

# 土壤环境中多环芳烃的微生物降解及联合生物修复<sup>①</sup>

邹德勋<sup>1,2,3</sup>, 骆永明<sup>1,2</sup>, 徐凤花<sup>3</sup>, 滕 应<sup>1,2</sup>, 李振高<sup>1,2</sup>

(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; 3 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 研究土壤环境中持久性有机污染物的生物降解及其生物修复技术是当今国际环境修复科学技术前沿领域的重要课题。本文重点论述了土壤环境中持久性有机污染物多环芳烃的微生物降解机理及其在生物修复中的应用等, 并结合当前研究进展, 展望了基于多种修复措施相结合的多环芳烃污染土壤联合生物修复工程技术的开发与应用前景。

**关键词:** 多环芳烃; 微生物降解; 联合生物修复; 污染土壤

**中图分类号:** X53

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是由 2 个或 2 个以上苯环以线状、角状或簇状排列组合成的一类稠环化合物。PAHs 水溶性差、辛醇-水分配系数高、稳定性强, 因此容易吸附于土壤颗粒上及积累于生物体内。同时随着苯环数量的增加以及由线性排列向非线性排列的转变, PAHs 的疏水性、亲脂性及其稳定性越来越强, 同时其危害性也随之增大。PAHs 的危害表现是: ①强致癌性、致突变性及致畸性<sup>[1]</sup>; ②对微生物生长有强抑制作用<sup>[2]</sup>; ③PAHs 的光致毒效应<sup>[3]</sup>。

PAHs 主要是有机物的不完全燃烧或高温 (> 700℃) 处理条件下产生的。它的来源可分为自然源和人为源, 自然源的 PAHs 总量不多, 它们构成了自然界中 PAHs 的本底值; 而人类活动, 特别是化石燃料的燃烧及石化产品的生产、加工、运输过程及泄漏事故是环境中 PAHs 的主要来源。PAHs 一般最初以气态形式存在, 冷却后形成颗粒物或吸附于颗粒物上, 并在环境中四处扩散, 然后通过沉降和降水作用进入土壤或水体中, 最终大部分积累于土壤及水下沉积物中<sup>[4]</sup>。

作为一种全球性的污染物, PAHs 污染问题引起了世界各国的重视。美国环保局在 20 世纪 80 年代末就把 16 种未带分支的 PAHs 确定为环境中优先控制污染物, 中国也把 PAHs 列入环境污染的“黑名单”中, 同时, 如何降解环境中的 PAHs, 修复被其污染的环境也成为环境科学领域所关心的热点之一。据不完全统计, 近年发表的有关文献有逐年上升趋势(图 1)。PAHs

在环境中可通过多种途径得以降解或消除, 包括挥发、光氧化、化学氧化、生物富集、土壤吸附及微生物的降解等, 而微生物降解作用在 PAHs 的迁移、转化乃至最终从环境中消失的过程中占有重要的地位。微生物降解作用已成为对 PAHs 污染土壤进行生物修复技术的核心, 同时该技术的研究与开发也为 PAHs 污染土壤环境的多种修复措施相结合的联合生物修复工程技术的建立与完善提供了技术支持与保障。

## 1 降解 PAHs 的微生物与基因

### 1.1 降解 PAHs 微生物的富集与分离

研究 PAHs 微生物降解机理及其污染土壤生物修复新技术的重要途径是筛选能够降解 PAHs 的微生物, 这是开展深入理论研究和实践应用的基础。微生物对 PAHs 这一类有毒有机污染物的降解往往需要一定的适应时间。研究表明, 在被 PAHs 污染的环境中, 微生物降解 PAHs 的能力要远远高于未受污染区域<sup>[5]</sup>。为了缩短微生物的适应时间, 提高降解速率, 人们常常从受到污染的土壤中富集培养并分离降解速率最大的微生物种类, 进行驯化一段时间后再把它们用于污染土壤的生物修复<sup>[6-7]</sup>。当然也有部分研究者从没有被污染、寡营养环境下分离降解性微生物, 但其更主要的是进行理论上的探讨<sup>[8]</sup>。对于富集培养的方法, 人们一般采用传统的单纯水系统进行, 但对于降解疏水性很强的 PAHs 的微生物富集培养的效率很低, 一般需要进行很长时间(几个月)。因为大多数微生物对有机物的降解作用主要是在水相中进行, 而难溶于水的

