

微生物降解石油源多环芳香烃的研究进展^①

申国兰¹, 李利², 陈莎^{2*}

(1 长江大学地球科学学院, 武汉 430100; 2 长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434025)

摘要: 石油源多环芳香烃是存在于石油中的一类致畸、致癌污染物, 具有以低环 (2 ~ 3 环) 为主且取代基比例明显高于其他来源 PAHs 的组分特征。石油泄露引发的 PAHs 污染, 其降解主要依赖于微生物的活动。本文对能够降解 PAHs 的微生物种类、降解机理、代谢途径及编码基因进行了概述。从 PAHs 作为碳源的角度将微生物降解机理划分为能以 PAHs 为唯一碳源进行生长的降解机理和共代谢机理。对与 PAHs 有关的好氧和厌氧微生物降解途径及对应的编码基因簇进行了总结。自然界中细菌、放线菌、真菌及藻类都能够降解 PAHs, 由加氧酶催化的苯环羟基化和还原酶介导的苯环脱芳烃化是好氧和厌氧降解途径的关键步骤, 与降解有关的 *pca*, *cat*, *paa*, *nah*, *nah-like* 和 *bcr* 基因簇则分别调控好氧和厌氧降解过程。这些进展有助于系统了解石油源 PAHs 的降解过程、微生物作用机理和分子遗传机制, 为进一步利用微生物促进环境生物修复提供理论依据。

关键词: 石油源多环芳香烃; 微生物降解; 机理; 代谢途径; 基因

中图分类号: X53 文献标识码: A

石油是一种含有多种烃类及少量其他有机物的复杂混合物。根据烃类结构特点和成分, 可以将石油中的烃类物质分为饱和烃、芳香烃、非烃和沥青质 4 种组分^[1-2]。石油芳香烃物质中以多环芳香烃 (PAHs) 对环境污染威胁最大。PAHs 是指两个或两个以上的苯环以线性、弯接或簇聚方式构成的一类化学结构稳定、难于降解的烃类化合物, 其中 4 环以上的 PAHs 容易被土壤或生物体富集而产生毒性, 严重威胁到人类健康及生物安全^[3-4]。PAHs 有多种来源, 不同来源的 PAHs 在组分特征上有所差异。石油来源的 PAHs 以 2 ~ 3 环为主, 而煤炭、汽油、木材、天然气等燃料不完全燃烧产生的 PAHs 以 4 ~ 6 环为主^[5-6]。另外, 石油来源的 PAHs 取代基比例明显高于其他来源的 PAHs, Buddziński 等^[7]发现石油中的单甲基菲含量明显高于未取代菲, 而燃料燃烧产生的 PAHs 中单甲基和二甲基取代物的含量远远小于未被取代的化合物。

石油来源的 PAHs 一旦进入自然环境后, 光照、雨水淋滤、挥发和微生物降解等环境因素会引发降解, 这种降解行为类似于环境的自我净化修复。但是微生物对石油源 PAHs 具有选择性, Lamberts 等^[8]分离得到的 29 株菌株中有 11 株能够利用甲基菲, 并发

现其中仅有 1 株鞘氨醇单胞菌能够降解 1-甲基菲和 2-甲基菲, 其他鞘氨醇单胞菌只能降解 1-甲基菲。具有取代基的 PAHs 在降解开始时取代基团先被氧化, Nadali 等^[9]分析了 2-甲基菲和 9-甲基菲的微生物降解产物, 发现 2-甲基菲生成 2-羟甲基菲和 2-菲甲醛, 推测甲基基团的氧化是降解开始的第一步。取代基团氧化后经过脱甲基化变成单体 PAHs, 后续的降解过程与 PAHs 单体的降解途径一致。Novaković 等^[10]发现微生物修复后的土壤中单体菲/甲基菲的比例显著升高, 可能原因是微生物细胞表面的“活性中心”与甲基基团相互作用促使甲基菲的脱甲基化。本文在前人研究的基础上对能降解 PAHs 的微生物种类、降解机理、降解途径及调控基因等方面展开综述, 以期对石油来源的 PAHs 降解研究提供帮助。

1 降解 PAHs 化合物的微生物种类

微生物降解是去除环境中 PAHs 的最主要途径^[11]。能够降解 PAHs 的微生物有细菌、放线菌、真菌和藻类^[12], 其中细菌中常见有红球菌 (*Rhodococcus*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、棒杆菌 (*Corynebacterium*)、微球菌 (*Micrococcus*)、产碱杆菌 (*Alcaligenes*)、分

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501453)资助。

* 通讯作者(chensuo9803@126.com)

作者简介: 申国兰 (1983—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事地质环境生态学方面研究。E-mail: 270968223@qq.com

支杆菌(*Mycobacterium*)以及鞘脂菌(*Sphingobium*)等;放线菌常见的是诺卡氏菌(*Nocardia*);PAHs 降解真菌又分为木质素降解真菌和非木质素降解真菌,木质素降解真菌常见有平革菌(*Phanerochaete*)、侧耳(*Pleurotus*)、云芝(*Trametes*)等;非木质素降解真菌常见有青

霉(*Penicillium*)、曲霉(*Aspergillus*)及小银克汉霉(*Cunninghamella*)等。部分藻类也具有 PAHs 降解能力,已经报道的有阿格门氏藻(*Agmenellum*)、颤藻(*Oscillatoria*)、栅藻(*Scenedesmus*)及月牙藻(*Selenastrum*)等(表 1)。

表 1 降解 PAHs 的微生物菌株及其底物
Table 1 PAHs-degrading strains and their degradation substrates reported in literatures

属名	菌株	PAHs	文献	
细菌	红球菌属(<i>Rhodococcus</i>)	P14、UW1	菲、芘、苯并芘、蒽、荧蒽、屈、芴、苯并蒽	[13-15]
	假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)	PB1、P2、VUN10、003	萘、屈、芴、芘、菲、苯并芘、苯并蒽	[16-18]
	棒杆菌属(<i>Corynebacterium</i>)		萘、菲、芘	[19-20]
	微球菌属(<i>Micrococcus</i>)		萘、菲、荧蒽、芘	[21]
	产碱杆菌属(<i>Alcaligenes</i>)	AFS-5、PPH	芘、屈、菲	[22-24]
	分支杆菌属(<i>Mycobacterium</i>)	JS19b1 ^T 、JS14、RJG-135、PYR-1	菲、芘、芴、荧蒽、蒽、苯并芘、苯并蒽	[25-31]
	鞘脂菌属(<i>Sphingobium</i>)	PNB、KK22、C100、FB3、LD29	萘、2-甲基萘、菲、芘、芴、芘、蒽、荧蒽、芘、芘、苯并蒽、苯并芘	[32-36]
放线菌	诺卡氏菌属(<i>Nocardia</i>)	TSH1、TRH1	萘、菲、芘、蒽	[37-38]
真菌	青霉属(<i>Penicillium</i>)	SFU403	蒽、苯并芘、芘	[39-41]
	曲霉属(<i>Aspergillus</i>)		苯并蒽、茚并芘、菲、芘	[42-43]
	小克银汉霉属(<i>Cunninghamella</i>)	IM1785/21Gp	菲、7 甲基苯并蒽、7 羟基苯并蒽、芘	[44-46]
	平革菌属(<i>Phanerochaete</i>)	HHB1625	苯并蒽、蒽、芘、菲	[47-49]
	侧耳属(<i>Pleurotus</i>)	ATCC38540、HP-1	萘、芘、菲、荧蒽、屈、芘、苯并蒽、苯并芘、蒽、苯并芘、茚并芘	[50-52]
	云芝属(<i>Trametes</i>)		芴、蒽、芘、芘	[53]
藻类	阿格门氏藻属(<i>Agmenellum</i>)	BG-1	萘	[54]
	颤藻属(<i>Oscillatoria</i>)	JCM	萘	[55]
	栅藻属(<i>Scenedesmus</i>)	ES-55	菲	[56]
	月牙藻属(<i>Selenastrum</i>)		菲、荧蒽、芘	[57]

