真菌对污染旱地红壤中苯并[a]芘共代谢降解研究

刘世亮[1,2]，骆永明[2,3*]，吴龙华[2]，曹志洪[2,3]
(1. 河南农业大学资源与环境学院，郑州　450002；2. 中国科学院南京土壤研究所土壤和环境生物修复研究中心，土壤与农业可持续发展国家重点实验室，南京　210008；3. 中国科学院研究生院，北京 100049)

摘要：在恒温和恒定转速培养条件下，模拟生物泥浆反应器法，选择从石油污染土壤中分离出来的青霉菌、黑曲霉、白腐真菌等 3 种真菌，在添加不同浓度菲和邻苯二甲酸作为共存底物情况下，研究其对旱地红壤中苯并[a]芘(B[a]P)的共代谢降解. 结果表明，未灭菌土壤对 B[a]P 有降解能力，当土壤中添加菲时，提高了 B[a]P 在土壤中的降解率，100 $mg\cdot kg^{-1}$浓度菲处理的降解率显著高于 200 $mg\cdot kg^{-1}$浓度菲处理，邻苯二甲酸对 B[a]P 降解影响不大. 灭菌土壤中 B[a]P 几乎没有降解，添加共代谢底物后土壤中 B[a]P 降解率变化不明显. 添加菲及邻苯二甲酸均促进了青霉菌对 B[a]P 的降解，提高其降解率，其中添加菲的效果更明显. 与灭菌土壤相比，接种黑曲霉提高了 B[a]P 的降解率，但是添加菲与邻苯二甲酸却均抑制了黑曲霉菌对 B[a]P的降解. 白腐真菌对旱地红壤中 B[a]P 的降解能力较差，但当菲或邻苯二甲酸存在时能显著提高白腐真菌对 B[a]P 的降解，且菲比邻苯二甲酸效果好.

关键词：多环芳烃(PAHs)；共代谢降解；苯并[a]芘(B[a]P)；真菌
中图分类号：X131.3　**文献标识码**：A　**文章编号**：0250-3301(2010)08-1944-07

Effects of Fungi on Co-metabolic Degradation of Benzo[a]pyrene in Droughty Red Soil

LIU Shi-liang[1,2], LUO Yong-ming[2,3], WU Long-hua[2], CAO Zhi-hong[2,3]
(1. College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Soil and Environment Bioremediation Research Centre, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3. Graduate Uviversity of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Simulated bioslurry remediation of PAHs contaminated soil was carried out. *Penicillium*, *Aspergillus niger* and white-rot fungus etc. three strains of fungi isolated from petroleum-contaminated soils were inoculated into droughty red soils differently in application rates of phenanthrene and phthalic acid, to investigate their effects of co-metabolic degradation of B[a]P. Results show that in natural soils, some native microorganisms were able to degrade B[a]P and with addition of low molecular weight PAHs-phenanthrene increased degradation rate of B[a]P in the soil. The effect was greater when the application rate of phenanthrene was 100 $mg\cdot kg^{-1}$ than 200 $mg\cdot kg^{-1}$. But the addition of phthalic acid did not show much effect. In sterilized soils, degradation of B[a]P in soils was hardly observed, and application of co-metabolism has no significant effect. However, inoculation of *Penicillium* stimulated degradation of B[a]P in all three treatments, i.e. phenanthrene at 100 $mg\cdot kg^{-1}$, phenanthrene at 200 $mg\cdot kg^{-1}$ and phthalic acid, but the effect of phenanthrene treatment was better than that of phthalic acid treatment. Inoculation of *Aspergillus niger* also showed similar effect, however, was inhibited by the presence of phenanthrene and phthalic acid in the soil. The degradation ability of white-rot fungus to B[a]P was very poor, but both kinds of phenanthrene concentration and phthalic acid treatments all could promote white-rot fungus to degrade B[a]P in soils, and the effect of phenanthrene was better than that of phthalic acid.