①基金项目: 国家自然科学基金重点项目(40432005)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410809/10) 和国家高技术研究发展计划(2004AA649210) 共同资助。

作者简介: 邹德勋 (1980—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 主要从事污染土壤微生物修复方面研究。E-mail: zoudexun@yahoo.com.cn

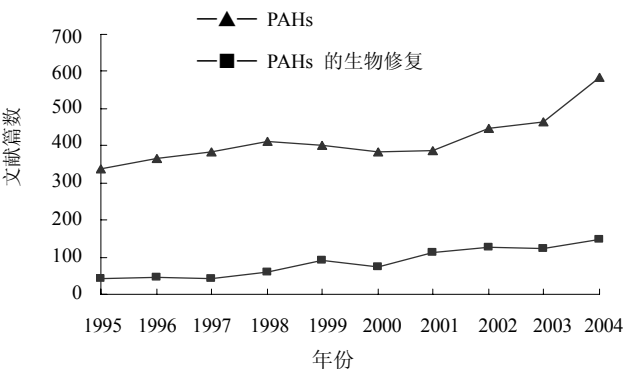


图 1 近 10 年国际对 PAHs 及其生物修复研究文献统计  
(根据 Elsevier SDOS 数据库)

Fig. 1 Statistics of literature on PAHs and bioremediation of PAHs in the past 10 years in the world

PAHs 不易被降解，或是仅能在界面上进行<sup>[9]</sup>。因此，一些研究者采用了一种水-硅油系统进行 PAHs 这类难溶性污染物降解微生物的富集培养<sup>[10]</sup>，这种方法增大了 PAHs 与微生物的接触面积，从而加快与提高了对微生物的驯化效率，能在相对较短的时间里筛选到降解 PAHs 的微生物。此外，也有研究者利用一种可吸附 PAHs 的载体—铅-聚矾复合膜来筛选具有 PAHs 黏着性的降解菌株，以提高环境中被土壤吸附的 PAHs 的降解效率<sup>[11]</sup>。富集得到降解 PAHs 的微生物后，在含有以 PAHs 为唯一 C 源的固体培养基上进行分离和

进一步的筛选。然而，PAHs 的疏水性使其不能均匀分散在固体培养基上。为了克服这一困难，可采用以下方法：①使用惰性亲水载体增加界面，使之均匀地分散在水溶液中；②使用既不抑制微生物生长也不为微生物所利用的惰性分散剂；③使用超声波产生稳定的乳浊液，倒平板，在乳浊液破坏之前琼脂凝固；④把 PAHs 溶于乙醚或丙酮等有机溶剂中，然后喷洒在已经涂上菌液的无机盐固体培养基上，此时有机溶剂很快就挥发掉，PAHs 固体留在固体培养基上<sup>[9]</sup>。另外，在固体培养基上生长出的菌落也可用儿茶酚等喷雾法等进一步验证其降解能力<sup>[12]</sup>。

1.2 降解 PAHs 的微生物资源

由于环境中 PAHs 分布的广泛性，能够降解它的微生物也是广泛存在的（表 1）。但是不同微生物对不同 PAHs 有不同降解能力（降解速率、降解程度）；而不同的 PAHs 对于不同的微生物降解也有不同的敏感性。一般来说，随着 PAHs 苯环数的增加，其微生物可降解性越来越低。许多细菌、真菌和藻类等都具有降解 PAHs 的能力。细菌中有多个菌属具有降解的能力，典型的也是研究较多的是鞘氨醇单孢菌属（*Sphingomonas*）、假单孢菌属（*Pseudomonas*）等；真菌对 PAHs 的降解也是普遍的，研究较多的是黄孢原毛平革菌（*Phanerochaet chrysosporium*）；尽管有些藻类也具有降解 PAHs 的能力，但由于其光能自养特性，降解能力较差。

表 1 几种典型 PAHs 的降解微生物<sup>[6-10, 13-20]</sup>  
Table 1 Degrading microorganisms for typical PAHs