2 能够以 PAHs 作为唯一碳源的微生物降解机理

2.1 细菌的降解机理

2.1.1 好氧细菌 细菌降解芳香烃化合物根据降解环境的氧气含量可以分为有氧降解和无氧降解。在双加氧酶作用下 PAHs 的羟基化是有氧降解的主要途径。邻位或间位引入羟基形成反式-二氢-二羟基化合物,提高芳香环活性,然后继续氧化直至芳香环破裂生成不饱和的直链脂肪酸^[58],后续的降解进入 PAHs 中心降解途径与三羧酸循环中间产物相连^[59]。以菲为例,菲是石油污染后在环境中存在量最大的 PAHs 之

一。细菌有氧降解菲存在多种不同的开环方式,根据加氧酶作用位点不同,菲一般在 1,2 位、3,4 位和 9,10 位开环(图 1)^[31, 60-61]。细菌中不同的菌株对应有一条或多条代谢途径。节杆菌 *Arthrobacter* sp. P1-1 和分支杆菌 *Mycobacterium aromativorans* JS19b1^T 有 3 条降解菲的途径,分别从 1,2 位、3,4 位和 9,10 位开环^[25, 61]。伯克氏菌 *Burkholderia* sp. C3 降解菲有两条途径,分别从 1,2 位和 3,4 位开环^[60]。分支杆菌 *Mycobacterium* sp. Strains PYR-1、马特尔氏菌 *Martellella* sp. AD-3 降解菲也有两条途径,但是分别从 3,4 位和 9,10 位开环^[62-63]。假单胞菌 *Pseudomonas putida* NCIB 9816、鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* sp. PheB4 中菲仅

有 3,4 位开环一条途径^[64-65]。菲 1,2 位和 3,4 位环裂解有着共同的中间产物 1,2-二羟基萘, 该产物对应有两条降解途径。对于能够利用萘的细菌, 1,2-二羟基萘转变

成水杨酸后经过龙胆酸途径降解, 而不能利用萘的细菌, 1,2-二羟基萘通过原儿茶酸途径降解(图 1)。菲也可以在 9,10 位形成二羟基, 继而生成 2,2'-联苯二酸。

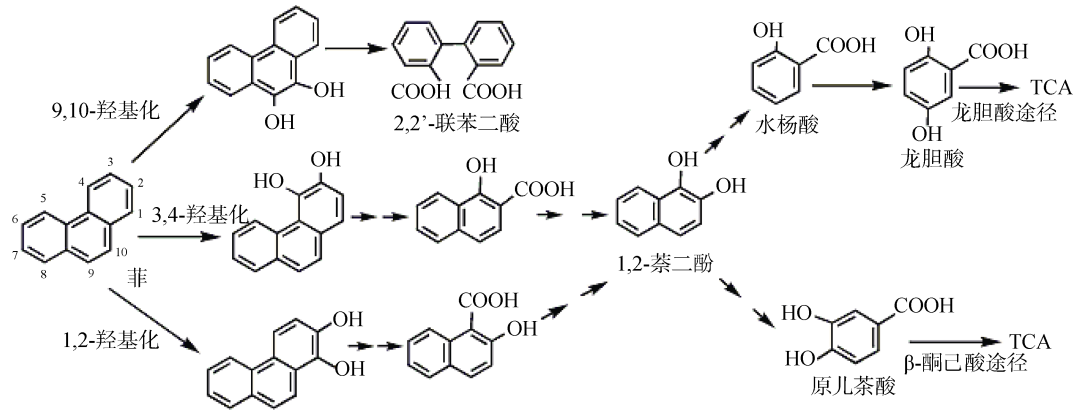


图 1 菲好氧降解的可能途径^[31, 60-61]

Fig.1 Proposed pathways for aerobic degradation of phenanthrene

2.1.2 厌氧细菌 厌氧细菌降解 PAHs 的起始步骤主要涉及羧基化和甲基化(图 2)。以萘为例, 萘在厌氧环境中两条降解途径, 一条通过甲基化在 2 号位加上甲基, 形成 2-甲基萘; 另一条通过羧基化也在 2 号位加上羧基生成 2-萘甲酸。甲基化和羧基化产物进一步降解需要辅酶的参与(琥珀酰辅酶 A 或辅酶 A), 再经过还原酶作用生成烯酰辅酶 A, 烯酰辅酶 A 在水合酶作用下与辅酶 A 相连的芳香环被打开, 后者经过类似于 β -氧化的步骤进一步完全降解为乙酰辅酶 A 和 CO_2 , 具体的降解过程见图 2^[66]。研究发现 PAHs 的完全降解过程中, 多种厌氧菌参与其中发挥着不同的作用。TSAI 等^[67]发现硫酸盐降解菌会将芴和菲厌氧降解成共同的中间产物苯酚。Fang 等^[68]发现脱硫肠状菌属 (*Desulfotomaculum*) 和梭菌属 (*Clostridium*) 在厌氧条件下将苯酚转化为苯甲酸盐, 互养菌 (*Syntrophus*) 能够进一步将苯甲酸盐降解为乙酸盐、 H_2 和 CO_2 , 产甲烷菌 (*Methanogens*) 最后将乙酸盐、 H_2 和 CO_2 转化为甲烷。

2.2 真菌降解 PAHs 机理

2.2.1 木质素降解真菌 自然界中有一类能够分泌木质素降解酶系(木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶)的真菌, 这些分泌到细胞外的非特异性酶作用底物范围广, 能够降解包括 PAHs 在内的多种有机污染物, 是真菌降解 PAHs 的独特机制^[69]。有机物的存在能够诱导激活过氧化物酶和漆酶从而降解 PAHs, 例如在白腐真菌中添加草酸、丙二酸发现木质素过氧化物酶的含量升高, 含锰的有机物能够刺激锰过氧化物酶活性提升。木质素降解酶能够在 PAHs

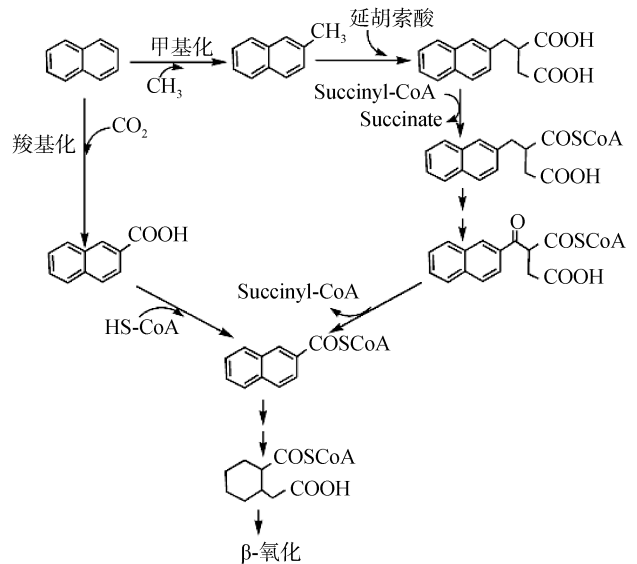


图 2 萘的厌氧降解过程^[66]

Fig. 2 Proposed pathways for anaerobic degradation of naphthalene

特定位点引入羟基。糙皮侧耳 (*Pleurotus ostreatus*) 降解菲是从 9,10 位点形成二氢二醇, 然后生成 2,2'-联苯二酸, 最终降解为 CO_2 , 这个过程与好氧细菌降解菲中的 9,10 位点裂解途径非常相似^[70-71]。