Key words: PAHs; co-metabolic degradation; benzo[a]pyrene; fungus

多环芳烃(PAHs)为一类普遍存在于环境中的有毒有机污染物，具有致突变、致癌特征. 美国环境保护署(EPA)已将 16 种 PAHs 列入优先控制有机污染物黑名单中[1]，苯并[a]芘(B[a]P)是 PAHs 的典型代表种类之一. PAHs 因疏水性、辛醇水分配系数高，而易于从水生态系统向沉积层迁移，最终造成沉积层土壤的污染. 目前普遍认为 PAHs 在土壤中是一类难降解有机物，具有较高的稳定性，生物可降解性随着苯环数和苯环密集程度增加而降低，尤其是四环以上的 PAHs 常以共代谢方式进行[2,3]. 共代谢(co-metabolism)是指某些有机物在环境中不能作为微生物的唯一碳源与能源，必须有另外的化合物存在提供碳源与能源时该有机物才能被降解的现象[4]，这在那些难被生物降解的化合物代谢过程中

收稿日期：2009-11-09；**修订日期**：2010-03-08
基金项目：国家自然科学基金重点项目(40432005)；河南省自然科学基金项目(0511031400)；国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410810)；中国科学院知识创新项目(KZCX3-SW-429, CXTD-Z2005-4)
作者简介：刘世亮(1970～)，男，博士，副教授，主要研究方向为土壤污染生物修复与土壤化学研究，E-mail：shlliu70@163.com
* 通讯联系人，E-mail：ymluo@issas.ac.cn

起着重要作用.相应地,提供碳源与能源的物质称为共代谢底物(co-metabolic substrate).研究表明,通过几种微生物的一系列共代谢作用,可使某些特殊有机污染物彻底降解[4].但是,土壤中微生物数量及种类众多,不同的微生物对B[a]P的降解能力不同.目前研究较多的是真菌对B[a]P等PAHs的降解[5~9],主要原因是真菌对环境中的污染物有较强的耐性,同时它又对环境变化有较强的适应能力.单个菌株对污染土壤的修复研究不仅涉及到菌种的知识产权,同时能揭示分离到的不同微生物对B[a]P等PAHs的降解特性.而这些具有降解B[a]P能力的微生物主要是从PAHs污染环境中或人工驯化过程中筛选出来的.

目前,国内外对PAHs的共代谢降解的研究较少,开展经济高效的PAHs难降解有机污染物控制技术研究显得尤为重要[10].本试验模拟PAHs污染土壤生物修复中的泥浆反应器法,引入笔者从石油污染土壤中分离出的能降解PAHs的3种真菌,研究江西旱地红壤中在培养条件下真菌对B[a]P的共代谢降解过程,以期为B[a]P等PAHs污染土壤的真菌生物降解修复技术的形成和发展提供基础性资料.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 土壤

供试土壤采自江西鹰潭中国科学院南京土壤研究所红壤生态实验站,为第四纪红色黏土(Q_4)发育的旱地红壤表层土(0~20 cm).土壤风干后,过2 mm尼龙筛,室温存放.其理化性质如下:有机质8.8 $g \cdot kg^{-1}$,全氮 0.59 $g \cdot kg^{-1}$,全磷(P_2O_5) 0.29 $g \cdot kg^{-1}$,全钾(K_2O) 15.0 $g \cdot kg^{-1}$,阳离子交换量11.0 $cmol \cdot kg^{-1}$,pH(H_2O) 4.1,土壤B[a]P含量为0.043 $mg \cdot kg^{-1}$.

1.1.2 供试试剂

菲(Phenanthrene,PHE)纯度>97%,为德国Fluka公司产品;苯并[a]芘(benzo[a]pyrene,B[a]P)纯度≥97%,为美国Sigma公司产品;邻苯二甲酸(Phthalic acid,分析纯).

实验过程中所用有机试剂乙腈和环己烷为美国Sigma公司产品,为色谱纯级;二氯甲烷、正己烷为分析纯试剂,使用前均经过二次蒸馏以保证其纯度.

1.1.3 供试真菌菌株

实验用微生物为实验室从石油污染土壤(由江苏扬子石化长期受原油污染区采得)中分离出,并经液体培养证明能降解多环芳烃,经鉴定微生物种类分别为青霉菌、黑曲霉、白腐真菌.分离的菌种鉴定过程如下.