| PAHs              | 降解微生物                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 菲<br>(Phe)        | <i>Sphingomonas</i> (鞘氨醇单孢菌属); <i>Aeromonas</i> (气单孢菌属); <i>Pseudomonas</i> (假单孢菌属); <i>Mycobacterium</i> (分枝杆菌属); <i>Rhodococcus</i> (红球菌属); <i>Alcaligenes</i> (产碱杆菌属); <i>Bacillus</i> (芽孢杆菌属); <i>Nocardia</i> (诺卡氏菌属); <i>Flavobacterium</i> (黄杆菌属); <i>Arthrobacter</i> (节杆菌属); <i>Saccharothrix</i> (糖丝菌属); <i>Aspergillus niger</i> (黑曲霉); <i>Vibrio</i> (弧菌属); <i>Beijerinckia Derox</i> (拜叶林克氏菌属); <i>Micrococcus</i> (微球菌属); <i>Cycloclasticus</i> (解环菌属); <i>Phanerochaet chrysosporium</i> (黄孢原毛平革菌) |
| 芘<br>(Pyr)        | <i>Sphingomonas</i> (鞘氨醇单孢菌属); <i>Pseudomonas</i> (假单孢菌属); <i>Mycobacterium</i> (分枝杆菌属); <i>Rhodococcus</i> (红球菌属); <i>Gordona</i> (戈登菌属); <i>Flavobacterium</i> (黄杆菌属); <i>Saccharothrix</i> (糖丝菌属); <i>Aspergillus niger</i> (黑曲霉); <i>Pleurous ostreatus</i> (糙皮侧耳); <i>Burkholderia cepacia</i> (洋葱伯克霍尔德菌); <i>Phanerochaet chrysosporium</i> (黄孢原毛平革菌); <i>Cycloclasticus</i> (解环菌属)                                                                                                                         |
| 苯并[a]芘<br>(B[a]P) | <i>Sphingomonas</i> (鞘氨醇单孢菌属); <i>Pseudomonas</i> (假单孢菌属); <i>Mycobacterium</i> (分枝杆菌属); <i>Phanerochaet chrysosporium</i> (黄孢原毛平革菌); <i>Pleurous ostreatus</i> (糙皮侧耳); <i>Beijerinckia Derox</i> (拜叶林克氏菌属); <i>Burkholderia cepacia</i> (洋葱伯克霍尔德菌); <i>Penicillium janthinellum</i> (微紫青霉); <i>Cunninghamella elegans</i> (雅致小克银汉霉); <i>Aspergillus ochraceus</i> (赭曲霉); <i>Syncephalastrum racemonsum</i> (总状共头霉)                                                                                               |

1.3 降解 PAHs 的基因

PAHs 作为一类难降解物释放到环境中后，必然对微生物产生巨大压力，这些微生物经过一系列基因突变、重组、易位及其他遗传调控来创造新的酶促功能以作用于 PAHs 及其以后的代谢产物。这类基因发生

遗传重组，组织连续代谢步骤的基因进入单个的遗传单位，然后与转移质粒结合，形成具有降解能力的质粒，这些质粒在微生物之间传递，因此这种降解功能可在环境中扩展，当然，也可以通过导入质粒的方法创造菌株，使之获得新的降解能力<sup>[21]</sup>。

目前, 低分子量的 PAHs (如萘、菲等) 的降解基因的克隆、序列分析和调控机制等已有较多的研究, 很多的降解性质粒已经被分离。例如研究较深入的恶臭假单孢菌 G7 株的 NAH7 质粒等<sup>[22]</sup>。PAHs 微生物降解遗传学研究的不断深入, 为污染土壤的生物修复提供了重要的信息与支持。运用相关遗传学技术, 不但可以人工构建一些具有 PAHs 高效降解能力的土著微生物, 还能对生物降解监测和降解优化产生有益作用。克隆的结构基因可作特定微生物和降解代谢途径的基因探针。克隆的调节基因尤其有用, 因为这些基因可探测特定的调节特征, 从而迅速阐明诱导剂的类型, 而诱导剂对激活所期望的降解能力是必需的。编码关键酶或调节蛋白的核苷酸序列, 使得可设计用于快速检测和确定在特定地区出现的微生物种类的特殊 PCR 引物<sup>[23]</sup>。

## 2 微生物降解 PAHs 的机理

微生物对 PAHs 降解的难易程度取决于 PAHs 的结构、性质, 还有微生物及其降解酶的适应程度。不同的微生物对各种 PAHs 降解途径也有较大的差别。

### 2.1 以 PAHs 为唯一 C 源和能源的降解机理

一般情况下, 微生物对 PAHs 的降解都需要氧气的参与, 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<sup>[24]</sup>。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, 即苯环断裂。丁二酸、反丁烯二酸、丙酮酸、乙酸或乙醛<sup>[25]</sup>, 这些物质都能被微生物利用合成自身的生物量, 同时产生 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub>。