2.2.2 非木质素降解真菌 有些真菌除了分泌过氧化物酶系和漆酶外, 还可以产生类似细胞色素 P450 单加氧酶的酶系降解 PAHs。PAHs 在细胞色素 P450 单加氧酶的作用下首先形成不稳定的芳烃氧化产物, 然后在环氧化物酶作用下转变成为反式-二氢二醇或者酚类物质, 继续转化为 *O*-葡萄糖苷、*O*-葡萄糖醛酸苷、*O*-硫酸酯、*O*-木糖苷及 *O*-甲基进一步分解(图 3)^[72]。细胞色素 P450 单加氧酶对于不同 PAHs 的起

始作用位点各异。糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)中细胞色素 P450 单加氧酶的酶系降解芘和蒽分别生成反式-4,5-芘二醇和反式 1,2-蒽二醇、9,10-蒽二醇,但催化芘则在脂肪桥上羟基化和酮基化,生成 9-芘醇和 9-芘酮^[73]。

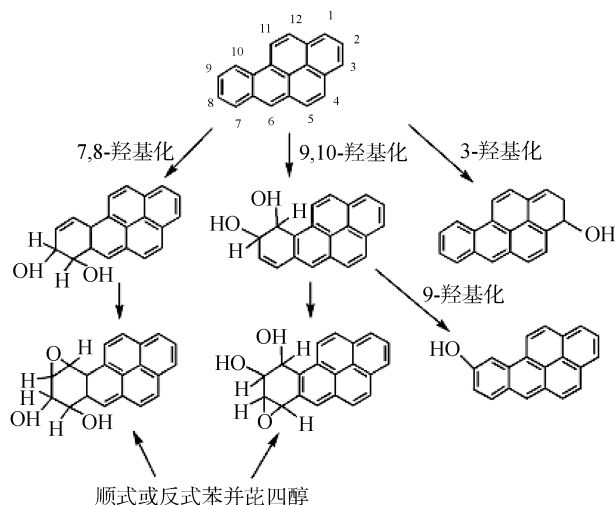


图 3 非木质素降解真菌降解苯并芘的可能途径^[72]

Fig. 3 Proposed pathways for degradation of BaP by non-ligninolytic fungi

2.3 放线菌降解 PAHs 的机理

放线菌降解 PAHs 的机理与好氧细菌相似。以苯并芘为例,苯并芘有多种起始羟基化位点(图 4)。Schneider 等^[28]分离得到了 4,5-屈二羧酸,推测分支杆菌(*Mycobacterium* sp. strain RJG -135)中双加氧酶作用于苯并芘的 4,5-位点。分支杆菌(*Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1)降解苯并芘最初从 4,5-, 9,10-, 11,12-位点开始羟基化^[30]。*M. vanbaalenii* PYR-1 在苯并芘 11,12 羟基化生成顺式和反式-11,12-二氢-11,12-二羟基苯并芘,推测 *M. vanbaalenii* PYR-1 可能同时存在双加氧酶和单加氧酶^[30]。

2.4 藻类降解 PAHs 的机理

藻类降解 PAHs 的起始步骤也涉及羟基化。Cerniglia 等^[54]将阿格门氏藻(*Agmenellum*)接入 C14 标记的含萘培养基上,发现可以将萘转化为 1-萘酚,而且检测到 1,2-二羟基-1,2-二氢萘的存在,说明萘的降解涉及羟基化。Safonova 等^[56]研究栅列藻(*Scenedesmus*)降解菲的代谢产物时也检测到了 1,2-二羟基-1,2-二氢菲。Chan^[57]认为藻降解 PAHs 有单加氧酶和双加氧酶的参与,该研究利用月牙藻(*Selenastrum*)降解含菲、荧蒽及芘的混合物,发现 4 d 内该藻可以降解 96% 菲、100% 荧蒽和 100% 芘。分析降解产物发现了 4 种不同的单羟基菲和 3 种羟基

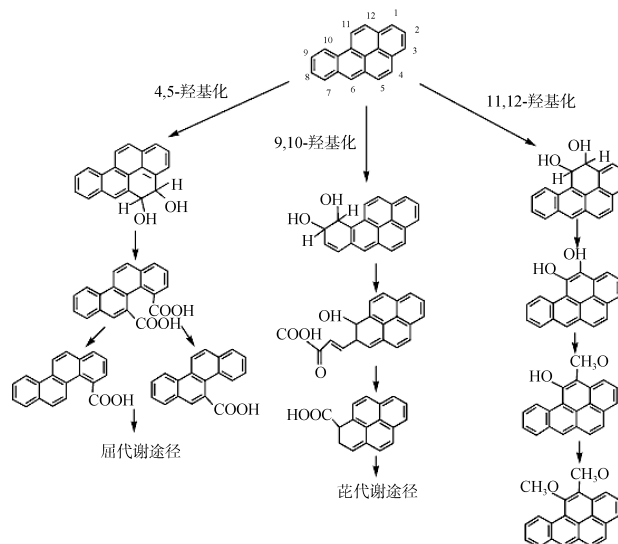


图 4 放线菌降解苯并芘的可能途径^[30]

Fig. 4 Proposed pathways for degradation of BaP by actinomycetes

化的荧蒽和芘产物,分析单羟基产物的出现由单加氧酶途径产生。同时产物中也检测到了 2 种二羟基菲,推测双加氧酶同时参与了降解过程。

3 不能以 PAHs 为唯一碳源的(共代谢)降解机理

共代谢现象最早是 Leadbetter 和 Foster^[74]在甲烷假单胞菌(*Pseudomonas methanica*)中发现的,该菌不能利用乙烷、丙烷和丁烷作为碳源生长,但是添加外加碳源甲烷后该菌能够氧化上述 3 种碳源。Leadbetter 和 Foster 将此现象称之为共氧化(Co-oxidation),认为在生长基质(甲烷)存在的情况下,在微生物的作用下非生长基质(乙烷、丙烷和丁烷)发生氧化。随后, Jesnsen^[75]提出用共代谢(Co-metabolism)的概念来替代共氧化,认为在生长基质存在时,微生物对非生长基质的转化不仅有氧化,还有还原作用,都应该属于代谢的范畴。现在 PAHs 共代谢是指在外加碳源情况下,难生物降解的 PAHs 有可能被微生物转化甚至完全降解^[76]。Gibson 等^[77]发现尽管 *Beijernickia* strain B-836 不能利用苯并芘作为碳源生长,但是有琥珀酸和联苯的存在下,能够将苯并芘氧化生成二氢二醇化合物。另外,有研究报道某些真菌能够利用 PAHs 作为生长碳源,但是添加某些有机物后 PAHs 降解效率显著提高,这些研究把它归结为共代谢^[78]。微生物以共代谢方式降解 PAHs 可能有以下几种原因: 缺少进一步降解的酶系。当某种易降解物加入后,微生物在代谢易降解物过程中诱导产生某种专一性较差的酶,这种酶的作用导致了 PAHs 的降解。缺少这类

酶时,降解反应无法继续进行。由于中间产物的抑制。需要另外的基质诱导代谢酶或提供细胞反应中不能充分供应的物质^[79]。有研究认为土壤中微生物代谢产生的多酚氧化酶参与了共代谢降解 PAHs 的过程,刘世亮等^[80]发现,当苯并芘加入土壤 7 d 后,加有共代谢底物的组分(水杨酸、邻苯二甲酸、琥珀酸钠)中多酚氧化酶活性明显高于对照组,到第 35 天,加有水杨酸和琥珀酸钠的处理组多酚氧化酶活性明显高于其他 2 个处理,与土壤中苯并芘的降解率相一致。

4 微生物降解 PAHs 的途径及其调控基因

PAHs 的微生物降解是复杂的降解过程,好氧细菌及真菌分解依靠加氧酶等一系列酶催化 PAHs 生成一些关键中间代谢物(原儿茶酸、水杨酸、龙胆酸、邻苯二酚)^[81]。厌氧细菌则借助硫酸盐、硝酸盐、甲烷等电子受体将 PAHs 逐步降解为苯甲酸盐。这些中间产物再通过相应的降解途径彻底分解。目前已知的中间产物主要有邻苯二酚、3,4-二羟基苯甲酸、龙胆酸(1,5-二羟基苯甲酸)、1,2,4-苯三酚、6-氯-1,2,4-苯三酚、对苯二酚、氯代对苯二酚、苯甲酰辅酶 A 等,这些物质主要通过 β -酮己二酸途径、苯乙酸途径和龙胆酸途径以及苯甲酰辅酶 A 途径等进行降解^[82]。