首先按照常规的真菌稀释平板计数分离法对石油污染土壤中的微生物进行分离,将平板上生长旺盛的丝状真菌进行纯化,最后挑到含有低浓度PAHs的马丁氏培养基平板上进行生长,在含有PAHs培养基上能正常生长的菌种说明它们能分解PAHs.然后对这些菌种从菌落形状、菌丝形态、菌丝结构、孢子形状、孢子类型及孢子颜色等形态性状和丝状真菌的生理性状等对真菌进行分类和鉴定,初步鉴定结果为青霉菌、黑曲霉、白腐真菌.

1.2 实验设计

1.2.1 真菌培养

取盛有100 mL经121℃高温灭菌的马丁氏液体培养基的250 mL三角瓶20个,青霉菌、黑曲霉、白腐真菌各接种4瓶,25℃下摇床培养,待真菌在三角瓶中形成菌团后备用.另外8瓶为不接菌的备用马丁氏液体培养基.

1.2.2 实验方案与土壤接菌

取20个500 mL三角瓶,每个瓶内装60 g过2 mm的供试土壤.然后取盛有土壤的16个瓶子于高温灭菌锅内在121℃高温灭菌40 min后待用,另有4个盛土的瓶子不灭菌.然后按每kg风干土壤加入50 mg B[a]P的量,在无菌室里以无菌操作向土壤中加入溶于丙酮的B[a]P溶液,同时按表1的设计加入共存底物,振荡混匀.

待丙酮完全挥发后按表1加入培养好的微生物菌种,其中1~4号三角瓶接入青霉菌,5~8号三角瓶接入黑曲霉,9~12号三角瓶接入白腐真菌,13~16号三角瓶为不接菌灭菌土壤,17~20号三角瓶为不接菌不灭菌土壤.不接种菌的处理,同样加入相同量的真菌培养基.具体实验方案见表1.

待真菌在250 mL三角瓶中形成菌团,在无菌条件下将其倒入盛供试土壤的500 mL三角瓶中,振荡混匀形成泥浆并于恒温25℃下进行培养,此时刻记为零时(即试验开始),在培养的第0、7、14、21、28、35 d用移液管吸取泥浆样品取样.

试验选择菲及邻苯二甲酸加入量主要在参考前人研究基础上进行.巩宗强等[7]研究表明,菲浓度为150 $mg \cdot kg^{-1}$及邻苯二甲酸浓度为300 $mg \cdot kg^{-1}$时促进了部分真菌对苯并[a]芘的共代谢降解.

1.3 样品的处理及分析测定方法

表1 实验设计方案

Table 1 Design of the experiment

实验序号	引入的真菌种类	共存底物	共存底物加入量 /mg·kg^{-1}
1	青霉菌	—	—
2	青霉菌	菲	100
3	青霉菌	菲	200
4	青霉菌	邻苯二甲酸	300
5	黑曲霉	—	—
6	黑曲霉	菲	100
7	黑曲霉	菲	200
8	黑曲霉	邻苯二甲酸	300
9	白腐真菌	—	—
10	白腐真菌	菲	100
11	白腐真菌	菲	200
12	白腐真菌	邻苯二甲酸	300
13	灭菌土壤	—	—
14	灭菌土壤	菲	100
15	灭菌土壤	菲	200
16	灭菌土壤	邻苯二甲酸	300
17	不灭菌土壤	—	—
18	不灭菌土壤	菲	100
19	不灭菌土壤	菲	200
20	不灭菌土壤	邻苯二甲酸	300

1.3.1 土壤样品采集与处理

泥浆样品放入玻璃离心管中,以4 000 r·min^{-1}的速度离心 5 ~10 min. 以往的实验证明液相中多环芳烃含量很少,可以忽略不计[11],故该实验只进行离心后土壤样品的分析. 离心后的土壤样品放于黑暗处进行自然风干,干燥后的土样研磨过 1 mm 筛,放入冰箱内(4℃)备用.