### 2.2 共代谢途径的降解机理

由于 PAHs 的高稳定性, 土壤环境中很少有能直接降解高分子量 PAHs 的微生物, 因此绝大多数高分子量 PAHs 降解都是以共代谢方式进行的<sup>[26]</sup>。

共代谢最早是由 Leadbetter 和 Foster<sup>[27]</sup>提出的, 后来 Jensen<sup>[28]</sup>扩展了其内涵。现在一般把共代谢定义为: 只有在初级 C 源和能源存在的条件下, 微生物才能进行有机物降解的过程称为共代谢作用 (cometabolism), 所提供的初级 C 源和能源物质称之为共代谢底物 (cometabolism substrate)。一般认为, 缺少进一步降解的酶系统, 中间产物的抑制作用以及需要另外的物质来诱导代谢酶、生长因子等, 是微生物发生共代谢

作用的原因<sup>[29]</sup>。正是因为如此, 在选择共代谢底物时, 要选择那些可以提高微生物体内代谢酶系统尤其是关键酶—加氧酶的活性与含量, 并可作为微生物 C 源和能源的物质。

Mahaffey 等<sup>[30]</sup>的实验表明, 在有联苯、水杨酸作为共代谢底物时, *Beijerinckia* 可以分解原本不被其作为 C 源和能源的苯并蒽。水杨酸的存在能提高 *Pseudomonas Putida* NCIB9816 降解荧蒽和苯并芘的能力。相关的研究工作还有很多, 尽管共代谢降解 PAHs 的理论研究已经取得了一些进展, 能降解高分子量 PAHs 的微生物数量也在不断增加, 但应用到实际中的报道目前不多见。因此, 共代谢降解的机制、PAHs 与其他污染物组成的混合物的降解、混合微生物共代谢降解中微生物之间的相互关系, 以及共代谢作用的实际应用等方面的研究前景还很广阔。

### 2.3 无氧途径

相对于有氧代谢途径来说, PAHs 的无氧降解过程极慢。目前的研究表明: 在反硝化条件下, PAHs 可以以硝酸盐作为电子受体发生无氧降解; 在硫酸盐还原环境中, PAHs 的微生物降解以磷酸盐还原作为电子受体<sup>[31]</sup>。由于厌氧降解效率较低, 研究方法复杂, 因此对其降解途径的研究较少, 相关报道不多。

## 3 生物修复

生物修复 (bioremediation) 是近 10 年兴起的一项主要利用生物作用 (尤其是微生物的降解作用和植物的吸收、矿化作用) 及其相应的配套辅助管理措施, 来减少甚至消除环境中污染物的工程技术, 由于具有二次污染少、安全性较高、成本相对较低等优点, 近几年该技术越来越受到人们的重视。

### 3.1 微生物降解在 PAHs 污染土壤生物修复中的作用及局限性

微生物的降解是自然界中 PAHs 消减的最主要途径, 同时也是对 PAHs 污染土壤生物修复的最有效手段。因此, 近十几年来研究者们十分热衷于寻找具有降解 PAHs 能力的微生物, 并将其应用于 PAHs 污染土壤的生物修复。尽管在人工模拟污染条件下或实验室中已经获得了比较满意的修复效果<sup>[32]</sup>, 但是对自然污染现场的修复却往往不能达到人们预期的目的。因此, 如何解决这一难题, 就成为 PAHs 污染土壤生物修复技术应用与发展的关键。

在人工条件下, 降解微生物所作用的污染系统比较简单: 或是人为添加一种或几种化学纯品污染物的系统; 或是无菌系统; 或是便于人为控制的污染系统。在这样的条件下, 降解微生物受到的外来压力较小,

经过一段时间的适应以后便能发挥其降解作用。但是,在自然条件下,PAHs 污染土壤往往是多种污染物混杂、土著微生物种类和数量繁多又难以人为控制的系统。在这样多重的压力下,又缺少辅助支持,降解微生物不是被抑制就是被消灭,因此不能发挥其应有的降解作用。从而,修复这样一个污染情况复杂又具有活性和自我调节能力的“污染系统”,仅仅依靠微生物的降解作用,是很难达到目的的。如果微生物降解作用与多种修复措施相结合,能够形成一个具有多种污染物降解能力的,各种措施互助、调节能力互补又有较强生物活性的“修复系统”,很可能对现场条件下 PAHs 污染土壤起到良好的修复作用。