4.1 β -酮己二酸途径及其调控基因

β -酮己二酸(ketoadipate)途径(邻位裂解途径)是芳香烃降解的一条重要途径,好氧细菌和真菌中都具有这条降解途径。该途径有邻苯二酚和原儿茶酸(3,4-二羟基苯甲酸)两个中间产物,对应着两条并行的降解支路,两条支路分别通过邻苯二酚 1,2-双加氧酶和原儿茶酸 3,4-双加氧酶在邻位羟基位点将芳香环打开,然后经过异构、脱羧形成共同的代谢中间产物 β -酮己二酸烯醇内酯,再经过水解、辅酶 A 转移、疏解等步骤生成了乙酰辅酶 A 和琥珀酰辅酶 A。 β -酮己二酸途径主要是受 *pca* 和 *cat* 基因簇调控,其中 *pca* 基因簇(调控原儿茶酸支路)存在于考克氏菌属(*Kocuria* spp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)、棒杆菌属(*Corynebacterium* spp.)、链霉菌属(*Streptomyces* spp.)、红球菌属(*Rhodococcus* spp.)及假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)的一些菌株^[83-87]。*pca* 基因簇数量不同种属的细菌中有所区别,即使相同属的细菌 *pca* 基因簇数量也有不同。考克氏菌 *K. rhizophila* DC2201、不动杆菌 *Acinetobacter* sp. ADP1、新月柄杆菌 *C. crescentus* 只有一个单独的 *pca* 基因簇,而 *Rhodococcus* sp. strain RHA1 存在两个 *pca* 基因簇,分别由两个不同的操纵子调控(*pca*II 和 *pca*H-

GBLRF), *P. putida* KT2440 中存在 3 个 *pca* 基因簇(*pca*RKFTBDGP、*pca*II 和 *pca*GH)^[83,87-91]。多个 *pca* 基因簇有可能分布在一个染色体上,也有可能分布于不同染色体,*P. putida*、*P. syringae* 和 *P. aeruginosa* 中多个 *pca* 基因簇分布在两条不同染色体,而 *P. fluorescens* 中 *pca* 基因簇则分布在一条染色体上^[87]。*cat* 基因(调控邻苯二酚支路)多集中在一个基因簇上^[90],但 *P. putida*、*P. fluorescens*、*R. metallidurans* 中 *cat* 有多个基因簇,且分布在不同染色体上^[87]。*cat* 基因簇中 *catR* 是转录调控子,调控相邻 *cat* 基因的转录表达。节细菌属中 *catR* 是 LysR 型转录调控子,通过 *cis*、*cis*-粘康酸诱导激活相邻基因的转录,而红球菌中 *catR* 是 IclR 型调控子,控制原儿茶酸的代谢调控^[92-94]。

4.2 苯乙酸途径(PAA)及其调控基因

作为该途径的中间代谢产物苯乙酸没有采取脂肪烃降解方式降解为苯甲酸进入 β -酮己二酸途径,而是先连接上辅酶 A,形成苯乙酰辅酶 A,然后在芳香环 2,3 位上引入羟基形成顺式-二氢二醇,再经过环裂解、水合、氧化硫酯、脱氢步骤分解为乙酰辅酶 A 和琥珀酰辅酶 A,进入 TCA 循环。苯乙酸途径受 *paa* 基因簇调控。*paa* 基因簇的数量在不同种属中有所不同,红球菌 *R. erythropolis* PR4 和假单胞菌 *P. putida* KT 2440/U 中有两个 *paa* 基因簇,而链霉菌 *S. coelicolor* A3 中 *paa* 基因簇数量超过 3 个^[82]。*R. jostii* RHA1、*R. erythropolis* PR4 及 *P. putida* KT 2440/U 菌株中 *paa* 基因簇中均含有两个连续的核心功能区域:*paa*GHIJK(编码芳香环羟基化)和 *paa*ABC(编码 β -氧化)。多个 *paa* 基因簇在染色体上的位置不一定连续。*R. erythropolis* PR4 的两个 *paa* 基因簇为连续分布,而 *R. jostii* RHA1 的 *paa* 基因簇则存在 2.6 kb 的间隔,*S. coelicolor* A3 也有类似情况出现^[82]。

4.3 龙胆酸途径(GEN)及其调控基因

Pseudomonas sp. Strain U2 菌株中萘被降解为水杨酸后没有转化为儿茶酚为进入 β -酮己二酸途径,而是继续被氧化为龙胆酸,在龙胆酸 1,2-双加氧酶催化开环,通过后续代谢进入 TCA 循环,这条途径被称为龙胆酸途径^[95]。许多 PAHs 在分解过程中产生的萘、水杨酸、3-羟基苯甲酸和邻氨基苯甲酸等产物都可以通过龙胆酸途径转变为丙酮酸和延胡索酸,进入 TCA 循环^[96]。该途径受 *nah* 基因簇的调控,假单胞菌 *P. putida* G7 的 NAH7 质粒中 *nah* 基因簇上游操纵子(*nah*AaAbAcAdBFCQED)负责编码由萘转为水杨酸的酶系,下游操纵子(*nah*GTHINLOMKJXY)负责

编码水杨酸转变为丙酮酸和乙醛，操纵子 *nahR* 处于上、下游操纵子之间，是调节基因，调节上、下游操纵子的表达，水杨酸可以诱导激活 *nahR*，导致 *nah* 基因簇的高效表达^[97]。假单胞菌属的不同菌中均存在下游操纵子的部分序列(*nahTHINLOMKJ*)^[98]。

另外，在不同种属的菌株中还发现一些基因与 *P. putida* G7 的 NAH7 质粒中 *nah* 基因簇非常相似，且高度保守，因此通常被称为“经典的 *nah-like* 基因”。这些编码降解 PAHs 关键酶的基因有的位于质粒上，有的位于染色体上，如 *P. putida* NCIB9816 质粒中 *ndo* 基因簇 *ndoABC*，*Pseudomonas* sp. strain C18 菌株中的 *dox* 基因簇 *doxABDEFGHIJ*，*P. putida* OUS82 染色体中的 *pah* 基因簇 *pahAaAbAcAdBFCQED* 和 *P. aeruginosa* PaK1 菌株中的 *pah* 基因簇 *pahA1-A2A3A4BFCQED* 以及 *P. stutzeri* AN10 菌株中的 *nah* 基因簇 *nahAaAbAcAdBFCED* 与 *P. putida* G7 的 NAH7 质粒中 *nah* 基因簇非常相似^[99-103]。

4.4 苯甲酰辅酶 A 降解途径及其调控基因

Tsai 等^[68]发现硫酸盐降解菌会将芴和菲厌氧降解成共同的中间产物苯酚。Fang 等^[68]发现脱硫硫状菌属(*Desulfotomaculum*)和梭菌属(*Clostridium*)在厌氧条件下将苯酚转化为苯甲酸盐。PAHs 的厌氧降解又需要辅酶的参与，因此推测苯甲酰辅酶 A 是 PAHs 厌氧降解的中间产物。苯甲酰辅酶 A 的完全降解又

