly, economic suitable and sustainable technique for eliminating PAHs from soil.

基金项目: 国家自然科学基金创新群体项目(No. 40921061); 国家 863 计划项目(No. 2007AA061101); 国家自然科学基金项目(No. 20707028); 中国科学院创新重要方向项目(No. kzcx2-yw-404)

* 通讯作者: Tel: 86-25-86881195; E-mail: jiangxin@issas.ac.cn

收稿日期: 2009-07-30; 接受日期: 2009-10-10

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Biodegradation, Bioaccessibility, Bioaugmentation, Bioremediation

PAHs 是一类含有 2 个或 2 个以上苯环的芳烃。PAHs 生物富集率高、致癌性强、环境风险高, 对人类健康构成极大威胁。尤其是高环 PAHs, 不仅化学结构复杂、电子云密度高、很难被氧化, 而且水溶性差、热稳定性强、固水分配系数高、生物可利用性低, 带来的环境污染问题日益突出, 从而倍受环境科学家的关注。微生物修复是土壤中高分子量 PAHs 的主要去除措施, 也是微生物修复 PAHs 污染土壤的难点。

1 高环 PAHs 降解菌的分类

多年的研究表明: 微生物修复技术能有效的去除污染土壤中的低环 PAHs, 但可降解高环 PAHs 的优势菌株很少。迄今为止, 已经富集分离并鉴定的降解高环 PAHs 的细菌主要包括: 鞘氨醇菌属 (*Sphingomonas* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)和分枝杆菌属(*Mycobacterium* sp.)(表 1)。其中, 大多数降解菌能以四环 PAHs 为唯一碳源和能源生长, 且

表 1 典型高环 PAHs 的优势降解菌							
Table 1 Typical high-molecular weight PAH-degrading bacteria							
	菌株 Organisms	芘 Pyr	屈 Chr	荧蒹 Fla	苯并[a]蒹 BaA	苯并[a]芘 Bap	二苯并[a,h]蒹 DaA
Bacteria	<i>Mycobacterium</i> sp. ^[1]	+		+		+	
	<i>Pseudomonas putida</i> ^[2]	+		+	+		
	<i>Rhodococcus</i> sp. ^[3]	+	+	+		+	
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ^[4]	+	+	+	+	+	+
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ^[5]	+	+	+		+	
	<i>Gordona</i> sp. ^[6]	+		+			
	<i>Sphingomonas</i> sp. ^[7]	+	+	+	+	+	+
	<i>Burkholderia cepacia</i> ^[8]	+		+		+	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ^[9]		+	+	+	+	
	<i>Kordiimonas gwangyangensis</i> gen sp. ^[10]	+				+	
	<i>Bacillus</i> sp. ^[11]		+		+	+	
	<i>Micrococcus</i> sp. ^[12]		+				
Fungi	<i>Cunninghamella elegans</i> ^[13]	+		+	+	+	
	<i>Pleurotus ostreatus</i> ^[14]	+		+		+	
	<i>Penicillium</i> sp. ^[15-16]	+	+	+			+
	<i>Trametes versicolor</i> ^[17]	+				+	+
	<i>Penicillium janthinellum</i> ^[15]	+	+		+	+	+
	<i>Nematoloma frowardii</i> ^[18]	+				+	
	<i>Mucor</i> sp. ^[19]					+	
	<i>Marasmius quercophilus</i> ^[20]					+	
	<i>Trichoderma</i> sp. ^[21]	+				+	
	<i>Fusarium</i> sp. ^[22]					+	
	<i>Penicillium chrysogenum</i> ^[23]					+	
	<i>Trichoderma viride</i> ^[24]					+	
	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> ^[25]	+	+	+	+	+	+
	<i>Aspergillus terreus</i> ^[26]	+					+

Notes: +: Degradation; Pyr: Pyrene; Chr: Chrysene; Fla: Fluoranthene; BaA: Benz[a]anthracene; Bap: Benz[a]pyrene; DaA: Dibenzo[a,h]anthracene.

可参与更高环 PAHs 的共代谢降解过程。真菌氧化 PAHs 的能力比较普遍,主要有白腐真菌和子囊菌,它们能够参与复杂芳香化合物的共氧化降解过程。

2 微生物降解高环 PAHs 的机理

微生物降解 PAHs 的难易程度取决于 PAHs 分子结构的复杂性、物理化学性质和降解菌的特性。不同降解菌对各种 PAHs 的降解能力不同,对 PAHs 的代谢途径也有差异。现在,对低环 PAHs 代谢途径的研究已经比较清楚,高环 PAHs 的代谢途径成为研究的热点。