因此,发展基于微生物降解作用又结合多种修复措施的联合生物修复及其工程技术将成为解决这一关键技术难题的必然趋势。

### 3.2 多种修复措施相结合的联合生物修复工程技术

“多种修复措施相结合的联合生物修复工程技术”就是综合运用各种物理、化学、生物手段,直接或间接提高污染土壤中 PAHs 的微生物降解效率和植物吸收代谢效率,形成一个具有生物活性、自我调节功能完整的修复系统,通过利用该系统及其辅助管理措施,实施对 PAHs 污染土壤场地修复的工程技术。

**3.2.1 物理化学强化措施** (1) 添加表面活性剂。由于 PAHs 的难溶性导致其难以与微生物进行有效的接触而不易被降解,同时也很难被植物吸收与代谢,限制了其生物有效性,这也是去除 PAHs 存在的主要问题<sup>[33]</sup>。近 20 年来,人们开始寄希望于通过表面活性剂对 PAHs 的增溶作用,来改善其受限的生物有效性<sup>[34]</sup>。但是表面活性剂自身的降解特性、毒理特性及其与 PAHs 的复合毒理特性的研究还不清楚,其作为一项 PAHs 污染土壤修复措施的使用还需要进一步的验证。

(2) 添加营养盐类或肥料。维持微生物的生长与繁殖,需要一定量的各种营养盐,在现场环境中,营养盐的缺乏常是限制微生物降解活性的重要因素。为了加快 PAHs 的降解速率,提高降解程度,适当添加营养盐是一项有效措施,该措施在对石油污染土壤的生物修复中取得了良好的效果。同样,在 PAHs 污染土壤修复中,添加适当的营养盐,维持其最佳的比例,可以促进在反应器条件下 PAHs 的降解<sup>[35]</sup>。

(3) 提供电子受体。在对 PAHs 的降解中,微生物主要是在好氧条件下进行的。作为电子受体,氧气的充足与否直接限制了微生物对 PAHs 的降解。因此,为了使降解微生物能良好地生长繁殖,可以采用土地翻耕等方法来补充氧气,此外也可向污染环境中投加

双氧水、过氧化钙等氧化物来改善其缺氧环境。在无氧代谢条件下也可添加硝酸盐、硫酸盐类电子受体,以提高其降解效率<sup>[36]</sup>。

(4) 添加共代谢底物。研究表明,高分子量 PAHs 的生物降解一般均以共代谢方式开始。共代谢作用可以提高微生物降解 PAHs 的效率,改变微生物 C 源与能源的底物结构,增大微生物对 C 源和能源的选择范围,从而达到难降解的高分子量 PAHs 最终被微生物利用并降解的目的<sup>[26]</sup>。所添加的共代谢底物要符合以下几方面的要求:①与 PAHs 降解的目标底物相似或是其代谢的中间产物,能够明显提高降解率;②能用来维持 PAHs 降解微生物的生长,不容易被其他非 PAHs 降解菌利用;③毒性较低、降解性好;④价格低廉、容易获得。目前研究较多的共代谢底物有水杨酸、邻苯二甲酸、联苯、琥珀酸钠等。

**3.2.2 其他生物修复手段的补充与组合** (1) 投加多类型的 PAHs 降解微生物。特定的降解微生物只能对某一种或少数几种 PAHs 具有降解作用,或只是在某一个降解过程中起作用。而实际上 PAHs 污染土壤都是复合污染,因此接种单一的微生物往往缺乏广谱性,只是对某些 PAHs 进行不彻底的降解,甚至转化出毒性更大的中间产物。另外,即使向污染土壤中投加大量的单一种类的降解微生物,往往缺少其他生物因子的保护与辅助支持,竞争不过土著微生物,也可能生长繁殖不良。因此,在修复中最好是添加经过驯化的具有多个降解途径的混合菌群或是激发污染土壤中的多种土著微生物。

在污染土壤生物修复中,对 PAHs 降解菌群筛选的意义甚至大于对单一的 PAHs 降解菌株的筛选,因为一个功能和结构相对完整的降解菌群其适应能力和降解效果都要强于单一的降解菌株。在 PAHs 降解菌系中,不同的微生物起到不同的作用,有的提供加氧酶,有的提供生长因子等<sup>[37]</sup>。另外,从重污染现场土壤中筛选和驯化土著微生物,利用其来进行场地的生物修复,往往作用更加明显。