分为上游降解途径和下游降解途径(图 5)。上游降解途径是指从苯甲酰辅酶 A 经过一系列酶促反应催化降解为 7-羧基-庚酰辅酶 A 的过程，整个上游降解途径可分为两个重要的降解步骤：一是脱芳烃化，脱芳烃化是指苯甲酰辅酶 A 在 ATP 和 H 供体的存在下，被苯甲酰辅酶 A 还原酶(BCR)催化下生成 1,5 环己二烯酰辅酶 A。二是在 1,5 环己二烯酰辅酶 A 水合酶、脱氢酶和水解酶的作用下生成 7-羧基-庚酰辅酶 A 或 3-羟基-7-羧基-庚酰辅酶 A，这个过程类似 β -氧化过程(图 5 中的 a、b)^[104]。苯甲酰辅酶 A 降解途径涉及到众多降解基因或基因簇，其中兼性厌氧菌编码苯环脱芳烃化的苯甲酰辅酶 A 还原酶(BCR)在陶厄氏菌(*T. aromatica*)中已经研究得比较清楚，该 BCR 酶由 $\alpha\beta\gamma\delta$ 四聚体组成，分别由 *bcrABCD* 基因编码。BCR 酶有两个功能不同的结构域：由 *bcrAD* 编码的 $\alpha\delta$ 亚基上有两个 ATP 结合位点和铁硫聚合物的电子结合位点； $\beta\gamma$ 亚基由 *bcrBC* 编码，起到结合一个苯甲酰辅酶 A 和协调铁硫聚合物的作用^[105-107]。磁螺菌属(*Magnetospirillum* spp.)的不同菌株中编码 BCR 酶的基因也有与陶厄氏菌(*T. aromatica*)相似的基因簇^[108-109]。红假单胞菌(*R. palustris*)中分离得到的 BCR 也由 $\alpha\beta\gamma\delta$ 四聚体组成，由 *badFEDG* 基因编码，但 *bad* 基因编码的产物氨基酸序列与 *bcr* 基因只有 64%~76% 的相似性^[109-110]。固氮弧菌属(*Azoarcus evansii*)

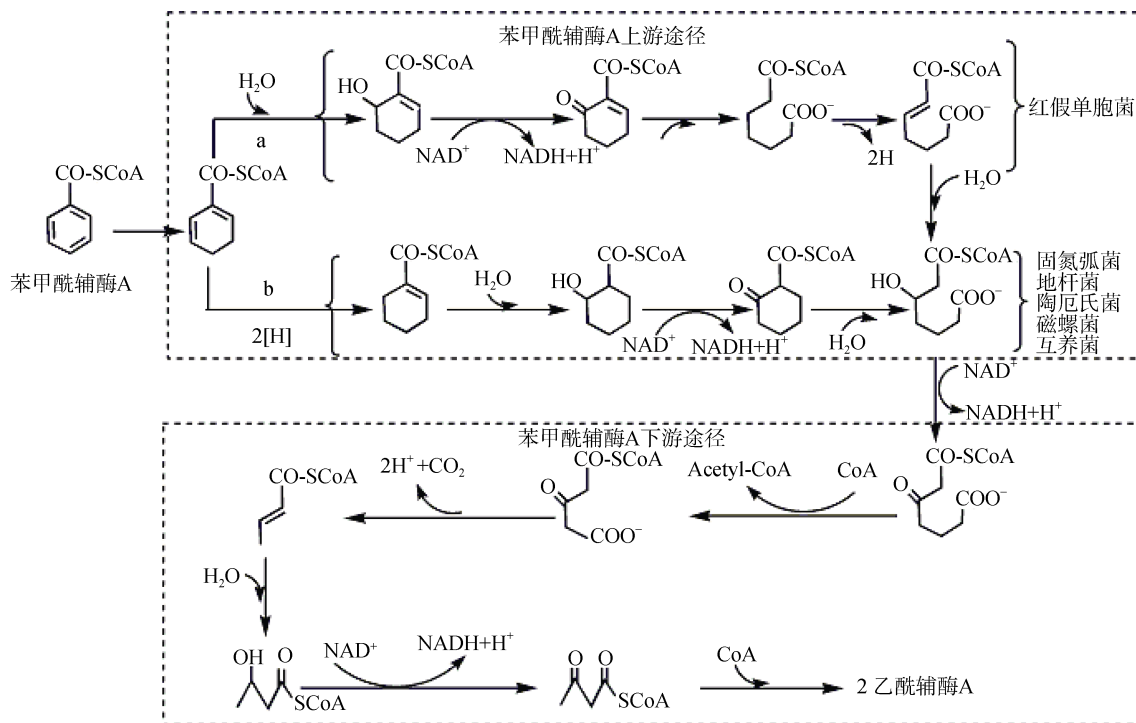


图 5 苯和苯乙酰辅酶 A 的厌氧降解途径^[104]

Fig. 5 Proposed pathways for anaerobic degradation of benzene and acetyl coenzyme A

中 BCR 四聚体由 *bzdQONP* 基因编码与 *bad* 和 *bcr* 基因产物仅有 22%~43% 的相似性^[111]。专性厌氧菌有着与兼性厌氧菌不同的脱芳烃化酶系,研究已经证实专性厌氧菌中互养菌(*Syntrophus aciditrophicus*)和地杆菌(*Geobacter metallireducens*)缺乏兼性厌氧菌中典型的 BCR 结构^[112-113]。地杆菌(*G. metallireducens*)中 *bamBCDEFGHI* 基因簇编码苯甲酰辅酶 A 脱芳烃化的酶系,互养菌(*S. aciditrophicus*)中编码苯甲酰辅酶 A 脱芳烃化的酶系也由 *bamBCDEFGHI* 基因簇控制,两个基因簇有高度相似性(氨基酸水平 > 50% 相似性)^[113]。

苯甲酰辅酶 A 下游降解途径是指从 7-羧基-庚酰辅酶 A 或 3-羟基-7-羧基-庚酰辅酶 A 开始经过一系列酶促反应最终降解为乙酰辅酶 A 和 CO₂ 的过程。固氮弧菌属(*A. evansii*)、地杆菌(*G. metallireducens*)、陶厄氏菌(*T. aromatica*)、磁螺菌属(*Magnetospirillum* spp.)、互养菌(*S. aciditrophicus*) 中苯甲酰辅酶 A 经过酶促反应苯环开链生成 3-羟基-7-羧基-庚酰辅酶 A, 而红假单胞菌(*R. palustris*)的产物为 7-羧基-庚酰辅酶 A, 在脱氢酶和水合酶的作用下, 7-羧基-庚酰辅酶 A 羟基化生成 3-羟基-7-羧基-庚酰辅酶 A。在有 NAD⁺ 存在下, 3-羟基-7-羧基-庚酰辅酶 A 被还原生成 3-羧基-7-羧基-庚酰辅酶 A, 然后在 CoA 参与下脱去 1 分子乙酰辅酶 A 生成 5-羧基-戊二酰辅酶 A, 在戊二酰辅酶 A 脱氢酶作用下脱去 2H⁺ 和 1 CO₂ 生成巴豆酰辅酶 A(丁烯酰辅酶 A), 在 3-羟基丁酰辅酶 A 脱氢酶和 1 H₂O 催化下生成 3-羟基丁酰辅酶 A, 在脱氢酶的作用下最终降解生成 2 分子乙酰辅酶 A^[104]。

5 展望

伴随着经济全球化的进程,石油及其产品已经遍及全球各个角落。石油及其产品的开采、炼制、储运和使用都可能会产生 PAHs。PAHs 具有高度稳定性、耐降解性和环境毒性,给生态环境及人类生活带来极大的威胁。利用微生物降解因石油泄露残留在环境中的 PAHs 是绿色、安全、低耗能的办法,已经成为了世界性的研究课题,相关研究已经在不同微生物中 PAHs 的降解途径、功能酶系、编码基因及信号调控方面展开,其中单环芳香烃的开环、好氧降解途径以及相关的编码基因已经研究得比较清楚,低分子量(≤3 环)的 PAHs 好氧降解机理、代谢途径以及编码基因也逐渐明了,高分子量(≥4 环)PAHs 的微生物降解尽管已成为当前研究热点,但相关降解途径及编码基因还不甚清楚。另外,PAHs 的厌氧降解途径的了