2.1 以高环 PAHs 为唯一碳源和能源的代谢机理

微生物以 PAHs 为唯一碳源和能源生长,在 PAHs 部分降解或完全矿化的过程中产生能量^[27]。目前,已经分离得到能以芘和荧蒹等为唯一碳源和能源的单株降解菌,主要是分枝杆菌属(*Mycobacterium* sp.)、草兰氏阳性细菌。此类分枝杆菌属(*Mycobacterium* sp.)降解菌生长速率快,分泌的分枝菌酸能够促进芘和荧蒹的降解。

芘有多种降解途径,分枝杆菌属(*Mycobacterium* sp.)的双加氧酶和单加氧酶的催化性能既能作用于芘的 C-1,2 位上,转化为顺反式-1,2-芘二氢二醇,又能作用于芘的 C-4,5 位上,生成顺反式-4,5-芘二氢二醇。顺反式-4,5-芘二氢二醇通过邻位开环裂解反应氧化形成 4,5-菲二甲酸,进一步脱去羧基生成 4-菲甲酸,4-菲甲酸通过双加氧酶的进一步催化作用转化为顺式-3,4-二羟基-4-菲甲酸等,经过一系列的开环裂解反应最终形成邻苯二甲酸,参与三羧酸循环反应。采用质谱、荧光光谱分析手段,对分枝杆菌 RJGII-135 菌株(*Mycobacterium* sp.)降解 ¹⁴C 标记芘的中间产物进行分析鉴定,结果表明:分枝杆菌 RJGII-135 菌株(*Mycobacterium* sp.)的双加氧酶作用于 C-4,5 位,产生 4,5-菲二甲酸、4-菲甲酸、4,5-芘二氢二醇等中间产物^[28]。分枝杆菌 KMS、KR2、PYR-1 等菌株(*Mycobacterium* sp.)降解芘时,都具有相似的代谢途径^[29-31]。分枝杆菌 KR2 菌株(*Mycobacterium* sp.)在降解芘的反应过程中,对中间产物进行分析时,不仅检测到了 4-菲甲酸,顺式-3,4-二羟基-4-菲甲酸等相同的代谢中间产物,而且分离检测到了 4-菲酚、2-羧基-苯甲醛。分枝杆菌 AP1 菌株(*Mycobacterium* sp.)能以芘为唯一碳源和能

源生长,但是芘的降解率只能达到 10%。分枝杆菌 AP1 菌株(*Mycobacterium* sp.)除具有前面的代谢途径外,还产生一种新产物 6,6-二羟基-2,2-联苯二甲酸^[32]。

关于分枝杆菌(*Mycobacterium* sp.)降解荧蒹的代谢途径主要有 3 种,双加氧酶催化作用于荧蒹的 C-1,2 位, C-2,3 位,和 C-7,8 位上,分别转化为顺式-1,2-荧蒹二氢二醇、顺式-2,3-荧蒹二氢二醇、顺式-7,8-荧蒹二氢二醇。顺式-1,2-荧蒹二氢二醇和顺式-2,3-荧蒹二氢二醇进一步间位裂解开环,生成 1-羧基-9-芴酮。顺式-7,8-荧蒹二氢二醇发生邻位和间位开环反应,形成芴酮和芴醇,并进一步被氧化成 1,8-萘二甲酸。1-羧基-9-芴酮和 1,8-萘二甲酸都最终被氧化为邻苯二甲酸^[33-35]。

2.2 高环 PAHs 的共代谢机理

以 5 环或 5 环以上 PAHs 为唯一碳源和能源的单株降解菌的相关文献报道很少,微生物主要以共代谢方式对其进行降解。微生物的共代谢定义是指:只有在初级能源物质存在时,才能进行的有机化合物的生物降解过程,提供碳源和能源的物质被称为共代谢底物^[36]。在共代谢过程中,微生物通过酶催化作用降解某些能维持自身生长的物质时,同时降解某些非微生物生长的必须物质^[37]。

苯并[a]芘致癌性极强,分子量高,芳核大,常作为共代谢研究的一种代表性污染物。存在辅助碳源时,分枝杆菌属(*Mycobacterium* sp.)单菌株的双加氧酶和单加氧酶能作用于苯并[a]芘的 C-4,5、C-9,10、C-11,12 位上,生成顺反式-4,5-苯并[a]芘二氢二醇、顺反式-9,10-苯并[a]芘二氢二醇、顺反式-11,12-苯并[a]芘二氢二醇。以菲为共代谢底物,分枝杆菌属 PYR-1 在苯并[a]芘的共代谢过程中,采用紫外、核磁共振、质谱等分析手段检测出:顺式-4,5-苯并[a]芘二氢二醇、及其邻位开环裂解反应生成 4-醛基-5-屈甲酸和 4,5-屈二甲酸等中间产物^[38]。以水杨酸和丁二酸为共代谢底物,将鞘氨醇单胞菌 JAR02 菌株(*Sphingomonas* sp.)接种于 ¹⁴C 标记的苯并[a]芘溶液中,采用高效液相色谱-质谱联用和高效液相色谱-质谱-质谱联用检测手段,不仅检测出顺式-4,5-苯并[a]芘二氢二醇,顺式-7,8-苯并[a]芘二氢二醇,而且检测出两种新的中间产物:7-羟基-8-芘甲酸和 8-羟基-7-芘甲酸^[39]。虽然没有检测出顺式-9,10-苯并[a]芘二氢二醇,但是由 8-羟基-7-芘甲酸亦