(2) 植物-微生物联合修复技术。植物修复是生物修复技术的重要组成部分,植物不但可以直接吸收和矿化代谢土壤中的 PAHs,其强大的根际效应也强化了微生物的降解效果<sup>[38-39]</sup>。植物修复的方式有 4 种<sup>[40]</sup>:①植物提取;②植物降解;③植物稳定;④植物挥发。

在植物-微生物联合修复系统中植物选择的一般标准是<sup>[41]</sup>:①有强大的须根系,最大可能地提供微生物活动的根表面积;②能够适应多种污染物,并生长旺盛,有较大的生物量;③根系要深,能够穿透较深的土层。目前大多选择苜蓿、三叶草等牧草类植物。

(3) 接种其他功能微生物。菌根真菌可以和高等植物的根系形成一种互惠互利的共生体—菌根。近年来, 研究者们越来越重视菌根真菌在污染土壤生物修复中的作用, 相关研究也有很多报道<sup>[42-43]</sup>。菌根真菌及其宿主植物的互惠联合在污染土壤修复中显示出诸多独特优势: ①菌根真菌的侵染极大地增加了植物根系的表面积, 增强了植物对 PAHs 的吸收效率; ②菌根真菌为植物提供其所不能吸收的一些微量元素, 改善其营养条件, 增加生物量; ③菌根真菌不仅促进植物生长发育, 还可以增强其抗逆与抗病性, 提高了植物在污染土壤中的存活率; ④菌根真菌本身具有分解 PAHs 的潜力, 直接降解 PAHs; ⑤菌根真菌与其他微生物形成联合体系, 共同降解 PAHs, 菌根的某些分泌物甚至成为降解微生物的共代谢底物。

有机 C 的含量和组成影响着 PAHs 的土壤环境行为<sup>[44]</sup>。一般在 PAHs 污染土壤中 C 的含量很高, 尤其是含有 PAHs 的石油污染, 这种 C/N 很高的环境限制了微生物的生长与繁殖。因此, 提高 PAHs 污染场地的 N 含量也成为生物修复过程中需要解决的一个问题。如果直接向污染场地投加尿素等 N 肥, 既增加了成本的投入, 同时又造成了 N 的损失。此外, N 源的急剧增加也会使非 PAHs 降解性的土著微生物大量繁殖, 不利于修复的进行。因此, 对修复植物接种相应根瘤菌成为解决该问题的有力手段。大多数豆科牧草植物(如苜蓿、三叶草等)都可以与相应的专性或兼性根瘤菌产生固 N 作用, 这些根瘤菌的接入, 无疑改善了土壤中 N 的供应, 同时也提高了植物的存活率和生物量, 进而改善降解微生物的生长条件, 共同提高对 PAHs 的降解效率。

此外, 采用堆肥方式处理污染土壤<sup>[45]</sup>, 或是接入其他一些功能微生物(如植物促生菌、磷细菌、钾细菌等)也可能直接或间接提高联合生物修复系统对 PAHs 的降解效率。

## 4 研究展望

利用植物和微生物功能的生物修复是国际土壤修复科学技术前沿研究的重要内容<sup>[46]</sup>。目前, PAHs 污染土壤的生物修复虽有一定的研究基础, 但大多是采取单一或几种简单的修复措施, 且现场修复效果不佳。多种修复措施相结合的联合生物修复工程技术形成了一个相对完整的修复系统, 在这种修复系统中, 以降解微生物为主的各种生物因素均是向着促进 PAHs 逐步消减的方向发展。这个系统也遵循一般生态系统的规律, 是一个动态的系统, 生物因素的组分越多, 其自身的调解、适应能力就越强, 在结合一系列促进该

修复系统的辅助管理手段和工程措施, 其必将产生强大的修复动力。在这样的系统中并不是依靠单一的修复措施(生物因素)去改变一个相对庞大的污染生态系统, 而是以一个具有强大生命力的多修复措施、多生物因素的动态修复系统去同化、净化污染生态系统。建立和健全这样一个生物修复系统需要开展多方面和多目标的研究工作, 包括:

(1) 建立和完善一套快速有效的 PAHs 降解微生物的筛选、分离、驯化等方法, 使之能够及时得到污染场地降解微生物的相关信息, 从而更好地利用土著微生物资源修复污染物;

(2) 筛选具有高富集和超积累或强降解 PAHs 能力的植物, 及与之相搭配的功能微生物;

(3) 筛选高分子量 PAHs 降解微生物(菌株和菌群)或基因, 应用分子生物学和基因工程技术构建高效且安全的土著性基因工程菌;