解还十分有限,厌氧降解途径的相关基因以及调控机理已经成为目前的研究热点。与细菌相比,真菌特别是非木质素降解真菌对 PAHs 降解的机理目前也不清楚,这方面的研究也逐渐开始成为未来 PAHs 降解的研究方向之一。

参考文献:

- [1] 张从, 夏立江. 污染土壤生物修复技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2000: 246-273
- [2] 苏荣国, 牟伯中, 王修林, 等. 微生物对石油烃的降解机理及影响因素[J]. 化工环保, 2001, 21(4): 205-208
- [3] Ravindra K, Sokhi R, Van Grieken R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation[J]. Atmospheric Environment, 2008, 42(13): 2895-2921
- [4] Ma L L, Chu S G, Wang X T, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soils from outskirts of Beijing, China[J]. Chemosphere, 2005, 58(10): 1355-1363
- [5] Readman J W, Filmann G, Tolosa I, et al. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea[J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 44(1): 48-62
- [6] Baumard P, Budziński H, Garrigues P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediment and mussel (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic Sea: Occurrence, bioavailability and seasonal variations[J]. Marine Environmental Research, 1999, 47: 17-47
- [7] Budziński H, Jones I, Bellocq J, et al. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary[J]. Marine Chemistry, 1997, 58(1): 85-97
- [8] Lamberts R F, Christensen J H, Mayer P, et al. Isomer-specific biodegradation of methylphenanthrenes by soil bacteria[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(13): 4790-4796
- [9] Nadalig T, Helene B, Nathalie R, et al. Aerobic Degradation of methyl-phenanthrenes by an enrichment bacterial community[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 1996, 11(11): 107-114
- [10] Novaković M, Ramadan M M A, Knudsen T S, et al. Degradation of methyl-phenanthrene isomers during bioremediation of soil contaminated by residual fuel oil[J]. Environmental Chemistry Letters, 2012, 10: 287-294
- [11] Cerniglia C E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Biodegradation, 1992, 3(2/3): 351-368
- [12] Haritash A K, Kaushik C P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169(1/2/3): 1-15
- [13] Song X H, Xu Y, Li G M, et al. Isolation, characterization of *Phodococcus* sp. P14 capable of degrading high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons and aliphatic hydrocarbons[J]. Marine Pollution Bulletin, 2011, 62: 2122-2128

- [14] Walter U, Beyer M, Klein J, et al. Degradation of pyrene by *Rhodococcus* sp. UW1[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1991, 34(5): 671–676
- [15] Kathi S, Khan A B. Enrichment, isolation and identification of polycyclic aromatic hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* from sediments[J]. International Journal of Scientific and Research Publications, 2013, 3(2): 1–7
- [16] Nwinyi O C, Ajayi O O, Amund O O. Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons by two strains of *Pseudomonas*[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2016, 47(3): 551–562
- [17] Singh P, Tiwary B N. Optimization of conditions for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation by *Pseudomonas stutzeri* P2 isolated from Chirimiri coal mines[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017, 10: 20–29
- [18] Juhasz A L, Stanley G A, Britz M L. Metabolite repression inhibits degradation of benzo[a]pyrene and dibenz[a,h]anthracene by *Stenotrophomonas maltophilia* VUN 10,003[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2002, 28(2): 88–96
- [19] Kafilzadeh F, Pour F H. Degradation of naphthalene, phenanthrene and pyrene by *Pseudomonas* sp. and *Corynebacterium* sp. in the landfills[J]. International Journal of Biosciences, 2012, 2(9): 77–84
- [20] Mohd-Kamil N A F, Alias S, Othman N, et al. Degradation of phenanthrene by *Corynebacterium urealyticum* in liquid culture and sand slurry[J]. Malaysian Journal of Soil Science, 2013, 17: 111–126
- [21] Hritash A K, Kaushik C P. Degradation of low molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by microorganisms isolated from contaminated soil[J]. International Journal of Environmental Sciences, 2016, 6(5): 808–819
- [22] Muangchinda C, Pansri, Wongwongsee W, et al. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation potential in mangrove sediment from Don Hoi Lot, Samut Songkram Province, Thailand[J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 114(5): 1311–1324
- [23] Deveryshetty J, Phale P S. Biodegradation of phenanthrene by *Alcaligenes* sp. Strain PPH: Partial purification and characterization of 1-hydroxy-2-naphthoic acid hydroxylase[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 311: 93–101
- [24] John R C, Essien J P, Akpan S B, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from aviation fuel spill site at Ibeno, Nigeria[J]. Bull of Environment Contamination and Toxicology, 2012, 88(6): 1014–1019
- [25] Seo J S, Keum Y S, Li Q X. *Mycobacterium aromativorans* JS19b1^T degrades phenanthrene through C-1,2, C-3,4 and C-9,10 dioxygenation pathways[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2012, 70: 96–103
- [26] Seo J S, Keum Y S, Kim K, et al. Degradation of pyrene by *Mycobacterium aromativorans* JS19b1[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2010, 53(3): 323–329
- [27] Lee S E, Seo J S, Keum Y S, et al. Fluoranthene metabolism and associated proteins in *Mycobacterium* sp. JS14[J]. Proteomics, 2007, 7(12): 2059–2069
- [28] Schneider J, Grosser R, Jayasimhulu K, et al. Degradation of pyrene, benz[a]anthracene and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. Strain RJG -135, isolated from a former coal gasification site[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62: 13–19
- [29] Kelley I, Freeman J P, Evans F E, et al. Identification of metabolites from the degradation of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 800–806
- [30] Moody J, Freeman J P, Fu P P, et al. Degradation of Benzo[a]pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(1): 340–345
- [31] Kim Y H, Freeman J P, Moody J D, et al. Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 67: 275–285
- [32] Roy M, Khara P, Ditta T K. meta-Cleavage of hydroxynaphthoic acids in the degradation of phenanthrene by *Sphingobium* sp. Strain PNB[J]. Microbiology, 2012, 158: 685–695
- [33] Maeda A H, Nishi S, Hatada Y, et al. Biotransformation of the high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon(PAH)benzo[K]fluoranthene by *Sphingobium* sp. strain KK22 and identification of new products of non-alternant PAH biodegradation by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Microbiology Biotechnology, 2014, 7(2): 114–129
- [34] Dong C M, Bai X H, Lai Q L, et al. Draft genome sequence of *Sphingobium* sp.C100, a PAH-degrading bacterium from the deep-sea sediment of the Arctic Ocean[J]. Genome announcements, 2014, 2(1): 55–59
- [35] Fu B, Li Q X, Xu T, et al. *Sphingobium* sp. FB3 degrades a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2014, 87(2): 44–51
- [36] 刘芳, 梁金松, 孙英, 等. 高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究[J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1799–1804
- [37] Zeinali M, Vossoughi M, Ardestani S K. Characterization of a moderate thermophilic *Nocardia* species able to grow on polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Letters in Applied Microbiology, 2007, 45: 622–628
- [38] Rodrigues E M, Kalks K H M, Tótola M R. Prospect, isolation, and characterization of microorganisms for potential use in cases of oil bioremediation along the coast of Trindade Island, Brazil[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 156: 15–22