能推断出此中间产物的存在。由此推断出: 鞘氨醇单胞菌 JAR02 菌株 (*Sphingomonas* sp.) 的双加氧酶作用于苯并[a]芘的 C-4,5、C-7,8、C-9,10。分枝杆菌 RJGII-135 菌株 (*Mycobacterium* sp.) 以芘做共代谢底物, 对苯并[a]芘具有相似的降解途径^[28]。

共代谢底物的种类和添加量对高环 PAHs 的降解有显著影响, 因此, 研究共代谢降解过程时, 选择合适的底物很重要。一般来讲, 可以选择易于降解的物质如: 葡萄糖、蛋白质、蔗糖、营养肉汤等; 也可以选择与目标污染物相似的物质或者中间产物。向土壤中添加 PAHs 的中间代谢产物: 水杨酸、邻苯二甲酸、琥珀酸钠等, 土壤微生物酶活性显著提高, 芘的共代谢进程加快, 处理 25 d 后, 降解率达到 80%^[40]。接种嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas* sp.) 于 PAHs 混合物培养体系中, 42 d 后, 苯并[a]芘由初始浓度 50 mg/L 减少到 31.6 mg/L。降解率相对于以其为唯一碳源的培养实验提高了 280%^[41]。分枝杆菌 AP1 菌株 (*Mycobacterium* sp.) 能够同时降解菲、芘、荧蒹, 并且在接种 168 h 后, 降解速率达到最大^[42]。共代谢底物与目标污染物之间需要保持适当的浓度比例, 否则会存在竞争抑制作用。在 PAHs 污染土壤中, 添加原油的比例在 0.007%–0.02% 之间时, 降解菌菌群的代谢活性最高, 降解效果最显著^[43]。添加的葡萄糖量在一定浓度范围内时, 鞘氨醇单胞菌 GY2B 菌株 (*Sphingomonas* sp.) 的代谢活性提高, 葡萄糖含量较高时, 降解效果受到抑制^[44]。了解 PAHs 的共代谢降解机制不仅有助于准确认识环境中 PAHs 的微生物降解机理, 而且为污染土壤的微生物修复提供了新的思路 and 方向。

3 微生物增强 PAHs 生物可利用性的机理

PAHs 污染土壤的微生物修复是一个复杂的过程。PAHs 的物化性质及其毒性、土壤结构、微生物组成、微生物修复过程、环境条件等都影响微生物修复效应。微生物修复 PAHs 污染土壤的效率与污染物的生物有效性及其微生物的降解过程密切相关, 通常微生物采用分泌表面活性剂、形成生物膜以及胞外多糖的方式提高 PAHs 的生物可利用性。

3.1 土壤中 PAHs 生物可利用性的影响因素

进入土壤中的 PAHs, 随着时间的推移将会产生老化现象。老化过程中, PAHs 易与土壤有机质发

生物化吸附、共价结合, 处于固定状态, 很难从土壤有机质中解吸下来; 部分 PAHs 分布在微生物很难接触的土壤微孔中^[45]。PAHs 在土壤中扩散迁移时受到土壤孔隙弯曲度、无效孔隙以及土壤固体颗粒的影响, 其传质过程相当缓慢, 尤其是吸附态的 PAHs, 微生物很难利用, 导致微生物降解 PAHs 的速率非常缓慢。

土壤中 PAHs 降解菌的生长受到 PAHs 扩散速率的影响, 受扩散控制的 PAHs 物质转运速率远远低于其降解速率, 导致降解菌处于缺营养状态。细菌细胞通常被排斥在小于 0.2 μm 微孔隙外, 微孔隙中的 PAHs 很难被微生物降解; 捕食行为导致孔隙中微生物量减少, 微生物细胞的游动性减弱^[46]。结果导致土壤中大部分 PAHs 降解菌与 PAHs 污染源分隔开, 降解菌缺乏碳源而不能正常生长, 进一步延缓其对 PAHs 的降解。不同层次的土壤, 降解 PAHs 的微生物种类和数目不同, 而且分布不均匀, 直接影响 PAHs 的降解速率。