(4) 阐明土壤中不同 PAHs 的微生物和植物修复机理和途径, 明确各种生物体在不同 PAHs 降解过程中的作用, 使之更有针对性地利用功能生物体;

(5) 研究高分子量 PAHs 的根际微生物修复过程及其共代谢强化作用, 筛选共代谢底物, 建立根际土壤环境共代谢生物降解动力学及其预测模型;

(6) 建立与联合生物修复技术相配套的(田间)农艺管理措施及环境工程技术, 形成最优化的综合集成的现场生物修复技术与管理体系。

## 参考文献:

- [1] Weiling X, David W. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 206 (1): 73-93
- [2] Calder JA, Lader JH. Effect of dissolved aromatic hydrocarbons on the growth of marine bacteria in batch culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 1976, 32 (1): 95-101
- [3] Huang XD, Zeiler LF, Dixon DG, Greenberg BM. Photoinduced toxicity of pahs to the foliar regions of *Brassica napus* (Canola) and *Cucumis sativus* (Cucumber) in Simulated solar radiation. *ecotoxicology and Environmental Safety*, 1996, 35 (2): 190-197
- [4] 丁克强, 骆永明. 多环芳烃污染土壤的生物修复. *土壤*, 2001, 33 (4): 169-178
- [5] Andreoni V, Cavalca L, Rao MA, Nocerino G, Bernasconi S, Dell'Amico E, Colombo M, Gianfreda L. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, 2004, 57 (5): 401-412
- [6] 张杰, 刘永生, 梦玲, 邵立东, 张忠泽. 多环芳烃降解菌筛选及其降解特性. *应用生态学报*, 2003, 14 (10): 1783-1786
- [7] 周德平, 夏颖, 韩如旸, 闵航. 三株菲降解细菌的分离、鉴定

- 及降解特性的研究. 环境科学学报, 2003, 23 (1): 124-128
- [8] 扈玉婷, 任凤华, 周培瑾, 夏敏, 刘双江. 一株分离自新疆天池寡营养环境的糖丝菌(*saccharothrix* sp PYX-6)降解芘的特性. 科学通报, 2003, 48 (16): 1796-1800
- [9] 张从, 夏立江编著. 污染土壤的生物修复. 北京: 中国环境科学出版社, 2000
- [10] 张从, 沈德中, 韩清鹏, 赵紫娟. 水-硅油双相系统筛选分离多环芳烃降解菌. 环境科学学报, 2002, 22 (1): 126-128
- [11] Bastiaens L, Springael D, Wattiau P, Harms H, deWachter R, Verachtert H, Diels L. Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66: 1834-1843
- [12] 张小凡, 小柳津广志. 多环芳烃化合物菲分解菌的分离鉴定及分解特性研究. 上海环境科学, 2003, 228 (8): 544-547
- [13] Albert LJ, Ravendra N. Ioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. Int Biodeter. Biodegrad 2000, 45 (1/2): 57-88
- [14] Samanta SK, Singh OV, Jain RK. Polycyclic aromatic hydrocarbons: Environmental pollution and bioremediation. Trends in Biotechnology, 2002, 20 (6): 243-248
- [15] Hwang S, Cutright TJ. Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil. Chemosphere, 2002, 47 (9): 891-899
- [16] Tian L, Ma P, Zhong JJ. Kinetics and key enzyme activities of phenanthrene degradation by *Pseudomonas mendocina*. Process Biochemistry, 2002, 37 (12): 1431-1437
- [17] Ravelet C, Grosset C, Montuelle B, Benoit-Guyod JL. Liquid chromatography study of pyrene degradation by two micromycetes in a freshwater sediment. Chemosphere, 2001, 44 (7): 1541-1546
- [18] Ross DD, Moody J, Cerniglia CE. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 41 (1): 1-7
- [19] Tekere M, Read JS, Mattiasson B. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in extracellular fluids and static batch cultures of selected sub-tropical white rot fungi. Journal of Biotechnology, 2005, 115 (4): 367-377
- [20] Hiroshi H, Toshio O. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2003, 67 (2): 225-243
- [21] Sayler GS. Contribution of molecular biology to bioremediation. Journal of Hazardous Materials, 1991, 28 (1/2): 13-37
- [22] Takizawa N, Iida T, Sawada T, Yamauchi K, Wang YW, Fukuda M, Kiyohara H. Nucleotide sequences and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999, 87 (6): 721-731
- [23] Shen Y, Stehmeier LG, Voordouw G. Identification of hydrocarbon-degrading bacteria in soil by reverse sample genome probing. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64: 637-645
- [24] Barbosa AM, Dekker RFH, Hardy GES. 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
- [25] Cerniglia CE. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation, 1992 (3): 351-368
- [26] 巩宗强, 李培军, 王新, 张海荣, 张春桂, 李彬. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程. 生态学杂志, 2000, 19 (6): 40-45
- [27] Leadbetter ER, Foster JW. Oxidation products formed from gaseous alkanes by the bacterium *pseudomonas methanica*. Arch. Biochem. Biophys., 1959, 82 (2): 491-492
- [28] Jensen HL. Carbon nutrition of some microorganisms decomposing halogen substituted aliphatic acids. Acta Agriculturae Scandinavica, 1963, 13: 404-412
- [29] 沈德中编著. 污染环境的生物修复. 北京: 化学工业出版社, 2002
- [30] Mahaffey WR, Gibson DT, Cerniglia CE. Bacterial oxidation of chemical carcinogens: Formation of polycyclic aromatic acids from benz (a) anthracene. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54 (10): 2415-2423
- [31] Coates JD, Woodward J, Allen J, Philp P, Lovley DR. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63: 3589-3593
- [32] Grosser RJ, Warshewsky D, Robie VJ. Indigenous and enhanced mineralization of pyrene, benzo (a)-pyrene and carbazole in soils. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57: 3462-3469
- [33] 姜霞, 井欣, 高学晟, 区自清. 表面活性剂对土壤中多环芳烃生物有效性影响的研究进展. 应用生态学报, 2002, 13 (9): 1179-1186
- [34] Zhou WJ, Zhu LZ. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil-water system containing a nonionic surfactant. Chemosphere, 2005, 60 (9): 1237-1245
- [35] Lewis RF. Site demonstration of slurry-phase biodegradation of PAH contaminated. Air and Waste, 1993, 43: 503-508
- [36] Ambrosoli R, Petruzzelli L, Luis MJ, Ajmone MF. Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions. Chemosphere, 2005, 60 (9): 1231-1236
- [37] Mueller JG, Chapman PJ, Pritchard PH. Action of a fluoranthene-utilizing bacterial community on polycyclic