1.3.2 土壤样品 B[a]P 分析测定

参照文献[12]的测定方法. 先称取 1.0 g 土壤样品,置于 50 mL 带盖玻璃离心管中,加入 10 mL 二氯甲烷萃取液,将其置于超声水浴锅(KQ5200)中连续超声提取 2 h,在提取过程中保证水温不超过40℃以防止二氯甲烷挥发(每 0.5 h 换 1 次水). 超声提取后,于离心机中以3 500 r·min^{-1}离心 5 min. 吸上清液 5 mL 于茄形瓶中,在40℃温度下于旋转蒸发器中旋转浓缩至干,向茄形瓶中加入 2 mL 正己烷溶液溶解瓶中物质.

称 1.0 g 于300℃下处理 2 h 的干燥硅胶于小烧杯中,加 10 mL 正己烷浸泡 15 min,然后装硅胶柱. 由茄形瓶中吸 0.5 mL 溶解的正己烷溶液进行过柱,并用 1∶1正己烷和二氯甲烷混合液洗脱,用刻度试管先接 1 mL 洗脱液弃去,然后接 2 mL 洗脱液于刻度试管中,用高纯氮气吹干. 最后向刻度试管中加 2 mL 乙腈溶解,在高效液色谱仪上测定.

高效液相色谱(HPLC)操作条件:岛津高效液相色谱仪(LC-10ATvp SHIMADZU),荧光检测器(RF-10AXL),C18 烷基硅胶反相色谱柱,柱温30℃,流动相为乙腈/水(体积比) = 90/10,流速 0.5 mL·min^{-1},进样量 20 μL,检测波长:290 nm.

1.4 方法回收率试验

称取 5.0 g 土壤置于 25 mL 玻璃离心管中,加入配制好的 B[a]P 丙酮溶液,同时进行本底空白试验,重复 4 次. 将上述样品置于暗处,待有机溶剂挥发至干后进行样品的提取,B[a]P 的回收率参照文献[12]的方法测定.

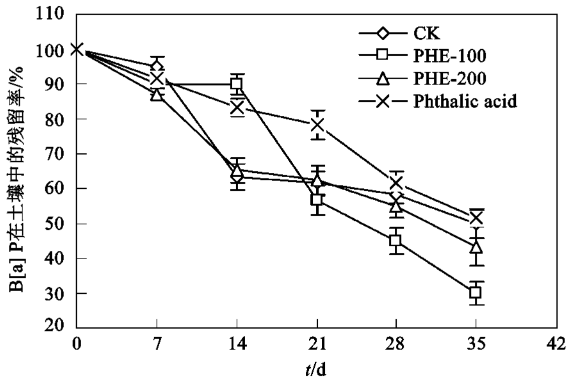
2 结果与讨论

2.1 方法回收率

为了评价方法的准确度,选用了试验用土壤,按上述方法测定土壤本底以及加入 B[a]P 丙酮溶液后土壤中 B[a]P 的含量. 方法回收率实验结果表明,土壤样品 B[a]P 的回收率为(86.90 ±2.92)%,所以此方法适合 B[a]P 测定的要求.

2.2 B[a]P 在未灭菌旱地红壤中的共代谢降解

土壤中存在数以亿计的不同种类的微生物,而且不同微生物种类对不同的环境条件胁迫有着不同的适应能力,对于土壤中受到 B[a]P 及菲这类多环芳烃污染物的胁迫时也不例外. 由图 1 可见,自然土壤(未灭菌土壤)对土壤中 B[a]P 有较强的降解能力,土壤中 B[a]P 含量下降较快,残留率较低,在为期 35 d 试验中 B[a]P 的残留率只有 50%. 但在实验前期的 7 d 内的降解率仅为 10%,说明外加有毒有机污染物进入土壤后,土壤中的微生物需要进行自身调整来适应这种胁迫,由于微生物具有极强的适应性,在随后的时间内土壤微生物对 B[a]P 就具有较强的降解能力. 由图 1 可以看出,当土壤中存在生物可利用性较高的菲时,土壤微生物对 B[a]P 的降解速度较快. 35 d 时,菲浓度为 100 mg·kg^{-1}、200 mg·kg^{-1}处理的 B[a]P 降解率分别达到 70% 和 58%,明显地高于对照处理的降解率(50%),说明在旱地红壤中菲是 B[a]P 微生物降解的有效共代谢底物. 高浓度的邻苯二甲酸的存在对酸性旱地红壤中 B[a]P 的影响降解不明显,在 35 d 时 B[a]P 的降解率只有 48.3%,可能是由于高浓度的邻苯二甲酸(300 mg·kg^{-1})抑制了微生物数量及活性,具体原因将有待进一步研究.