此外, 土壤环境也影响微生物降解 PAHs 的活性。当土壤含水量、土壤养分、生长底物、土壤 pH、土壤通气状况、温度等因素不适宜微生物生长时, PAHs 的微生物降解很难发生。研究表明: 温度在 24°C–30°C、湿度在 39%–90%、pH 为 7.0–7.8、氧气含量在 10%–40%、C:N:P 的比例约为 100:10:1 时, 有利于微生物的降解^[47]。微生物与土壤颗粒之间的相互作用会改变土壤环境, 改变 PAHs 在土壤溶液中的溶解度、吸附迁移特征等因素, 从而影响微生物的活性。

3.2 微生物释放生物表面活性剂促进 PAHs 的扩散

微生物降解水相中 PAHs 的传质过程遵从菲克第一扩散定律, 有机质或非水相液体作为源供给 PAHs, 微生物作为汇代谢利用 PAHs。微生物对底物的亲和力越大, 该底物越容易被降解, 浓度梯度越大, 扩散速率越快。PAHs 降解菌释放的生物表面活性剂提高 PAHs 的水溶性和降解菌细胞壁的疏水性, 有利于降解菌获取非水溶性有机物, 从而提高降解菌摄取水溶液中 PAHs 的速率。生长在烷烃或非水相液体中的微生物通过释放乳化剂, 使底物的比表面积增大, 促使 PAHs 的扩散量增加。然而, 生物表面活性剂的释放量与 PAHs 的矿化量并没有显著相关性。以蒽为底物, 假单胞菌 (*Pseudomonas citro-*

nellolis) 222A 菌株释放的生物表面活性剂能使表面张力大大减少, 虽然假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) 312A 菌株只释放少量的生物表面活性剂, 但其降解效果更好^[48]。据报道, 生物表面活性剂的亲水、疏水转换还能起着调节微生物在底物上吸附和解吸行为的作用^[45]。

3.3 微生物生物膜提高 PAHs 的生物可利用性

在 PAHs 晶体的表面形成生物膜同样能促进 PAHs 的扩散及其降解。实际降解体系中, 降解菌不能完全起到汇的作用, 它对 PAHs 的吸取速率与 PAHs 扩散到细胞表面的速率不能保持一致。细菌附生在 PAHs 表面, 并以其作为唯一碳源和能源的生长速率与 PAHs 的溶解性有很大的相关性。PAHs 疏水性越强, 降解菌越容易形成生物膜并附生在其表面。以芴和菲做生长底物时, 形成的生物膜位于疏水性较强的菲表面上, 这种附着力使菲的生物可利用性增大^[45]。降解芴的分枝杆菌 LB501T 菌株(*Mycobacterium* sp.)在芴颗粒表面附着一层生物膜有利于芴的降解, 分枝杆菌 LB501T 菌株(*Mycobacterium* sp.)的细胞膜与芴表面的粘附性增强, 分枝菌酸释放量增大, 扩大了与芴的接触面^[49]。分枝菌酸促使分枝杆菌属附生在疏水性物质的表面, 增加疏水性物质的生物可利用性。在没有添加表面活性剂的情形下, 25%的假单胞菌细胞附生在芴表面^[50]。研究报道: 4 株鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.)、5 株分枝杆菌(*Mycobacterium* sp.)和 1 株诺卡氏菌(*Nocardia* sp.)降解菲、芴、芴以及非水相液体中的 PAHs 时, 都附生在其表面^[45]。生物膜形成机制和附生机制是微生物克服高环 PAHs 扩散距离远、溶解度低、处于吸附状态以及生物可利用性低等环境因素的一种常用机制。

3.4 微生物胞外多糖提高 PAHs 生物可利用性

土壤细菌和真菌都能产生胞外多糖, 与微生物的细胞壁组成成分相近。胞外多糖通过氢键、范德华力、静电作用力等吸附在土壤颗粒的表面。胞外多糖的产生有利于微生物与土壤颗粒构成一个有机整体, 从而提高 PAHs 的生物可利用性。胞外多糖具有亲水亲油性, 其两亲性质与胞外多糖的羟基化程度和空间位置构象相关联。胞外多糖的两亲性可使处于吸附态的疏水性 PAHs 高度水化。Dohse 等所测的 28 种胞外多糖中, 其中 24 种对菲有很好的吸附

作用而且能够促进菲在沙柱中的扩散迁移^[51]。不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)属产生的胞外多糖对 PAHs 起到乳化作用, 提高 PAHs 的水溶性^[52]。微生物产生的胞外多糖还有利于 PAHs 降解菌的成活。鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.)产生的胞外多糖不仅吸附土壤中溶解的 PAHs, 而且促进 PAHs 的吸收利用^[53]。胞外多糖促使生物膜固定在疏水性的 PAHs 表面, 实验表明分枝杆菌 LB501T 菌株(*Mycobacterium* sp.)产生的胞外多糖与芴的表面直接接触, 对芴产生乳化作用^[49]。假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)产生的胞外多糖促使菲晶体表面生物膜的形成, 提高菲的生物可利用性^[54]。此外, 胞外多糖的产生能够减少土壤水分的损失^[55], 从而减弱了对底物扩散的不利因素, 促进微生物对 PAHs 的摄取。