- [39] Jovó P, Olivella M À, Camarero S, et al. Fungal biodegradation of anthracene-polluted cork: A comparative study[J]. *Journal of Environmental Science and Health*, 2016, 51(1): 70–77
- [40] Zang S Y, Li P J, Yu X C, et al. Degradation of metabolites of benzo[a]pyrene by coupling *Penicillium chrysogenum* with KMnO₄[J]. *Journal of Environmental Science-China*, 2007, 19(2): 238–243
- [41] Launen L A, Pinto L J S, Moore M M. Optimization of pyrene oxidation by *Penicillium janthinellum* using response surface analysis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 51(4): 510–515
- [42] Guntupalli S, Thunuguntla V B S C, Chalasani L M, et al. Degradation and metabolite profiling of Benz[a]anthracene, Dibenz[a,h]anthracene and Indeno[1,2,3-cd]pyrene by *Aspergillus terricola*[J]. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 2017, 3: 1–9
- [43] Reyes-César A, Absalón Á E, Fernández F J, et al. Biodegradation of a mixture of PAHs by non-ligninolytic fungal strains isolated from crude oil-contaminated soil[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30: 999–1009
- [44] Lisowska K, Paiecz B, Długonski J. Detoxification of Phenanthrene by *C.elegans* evaluated by calorimetry[J]. *Thermochimica Acta*, 2005, 430: 43–46
- [45] Cerniglia C E, Fu P, Yang S K. Metabolism of 7-methylbenz[a]anthracene and 7-hydroxymethylbenz[a]anthracene by *Cunninghamella elegans*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1982, 44(3): 682–689
- [46] Pothuluri J V, Freeman J P, Evasn F E, et al. Fungal metabolism of acenaphthene by *Cunninghamella elegans*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58: 3654–3659
- [47] Bogan B W, Lamar R. Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB-1625 and its extracellular ligninolytic enzymes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(5): 1597–1603
- [48] Wang C P, Sun H W, Liu H B, et al. Biodegradation of pyrene by *Phanerochaete chrysosporium* and enzyme activities in soils: effect of SOM, sterilization and aging[J]. *Journal of Environmental Science*, 2014, 26: 1135–1144
- [49] Syed K, Porollo A, Lam Y W, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and endocrine disrupting alkylphenols: Role of Trp¹²⁹ and Leu³²⁴[J]. *Plos One*, 2011, 6(12): e28286
- [50] Tirado-Torres D, Gayosso-Canales M, Marmolejo-Santillán Y, et al. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus ostreatus* sp.ATCC38540 in liquid medium[J]. *Academia Journal of Scientific Research*, 2016, 4(10): 376–379
- [51] Bhattacharya S, Das A, Prashanthi K, et al. Mycoremediation of Benzo[a]pyrene by *Pleurotus ostreatus* in the presence of heavy metals and mediators[J]. *Biotechnology*, 2014, 4: 205–511
- [52] Patel H, Gupte A, Gupte S. Biodegradation of fluoranthene by basidiomycetes fungal isolate *Pleurotus ostreatus* HP-1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 157(3): 367–376
- [53] Koschorreck K, Richter S M, Swirczek A, et al. Comparative characterization of four laccases from *Trametes versicolor* concerning phenolic C-C coupling and oxidation of PAHs[J]. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 2008, 474(1): 213–219
- [54] Cerniglia C E, Gibson D T, Vav B V. Algal oxidation of aromatic hydrocarbons: Formation of 1-naphthol from naphthalene by *Agmenellum quadruplicatum* strain PR-6[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1979, 88(1): 50–58
- [55] Cerniglia C E, Baalen C V, Gibson D T. Metabolism of naphthalene by *Cyanobacterium Oscillatoria* sp. strain JCM[J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 1980, 116: 485–494
- [56] Safonova E, Kvitoko K, Kuschk P, et al. Biodegradation of phenanthrene by the green alga *Scenedesmus obliquus* ES-55[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2005, 5: 234–239
- [57] Chan S M N, Luan T G, Wong M H, et al. Removal and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(7): 1772–1779
- [58] 张光军, 方萍. 红球菌在石油烃类物质降解中的作用[J]. *环境科学与技术*, 2013, 36(2): 93–99
- [59] 何晶晶. 石油烃污染土壤微生物多样性分析及多环芳烃降解菌研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008
- [60] Seo J S, Keum Y S, Hu Y, et al. Degradation of phenanthrene by *Burkholderia* sp.C3:initial 1,2- and 3,4-dioxygenation and *meta*- and *ortho*-cleavage of naphthalene-1,2-diol[J]. *Biodegradation*, 2007, 18: 123–131
- [61] Seo J S, Keum Y S, Hu Y, et al. Phenanthrene degradation in *Arthrobacter* sp.P1-1:Initial 1,2-, 3,4- and 9,10-dioxygenation, and *meta*- and *ortho*-cleavages of naphthalene-1,2-diol after its formation from naphthalene-1,2-dicarboxylic acid and hydroxyl naphthoic acids[J]. *Chemosphere*, 2006, 65: 2388–2394
- [62] Feng T C, Cui C Z, Dong F, et al. Phenanthrene biodegradation by *halophilic Martellella* sp.AD-3[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 113(4): 779–789
- [63] Moody J D, Freeman J P, Dorge D R, et al. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1476–1483
- [64] Yang Y J, Chen R F, Shiaris M P. Metabolism of naphthalene, fluorine and phenanthrene: Preliminary characterization of a cloned gene cluster from *Pseudomonas putida* NCIB 9816[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(8): 2158–2164
- [65] Zhong Y, Zou S C, Lin L, et al. Effects of pyrene and fluoranthene on the degradation characteristics of phenanthrene in the cometabolism process by *Sphingomonas* sp. Strain PheB4 isolated from mangrove

- sediments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60: 2043–2049
- [66] Meckenstock R U, Mouttaki H. Anaerobic degradation of non-substituted aromatic hydrocarbons[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22: 406–414
- [67] Tsai J C, Kumar M, Lin J G. Anaerobic biotransformation of fluorine and phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and identification of biotransformation pathway[J]. *Journal of Hazardous Material*, 2009, 164: 847–855
- [68] Fang H H P, Liu Y, Ke S Z, et al. Anaerobic degradation of phenol in wastewater at ambient temperature[J]. *Water Science and Technology*, 2004, 49(1): 95–102
- [69] 吴宇澄, 林先贵. 多环芳烃污染土壤真菌修复进展[J]. *土壤学报*, 2013, 50(6): 1191–1199
- [70] Sack U, Heinze T M, Deck J, et al. Comparison of phenanthrene and pyrene degradation by different wood-decaying fungi[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(10): 3919–3925
- [71] Rehmann K, Noll H P, Steinberg C E W, et al. Pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. Strain KR₂[J]. *Chemosphere*, 1998, 36(14): 2977–2992
- [72] Zhu L, Lu L, Zhang D. Mitigation and remediation technologies for organic contaminated soils[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, 2010, 4: 373–386
- [73] Bezalel L, Hadar P P, Freeman J P, et al. Metabolism of phenanthrene by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62: 2547–2553
- [74] Leadbetter E R, Foster J W. Oxidation products formed from gaseous alkane by the bacterium *Pseudomonas metharica*[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics* Pubmed Clinical Trials, 1959, 82: 491–492
- [75] Jensen H L. Carbon nutrition of some microorganisms decomposing halogen-substituted aliphatic acids[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 1963, 13: 404–412
- [76] 罗玮. 难降解污染物微生物共代谢作用研究进展[J]. *土壤通报*, 2012, 43(6): 1515–1521
- [77] Gibson D, Mahadevan V, Jerina R M, et al. Oxidation of the carcinogens benzo[a]pyrene and benzo[a]anthracene to dihydrodiols by a bacterium[J]. *Science*, 1975, 189: 295–297
- [78] Wen J W, Gao D W, Zhang B, et al. Co-metabolic degradation of pyrene by indigenous white-rot fungus *Pseudotrametes gibbosa* from the northeast China[J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2011, 65: 600–604
- [79] 杨峰, 钟鸣, 白鹏, 等. 土壤中微生物对多环芳烃的降解及其生物修复的研究进展[J]. *辽宁农业科学*, 2011(4): 53–57
- [80] 刘世亮, 骆永明, 吴龙华, 等. 污染土壤中苯并[a]芘的微生物共代谢修复研究[J]. *土壤学报*, 2010, 47(2): 364–369
- [81] Cao J W, Lai Q L, Yuan J, et al. Genomic and metabolic analysis of fluoranthene degradation pathway in fluoranthene degradation pathway in *Celeribacter indicus* P73^T[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7741
- [82] Yam K C, Geize R V D, Eltis L D. Catabolism of aromatic compounds and steroids by *Rhodococcus*[J]. *Microbiology Monographs*, 2010, 16: 133–169
- [83] Takarada H, Sekine M, Kosugi H, et al. Complete genome sequence of the soil actinomycete *Kocuria rhizophila*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(12): 4139–4146
- [84] Brzostowicz P C, Reams A B, Clark T J, et al. Transcriptional cross-regulation of the catechol and protocatechuate branches of the beta-ketoadipate pathway contributes to carbon source-dependent expression of the *Acinetobacter* sp. Strain ADP1 pobA gene[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(3): 1398–1606
- [85] Kalinowski J, Bathe B, Bartels D, et al. The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins[J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 104: 5–25
- [86] Iwagami S G, Yang K, Davies J. Characterization of the protocatechuic acid catabolic gene cluster from *Streptomyces* sp. Strain 2065[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66: 1499–1508
- [87] Jiménez J I, Miñambres B, García J L, et al. Genomic analysis of the aromatic catabolic pathways from *Pseudomonas putida* KT2440[J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(12): 824–841
- [88] Nierman W C, Feldblyum T V, Laub M T, et al. Complete genome sequence of *Caulobacter Crescentus*[J]. *PNAS*, 2001, 98(7): 4136–4141
- [89] Parke D, Garcia M A, Ornston L N. Cloning and genetic characterization of *dca* genes required for β -oxidation of straight-chain dicarboxylic acids in *Acinetobacter* sp. Strain ADP1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(10): 4817–4827
- [90] Harwood C S, Parales R E. The beta-ketoadipate pathway and the biology of self-identity[J]. *Annual Review of Microbiology*, 1996, 50: 553–590
- [91] Patrauchan M A, Florizone C, Dosanjh M, et al. Catabolism of benzoate and phthalate in *Rhodococcus* sp. Strain RHA1: Redundancies and convergence[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(12): 4050–4063
- [92] Murakami S, Kohsaka C, Okuno T, et al. Purification, characterization, and gene cloning of *cis*, *cis*-muconate cycloisomerase from benzamide-assimilating *Arthrobacter* sp. BA-5-17[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 231: 119–124
- [93] Eulberg D, Schlömann M. The putative regulator of catechol catabolism in *Rhodococcus opacus* ICP-an IclR-type, not a LysR-type transcriptional regulator[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1998, 74: 71–82
- [94] Gerischer U, Segura A, Ornston L N. Pcau, a transcriptional activator of genes for protocatechuate utilization in *Acinetobacter*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180: 1512–1524