CK:无 B[a]P 共代谢底物;PHE-100:B[a]P 共代谢底物菲浓度为 100 mg·kg^{-1};PHE-200:B[a]P 共代谢底物菲浓度为 200 mg·kg^{-1};Phthalic acid:B[a]P 共代谢底物为邻苯二甲酸,下同

图 1　B[a]P 在未灭菌旱地红壤中的共代谢降解

Fig. 1　Co-metabolic degradation of B[a]P in an unsterilized droughty red soil

2.3　B[a]P 在灭菌旱地红壤中的共代谢降解

从图 2 中可见,经灭菌以后土壤中的 B[a]P 几乎没有减少,各处理土壤中的 B[a]P 的减少量显著地低于未灭菌土壤中的量($p < 0.05$),见图 1,说明土壤中 B[a]P 的减少主要是土著微生物的作用所引起的,而灭菌土壤中的减少主要是非生物的原因如土壤颗粒的吸附等所引起的[13]. 同时,共存低分子量 PAHs 菲及邻苯二甲酸对在土壤中 B[a]P 的残留量也没有显著影响($p > 0.05$),这进一步证明明微生物在降解 B[a]P 中所起到的作用. 可见,土壤中 PAHs 以及其它有机污染物减少量主要是在微生物的作用下减少的,没有微生物的参与,很难在土壤中消失. 所以,筛选能高效降解的微生物是快速修复土壤环境中 PAHs 类有机污染物的重要途径.

2.4　青霉菌对旱地红壤中 B[a]P 的共代谢降解

从图 3 可以看出,青霉菌对旱地红壤中 B[a]P 有降解能力,在实验结束时(35 d),加入土壤中的 B[a]P降解率达 48.3%(图 3),而且青霉菌对旱地红壤中 B[a]P 的降解持续快速. 从图 3 中还可以看出,当菲与 B[a]P 共存于土壤中时,能促进土壤中 B[a]P 的降解,后期效果更加明显,35 d 时菲浓度为 100 mg·kg^{-1}、200 mg·k^{-1}的处理中 B[a]P 的降解率分别为 72.1% 和 65.3%,分别比 CK 高 23.8% 和 17.0%,降解率明显地高于对照处理,说明菲是青霉菌降解 B[a]P 很好的共代谢底物. 邻苯二甲酸加入后,土壤中 B[a]P 的降解率为 56.7%,降解率比 CK 高 8.4%,说明邻苯二甲酸对青霉菌在旱地红壤中 B[a]P 降解的降解效果不十分明显,不是其最合适的共代谢底物.