4 生物放大措施修复 PAHs 污染土壤

4.1 生物放大修复 PAHs 污染土壤

生物放大技术是指将能代谢特定污染物的外源单株降解菌、外源菌群或外源土著微生物接种到相应的高风险污染点位^[56]。生物放大技术能提高污染物的降解速率, 加快污染物的降解进程, 适用于缺乏土著微生物降解菌的污染点位^[57]。外源菌的成活率及其代谢活性是生物放大技术的关键。Javques 等在 PAHs 浓度高达 1000 mg/kg 污染土壤中添加 PAHs 降解菌, 降解效果明显^[58]。Li 等将从石油污染的土壤中富集分离的细菌、真菌降解菌菌群接种到 PAHs 污染的土壤和污泥中, 44.4%–60.5%的芴、芴和苯并[a]芴得到降解, 相对于未接种的土壤, 其降解率提高了 12%–28%^[59]。在芴污染土壤中接种分枝杆菌 6PY1 菌株(*Mycobacterium* sp.), 芴的矿化量增加, 而且, 芴在植物根系中的累积量只占未接种外源菌的植物根系累积量的 1/5^[60]。接种外源菌明显减少了植物根系对 PAHs 的累积, 减少了对植物根系的生物可利用性。Hamdi 等将长期老化且富含降解 PAHs 的土著微生物群落接种到添加稻草的 PAHs 污染土壤中, PAHs 去除率高达 96%^[61]。接种方式、土壤 pH 和盐分含量影响外源菌的成活率和代谢活性^[62]。降解菌代谢 PAHs 的机理、PAHs 的物理化学性质、外源菌的生物化学性质、外源菌在土壤中的适应性、土著微生物的特性和土壤状况都影响到外源菌的降

解效果^[63]。

4.2 真菌-细菌联合降解土壤中的 PAHs

土壤中真菌-细菌共培养, 促使难降解的高环 PAHs 完全矿化。真菌在细胞外产生过氧化氢酶、锰过氧化酶和漆酶, 能氧化多种复杂的芳香化合物。真菌生物量大, 对土壤中 PAHs 的转化有重要作用。真菌先将土壤中高环 PAHs 氧化为极性大、水溶性强、生物可利用性高的化合物; 随后, 细菌进一步将该化合物完全矿化。镰刀霉 E033 菌株(*Fusarium* sp.) 能够降解初始浓度高达 300 mg/L 的苯并[a]芘溶液, 降解率达到 70%^[64], 但不能完全矿化。纯培养实验中, 白腐真菌烟管菌 BOS55 菌株(*Bjerkandera* sp.) 降解了 74% 的 ¹⁴C 标记的苯并[a]芘, ¹⁴CO₂ 释放量却很少; 添加低环 PAHs 单株降解菌后, ¹⁴CO₂ 释放大幅度提高^[65], 表明真菌-细菌共培养使难降解 PAHs 的矿化率大幅度提高。青霉(*Penicillium janthinellum*)WO 10,201 菌株与 PAHs 降解菌菌群 VUN10,009 或芘降解菌嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)VUN10,010 菌株共培养, 能有效的去除屈、苯并[a]蒽、二苯并[a,h]蒽、苯并[a]芘; 将混合培养物接种到高环 PAHs 污染土壤中 100 d 后, ¹⁴C 标记的苯并[a]芘的矿化率达到 53%^[66]。以苯并[a]蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽作为唯一碳源和能源时, 真菌-细菌联合修复的效果、菌体的生物量显著高于单独培养^[67]。真菌-细菌共培养能够促进高环 PAHs 的降解, 减少中间产物的累积, 提高 PAHs 的矿化率。真菌菌丝体作为细菌的载体, 不仅提供细菌足够的生长空间, 而且促使细菌在土壤中均匀分配。因此, 向污染土壤中添加富含真菌菌丝体的有机质和优势细菌不仅能够促进高环 PAHs 的降解, 而且减少污染土壤的毒性。

5 展望

土壤中 PAHs 尤其是高环 PAHs 的积累日趋严重, 减少 PAHs 的源头排放, 开发修复 PAHs 污染土壤的技术是改善土壤环境的有效措施。生物修复技术尤其是微生物修复技术在最近几十年发展迅速, 是一种经济效益高、环境友好的修复措施, 具有广阔的发展前景。到目前为止, 大范围地接种纯培养菌株到 PAHs 污染土壤中进行实地修复的相关报道为数不多。生物放大技术要以提供外源菌足够的营