- [95] Fuenmayor S L, Wild M, Boyes A L, et al. A gene cluster encoding steps in conversion of naphthalene to gentisate in *Pseudomonas* sp. Strain U2[J]. American Society for Microbiology, 1998, 180(9): 2522–2530
- [96] Chao H J, Zhou N Y. GenR, and IclR-type regulator, activates and represses the transcription of *gen* genes involved in 3-hydroxybenzoate and gentisate catabolism in *Corynebacterium glutamicum*[J]. Journal of Bacteriology, 2013, 195(7): 1598–1609
- [97] Peng R H, Xiong A S, Xue Y, et al. Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons[J]. FEMS Microbiology Review, 2008, 32(6): 927–955
- [98] Sota M, Yano H, Ono A, et al. Genomic and functional analysis of the IncP-9 naphthalene-catabolic plasmid NAH7 and its transposon Tn4655 suggests catabolic gene spread by a tyrosine recombinase[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(11): 4057–4067
- [99] Kurkela S, Lehväslaiho H, et al. Cloning, nucleotide sequence and characterization of genes encoding naphthalene dioxygenase of *Pseudomonas putida* strain NCIB 9816[J]. Gene, 1988, 73: 355–362
- [100] Denome S A, Stanley D C, Olson E S, et al. Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in *Pseudomonas* strains complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway[J]. Journal of Bacteriology, 1993, 175(21): 6890–6901
- [101] Takizawa N, Kaida N, Torigoe S, et al. Identification and characterization of genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase and polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiol dehydrogenase in *Pseudomonas putida* OUS82[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(8): 2444–2449
- [102] Takizawa N, Iida T, Sawada T, et al. Nucleotide sequences and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999, 87(6): 721–731
- [103] Bosch R, García-Valdés E, Moore E R. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10[J]. Gene, 1999, 236(1): 149–157
- [104] Carmona M, Zamarro M T, Blázquez B, et al. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: A genetic and genomic view[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2009, 73(1): 71–133
- [105] Boll M. Dearomatizing benzene ring reductases[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2005, 10: 132–142
- [106] Boll M. Key enzymes in the anaerobic aromatic metabolism catalyzing Birch-like reductions[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2005, 1707: 34–50
- [107] Möbitz H, Boll M. A Birch-like mechanism in enzymatic benzoyl-CoA reduction: A kinetic study of substrate analogues combined with an ab initio model[J]. Biochemistry, 2002, 41: 1752–1758
- [108] López-Barragán M J, Díaz E, García J L, et al. Genetic clues on the evolution of anaerobic catabolism of aromatic compounds[J]. Microbiology, 2004, 150: 2018–2021
- [109] Shinoda Y, Akagi J, Uchihashi A Y, et al. Anaerobic degradation of aromatic compounds by *Magnetospirillum* strains: Isolation and degradation genes[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2005, 69: 1483–1491
- [110] Eglund P G, Pelletier D A, Dispensa M D, et al. A cluster of bacterial genes for anaerobic benzene ring biodegradation[J]. PNAS, 1997, 94: 6484–6489
- [111] Rabus R, Kube M, Heider J, et al. The genome sequence of an anaerobic aromatic-degrading denitrifying bacterium, strain EbN1[J]. Archives of Microbiology, 2005, 183(1): 27–36
- [112] Butler J E, He Q, Nevin K P, et al. Genomic and microarray analysis of aromatics degradation in *Geobacter metallireducens* and comparison to a *Geobacter* isolate from a contaminated field site[J]. BMC Genomics, 2007, 8: 180
- [113] McInerney M J, Rohlin L, Mouttaki H, et al. The genome of *Syntrophus aciditrophicus*: Life at the thermodynamic limit of microbial growth[J]. PNAS, 2007, 104: 7600–7605

Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Crude Oils: A Review

SHEN Guolan¹, LI Li², CHEN Suo^{2*}

(1 College of Geosciences, Yangtze University, Wuhan 430100, China;

2 College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from crude oils is a kind of teratogenic and carcinogenic contaminant, in which the low aromatic nucleus ring (2–3 ring) are the dominated components and the substituent group ratio is significantly higher than those from other origins. The degradation of PAHs caused by oils leakage are mainly dependent on microbial activities. This paper summarizes the microbial species, degradation mechanisms, metabolic pathways and coding genes with relation to PAHs biodegradation. The degradation mechanisms are divided into co-metabolism mechanism and the mechanism in which PAHs could be acted as the only carbon source of microbial population from the perspective of carbon source. The degradation pathways of aerobic and anaerobic microorganisms associated with PAHs and corresponding encoding gene clusters are also elaborated in this paper. In natural environment, bacteria, actinomycetes, fungi and algae can degrade PAHs. The hydroxylation and dearomatization of benzene respectively catalyzed by oxygenases and reductases are the key steps in aerobic and anaerobic degradation pathways. Moreover, *pca*, *cat*, *paa*, *nah*, *nah-like* and *bcr* gene clusters associated with degradation regulate the aerobic and anaerobic degradation process respectively. These advances can contribute to systematically understand the PAHs degradation process, the mechanism of microbial action and molecular genetic mechanisms, and thus can provide a theoretical basis for further utilization of microorganisms in environmental bioremediation.

Key words: Polycyclic aromatic hydrocarbons from crude oils; Microbial degradation; Mechanism; Degradation pathways; Genes