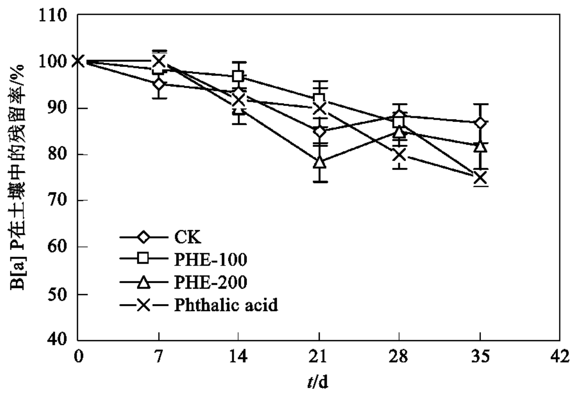


图 2　在灭菌旱地红壤中 B[a]P 的共代谢降解

Fig. 2　Co-metabolic degradation of B[a]P in a sterilized droughty red soil

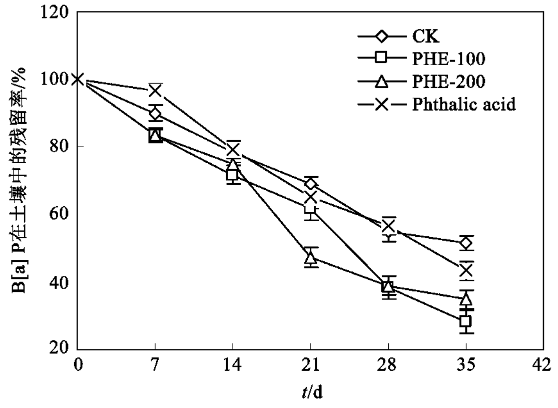


图 3　青霉菌对旱地红壤中 B[a]P 的降解

Fig. 3　Effects of *Penicillium* on B[a]P degradation in a droughty red soil

2.5　黑曲霉对旱地红壤中 B[a]P 的共代谢降解

在旱地红壤中黑曲霉对 B[a]P 有较强的降解能力(图 4). 与青霉菌不同,经过 35 d 的培养试验,没有共代谢底物存在的对照处理中 B[a]P 的降解率可达 58.4%,且黑曲霉对 B[a]P 的降解几乎没有时段性,随培养时间的延长,降解过程比较平稳. 但在土壤中加入菲和邻苯二甲酸时并不能促进黑曲霉对 B[a]P 的降解能力,反而抑制了黑曲霉对土壤中 B[a]P 的降解, 菲浓度为 100 mg·kg^{-1}、200 mg·kg^{-1} 及邻苯二甲酸 300 mg·kg^{-1}存在时 B[a]P 的降解率分别为 45%、55%、35%,明显地低于 CK 处理,这说明在旱地红壤中,小分子 PAHs 菲及小分子有机酸邻苯二甲酸不是黑曲霉对 B[a]P 降解的共代谢底物.

2.6　白腐真菌对旱地红壤中 B[a]P 的共代谢降解

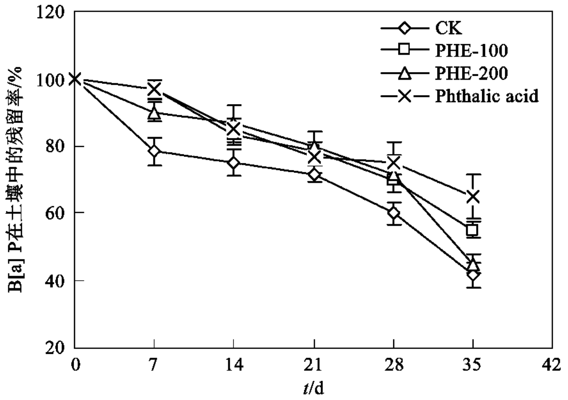


图 4　黑曲霉对旱地红壤中 B[a]P 的降解

Fig. 4　Effects of *Aspergillus niger* on B[a]P degradation in a droughty red soil

由图 5 可见,白腐真菌在旱地红壤中对 B[a]P 的降解能力很弱,经过 35 d 的试验,对照处理的 B[a]P降解率仅为 16.6%,明显低于青霉菌的 48.3%(图 3)和黑曲霉的 58.4%(图 4). 当菲与 B[a]P共存时,B[a]P 的降解率显著提高,35 d 时菲浓度为 100 $mg\cdot kg^{-1}$、200 $mg\cdot kg^{-1}$处理的 B[a]P 降解率分别为 49.7% 和 40.7%. 另外分析表明,两处理菲的降解率在 14 d 时分别为 14.4%、19.6%; 35 d 时为 90.6%、82.9%,菲的降解主要发生在试验后期,说明菲存在一定时间后,白腐真菌才能适应,或是诱导其分泌降解 B[a]P 的酶,促进 B[a]P 的降解. 邻苯二甲酸与 B[a]P 共存时,旱地红壤中 B[a]P的降解率在试验后期有所提高,但明显低于菲的处理. 较低分子量多环芳烃菲在外加 100 ~ 200 $mg\cdot kg^{-1}$浓度范围内有利于白腐真菌对旱地红壤中 B[a]P 的降解.