养条件和良好的生长环境为前提, 外源菌须具有高效降解 PAHs 和适应土壤环境的能力, 这样有利于降解目标污染物的代谢基因表达, 有利于提高降解菌的代谢活性, 有利于降解菌的成功应用。因此, 今后需在以下几个方面进一步深入研究:

在培养筛选出具有专一修复效果的高环 PAHs 优势降解菌的基础之上, 深入研究高环 PAHs 降解菌的功能及代谢机理; 探明降解菌与土壤颗粒之间的相互作用机理, 寻找提高土壤中 PAHs 生物有效性的手段; 营造良好的土壤环境, 协调好土著微生物与外源降解菌的相互关系, 充分发挥它们降解土壤中 PAHs 的潜力与持续性, 使生物放大技术成功应用于实地修复。

参考文献

- [1] Dandie CE, Thomas SM, Benthall RH, *et al.* Physiological characterization of *Mycobacterium* sp. strain 1B isolated from a bacterial culture able to degrade high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, **97**(2): 246–255.
- [2] Doong RA, Lei WG. Solubilization and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas putida* in the presence of surfactant. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, **96**(1): 15–27.
- [3] Bouchez M, Blanchet D, Vandecasteele JP. An interfacial uptake mechanism for the degradation of pyrene by a *Rhodococcus* strain. *Microbiology-UK*, 1997(143): 1087–1093.
- [4] Juhasz AL, Stanley GA, Britz ML. Microbial degradation and detoxification of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia* strain VUN 10,003. *Letters in Applied Microbiology*, 2000, **30**(5): 396–401.
- [5] Zhao Z, Wong JWC. Biosurfactants from *Acinetobacter calcoaceticus* BU03 enhance the solubility and biodegradation of phenanthrene. *Environmental Technology*, 2009, **30**(3): 291–299.
- [6] Kanaly RA, Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology*, 2000, **182**(8): 2059–2067.
- [7] Gou MQ, Yang YY, Zhou H, *et al.* *Sphingomonas* sp.: a novel microbial resource for biodegradation of aromatic compounds. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, **14**(2): 276–282.
- [8] Juhasz AL, Stanley GA, Britz ML. Metabolite repression inhibits degradation of benzo[a]pyrene and dibenz[a,h]anthracene by *Stenotrophomonas maltophilia*