- aromatic hydrocarbon components of creosote. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989, 55 (12): 3085-3090
- [38] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 宋静, 吴龙华, 邢维芹, 李振高, 陶澍. 黑麦草对土壤中苯并[a]芘动态变化的影响. *土壤学报*, 2004, 41(3): 348-353
- [39] 邢维芹, 骆永明, 李立平, 刘世亮, 丁克强. 持久性有机污染物的根际修复及其研究方法. *土壤*, 2004, 36 (3):258-263
- [40] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 曹志洪. 土壤中有机污染物的植物修复研究进展. *土壤*, 2003, 35 (3): 187-192
- [41] Gunther T, Dornberger U, Fritsche W. Effect of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 1996, 33 (2): 203-215
- [42] 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
- [43] 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[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
- [44] 平立凤, 骆永明. 有机质对多环芳烃环境行为影响的研究进展. *土壤*, 2005, 37 (4): 362-369
- [45] Ding KQ, Luo YM, Sun TH, Li PJ. Bioremediation of soil contaminated with petroleum using forced-aeration composting. *Pedosphere*, 2002, 12 (2): 145-150
- [46] 骆永明, 滕应, 过园. 2005. 土壤修复—新兴的土壤科学分支学科. *土壤*, 37 (3): 230-235

### Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil Environment and Combined Bioremediation of PAHs Contaminated Soils

ZOU De-xun<sup>1,2,3</sup>, LUO Yong-ming<sup>1,2</sup>, XU Feng-hua<sup>3</sup>, TENG Ying<sup>1,2</sup>, LI Zhen-gao<sup>1,2</sup>

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

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

3 Resources and Environment College, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030 )

**Abstract:** Biodegradation of persistent organic pollutants in soils and bioremediation of the contaminated soils are internationally hot topics in the frontier field of environmental remediation science and technology. This review focused on PAHs degrading microorganisms, and microbial degradation mechanisms, and their application to bioremediation. In addition, prospects were discussed of exploitation and application of combined bioremediation engineering and technology for PAHs contaminated soils.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Biodegradation, Combined bioremediation, Contaminated soils