- VUN 10,003. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2002, **28**(2): 88–96.
- [9] Kazunga C, Aitken MD. Products from the incomplete metabolism of pyrene by polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(5): 1917–1922.
- [10] Kwon KK, Lee HS, Yang SH, *et al.* *Kordiimonas gwan-gyangensis* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium isolated from marine sediments that forms a distinct phyletic lineage (Kordiimonadales ord. nov.) in the ‘Alphaproteobacteria’. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005(55): 2033–2037.
- [11] Su D, Li PJ, Stagnitti F, *et al.* Biodegradation of benzo[a]pyrene in soil by *Mucor* sp. SF06 and *Bacillus* sp. SB02 co-immobilized on vermiculite. *Journal of Environmental Sciences China*, 2006, **18**(6): 1204–1209.
- [12] Toledo FL, Calvo C, Rodelas B, *et al.* Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities. *Systematic and Applied Microbiology*, 2006, **29**(3): 244–252.
- [13] Pothuluri JV, Selby A, Evans FE, *et al.* Transformation of chrysene and other polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures by the fungus *cunninghamella-elegans*. In 5th International Mycological Congress. 1994, Vancouver, Canada.
- [14] Perez G, Pangilinan J, Pisabarro AG, *et al.* Telomere organization in the ligninolytic Basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(5): 1427–1436.
- [15] Launen L, Pinto L, Wiebe C, *et al.* The oxidation of pyrene and benzo[a]pyrene by nonbasidiomycete soil fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 1995, **41**(6): 477–488.
- [16] Zheng ZM, Obbard JP. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungal isolates from an oil contaminated refinery soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2003, **10**(3): 173–176.
- [17] Majcherczyk A, Johannes C, Huttermann A. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 1998, **22**(5): 335–341.
- [18] Sack U, Heinze TM, Deck J, *et al.* Comparison of phenanthrene and pyrene degradation by different wood-decaying fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(10): 3919–3925.
- [19] Su D, Li PJ, Wang X, *et al.* Biodegradation of Benzo[a]pyrene in soil by immobilized fungus. *Environmental Engineering Science*, 2008, **25**(8): 1181–1188.
- [20] Farnet AM, Gil G, Ruauel F, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon transformation with laccases of a white-rot fungus isolated from a Mediterranean sclerophyllous litter. *Geoderma*, 2009, **149**(3/4): 267–271.
- [21] Wang X, Gong ZQ, Li PJ, *et al.* Degradation of pyrene and benzo(a)pyrene in contaminated soil by immobilized fungi. *Environmental Engineering Science*, 2008, **25**(5): 677–684.
- [22] Chulalaksananukul S, Gadd GM, Sangvanich P, *et al.* Biodegradation of benzo(a)pyrene by a newly isolated *Fusarium* sp.. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **262**(1): 99–106.
- [23] Zang SY, Li PJ, Yu XC, *et al.* Degradation of metabolites of benzo[a]pyrene by coupling *Penicillium chrysogenum* with KMnO_4 . *Journal of Environmental Sciences-China*, 2007, **19**(2): 238–243.
- [24] Verdin A, Sahraoui ALH, Durand R. Degradation of benzo[a]pyrene by mitosporic fungi and extracellular oxidative enzymes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2004, **53**(2): 65–70.
- [25] Potin O, Veignie E, Rafin C. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Cladosporium sphaerospermum* isolated from an aged PAH contaminated soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **51**(1): 71–78.
- [26] Capotorti G, Digianvincenzo P, Cesti P, *et al.* Pyrene and benzo(a)pyrene metabolism by an *Aspergillus terreus* strain isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soil. *Biodegradation*, 2004, **15**(2): 79–85.
- [27] 陈春云, 岳珂, 陈振明, 等. 微生物降解多环芳烃的研究进展. *微生物学杂志*, 2007, **27**(6): 100–103.
- [28] Schneider J, Grosser R, Jayasimhulu K, *et al.* Degradation of pyrene, benz[a]anthracene, and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, **62**(1): 13–19.
- [29] Liang Y, Gardner DR, Miller CD, *et al.* Study of biochemical pathways and enzymes involved in pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KMS. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(12): 7821–7828.
- [30] Kim SJ, Kweon O, Jones RC, *et al.* Complete and integrated pyrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 based on systems biology. *Journal of Bacteriology*, 2007, **189**(2): 464–472.
- [31] Rehmann K, Noll HP, Steinberg CEW, *et al.* Pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KR2. *Chemosphere*, 1998, **36**(14): 2977–2992.
- [32] Vila J, Lopez Z, Sabate J, *et al.* Identification of a novel metabolite in the degradation of pyrene by *Mycobacterium* sp. strain AP1: Actions of the isolate on two- and three-ring polycyclic aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(12): 5497–5505.
- [33] Lopez Z, Vila J, Minguillon C, *et al.* Metabolism of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. strain AP1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, **70**(6): 747–756.
- [34] Kweon O, Kim SJ, Jones RC, *et al.* A polyomic approach to elucidate the fluoranthene-degradative pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Journal of Bacteriology*,

- 2007, **189**(13): 4635–4647.
- [35] Lopez Z, Vila J, Grifoll M. Metabolism of fluoranthene by mycobacterial strains isolated by their ability to grow in fluoranthene or pyrene. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2005, **32**(10): 455–464.
- [36] 陶雪琴, 党志, 卢桂宁, 等. 污染土壤中多环芳烃的微生物降解及其机理研究进展. 矿物岩石地球化学通报, 2003, **22**(04): 356–360.
- [37] 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. 生态学杂志, 2000, **19**(06): 40–45.
- [38] Moody JD, Freeman JP, Fu PP, *et al.* Degradation of benzo[a]pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(1): 340–345.
- [39] Rentz JA, Alvarez PJJ, Schnoor JL. Benzo[a]pyrene degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02. *Environmental Pollution*, 2008, **151**(3): 669–677.
- [40] 巩宗强, 李培军, 王新, 等. 茈在土壤中的共代谢降解研究. 应用生态学报, 2001, **12**(3): 447–450.
- [41] Juhasz AL. Microbial degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. Ph.D. Thesis, Victoria University of Technology, Melbourne, Australia, 1998.
- [42] Lopez Z, Vila J, Ortega-Calvo JJ, *et al.* Simultaneous biodegradation of creosote-polycyclic aromatic hydrocarbons by a pyrene-degrading *Mycobacterium*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, **78**(1): 165–172.
- [43] Kanaly RA, Bartha R, Watanabe K, *et al.* Rapid mineralization of benzo[a]pyrene by a microbial consortium growing on diesel fuel. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(10): 4205–4211.
- [44] Tao XQ, Lu GN, Dang Z, *et al.* A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils. *Process Biochemistry*, 2007, **42**(3): 401–408.
- [45] Johnsen AR, Wick LY, Harms H. Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environmental Pollution*, 2005, **133**(1): 71–84.
- [46] Harms H, Bosma TNP. Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 1997, **18**(2/3): 97–105.
- [47] 邢维芹, 骆永明, 李立平. 影响土壤中 PAHs 降解的环境因素及促进降解的措施. 土壤通报, 2007, **38**(01): 471–471.
- [48] Jacques RJS, Santos EC, Bento FM, *et al.* Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. isolated from a petrochemical sludge landfarming site. *International Biodegradation & Biodegradation*, 2005, **56**(3): 143–150.
- [49] Wick LY, Wattiau P, Harms H. Influence of the growth substrate on the mycolic acid profiles of *mycobacteria*. *Environmental Microbiology*, 2002, **4**(10): 612–616.
- [50] Hickey AM, Gordon L, Dobson AD, *et al.* Effect of surfactants on fluoranthene degradation by *Pseudomonas alcaligenes* PA-10. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **74**(4): 851–856.
- [51] Dohse DM, Lion LW. Effect of microbial polymers on the sorption and transport of phenanthrene in a low-carbon sand. *Environmental Science & Technology*, 1994, **28**(4): 541–548.
- [52] Barkay T, Navon-Venezia S, Ron EZ, *et al.* Enhancement of solubilization and biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by the bioemulsifier alasan. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(6): 2697–2702.
- [53] Johnsen AR, Karlson U. Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, **63**(4): 452–459.
- [54] Rodrigues AC, Wuertz S, Brito AG, *et al.* Three-dimensional distribution of GFP-labeled *Pseudomonas putida* during biofilm formation on solid PAHs assessed by confocal laser scanning microscopy. *Water Science and Technology*, 2003, **47**(5): 139–142.
- [55] Chenu C. Clay polysaccharids or sand polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil-water related properties and microstructure. *Geoderma*, 1993, **56**(1/4): 143–156.
- [56] Venkata MS, Falkentoft C, Venkata N, *et al.* Bioaugmentation of microbial communities in laboratory and pilot scale sequencing batch biofilm reactors using the TOL plasmid. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(5): 1746–1753.
- [57] Mohan SV, Kisa T, Ohkuma T, *et al.* Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2006, **5**(4): 347–374.
- [58] Jacques RJS, Okeke BC, Bento FM, *et al.* Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(7): 2637–2643.
- [59] Li XJ, Li PJ, Lin X, *et al.* Biodegradation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by microbial consortia in soil and slurry phases. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, **150**(1): 21–26.
- [60] Jouanneau Y, Willison JC, Meyer C, *et al.* Stimulation of pyrene mineralization in freshwater sediments by bacterial and plant bioaugmentation. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**(15): 5729–5735.
- [61] Hamdi H, Benzarti S, Manusadzianas L, *et al.* Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, **39**(8): 1926–1935.

- [62] Kastner M, Breuer-Jammali M, Mahro B. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(1): 359–362.
- [63] Truu J, Heinaru E, Vedler E, *et al.* Formation of microbial communities in oil shale chemical industry solid wastes during phytoremediation and bioaugmentation. *Bioremediation of Soils Contaminated with Aromatic Compounds*, 2007(76): 57–66.
- [64] Chulalaksananukul S, Gadd GM, Sangvanich P, *et al.* Biodegradation of benzo(a)pyrene by a newly isolated *Fusarium* sp.. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **262**(1): 99–106.
- [65] Kotterman MJJ, Vis EH, Field JA. Successive mineralization and detoxification of benzo[a]pyrene by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55 and indigenous microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(8): 2853–2858.
- [66] Boonchan S, Britz ML, Stanley GA. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(3): 1007–1019.
- [67] Grant RJ, Muckian LM, Clipson NJW, *et al.* Microbial community changes during the bioremediation of creosote-contaminated soil. *Letters in Applied Microbiology*, 2007, **44**(3): 293–300.

编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部简介

中国科学院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立, 已取得北京市工商局正式批准的广告经营许可证(京海工商广字第 8107 号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务, 此四种期刊均为中国自然科学核心期刊, 国内外公开发行, 主要报道微生物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态, 已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等国内外著名数据库和检索期刊收录, 是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如 PCR 仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息, 也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则, 愿与从事生物技术产品生产与销售的各类厂商和公司精诚合作, 共同发展。如有刊登广告的需要, 欢迎与我们联系或 E-mail 联系获取各刊版位及报价信息! 也可以登陆各刊网站, 了解更多详情。

提示: 从 2007 年起, 各公司与此四刊签订的广告费用请汇入以下新账号:

收款单位: 中国科学院微生物研究所

开户银行: 中国工商银行北京分行海淀西区支行

帐号: 0200004509089117425

中国科学院微生物研究所·期刊广告部

联系电话: 010-64807336; 010-64807521

联系人: 武文 王闵

电子信箱: gg@im.ac.cn

网 址: <http://journals.im.ac.cn>