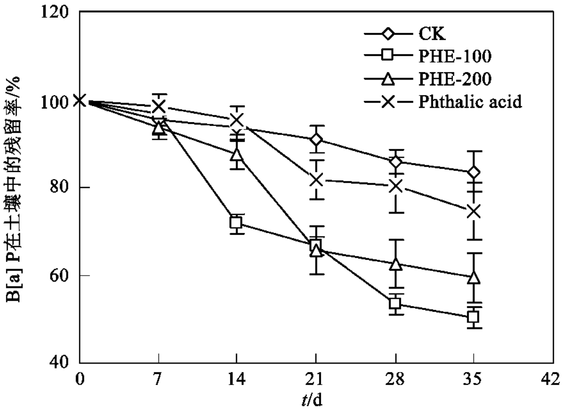


图 5　白腐真菌对旱地红壤中 B[a]P 的降解

Fig. 5　Effects of white-rot fungus on B[a]P degradation in a droughty red soil

3　讨论

研究表明,植物根际及菌根能够强化 B[a]P 这类持久性有机污染物在土壤中的修复,特别是植物-菌根真菌-酶联合对 B[a]P 的降解修复[14~16]. 但是,在污染地不适合种植植物(如地形或植物生态型的限制)的情况下,人们需要考虑污染土壤的离位修复. 已有研究表明,不同的土壤类型和土壤颗粒影响微生物对添加到土壤中的多环芳烃的降解效果[13]. 生物反应器是比较理想的离位修复方法,其可以充分利用微生物资源,能很好地控制反应条件,处理速度快,因而受到环境科学界的重视和应用[10,17]. 但是不同微生物种类及不同的共代谢底物对 B[a]P 的降解效果有很大差异.

Carolyn 等[18]研究了堆肥对土壤中菲与荧蒽的降解,表明土著微生物对外加的 PAHs 有较强的降解能力,并表明微生物对高分子量 PAHs 的降解主要是通过共代谢降解进行的,在实验的初始阶段微生物有一段时间的适应驯化期. Kanaly 等[19]也曾报道过其他底物对土壤中 B[a]P 的降解的促进和抑制作用,认为用土壤微生物是不能单独处理 B[a]P 的. 当将 B[a]P 和原油混合处理时,B[a]P 有 40% 被矿化,但是加入原油以后 B[a]P 仍有 14 d 的滞后降解阶段. 经过进一步实验认为原油中不仅包含能加速 B[a]P 矿化降解的初级底物,同时包含了竞争性抑制因子. Bauer 等[20]报道了将含蒽泥浆预暴露于苯或蒽可以促进蒽的矿化,预暴露于萘提高了菲的初始降解,但未影响蒽的降解. 他认为将沉积物暴露于某种多环芳烃能增加微生物降解这种多环芳烃甚至其他多环芳烃的能力. 他提出,由于某些多环芳烃及其代谢产物结构相似,能降解某些多环芳烃的微生物内可能存在着功能类似的加氧酶系或降解途径. Hwang 等[21]进行了菲对经老化处理及新鲜加入芘在土壤中的共代谢降解试验,发现当两者单独处理时,二者的降解率无论在新鲜土还是在经老化处理土壤中的降解率均稍低于二者共存的环境中,说明二者在微生物的降解过程中是相辅相成的. 巩宗强等[7]研究表明,B[a]P 进入土壤用菲预处理后,B[a]P 在泥浆中的降解未出现滞后阶段,降解率也明显提高. 用蒽对土壤进行预处理后,B[a]P 的降解未受到明显影响,且蒽自身的降解也很缓慢.

本研究表明,B[a]P 在土壤中的减少主要是在土壤微生物的作用下进行的,土壤经过高温灭菌后,土壤中 B[a]P 的降解率显著地低于未灭菌土,而不

论共代谢底物是否存在,其降解趋势相似.同时可以看出,有共代谢底物低环 PAHs 菲存在时,明显增加了 B[a]P 的降解(见图 1 和图 2),说明共代谢底物存在时,能促进土著微生物对高分子量 B[a]P 的降解.另外,土著微生物对高分子量 B[a]P 的降解需要一定的适应时间,这与前人的研究结果一致[19].

而从石油污染土壤中分离出来的 3 种株菌:青霉菌、黑曲菌和白腐真菌对土壤中 B[a]P 的代谢以及 B[a]P 在简单有机物存在下的共代谢情况不尽相同.

在土壤中添加低浓度的菲有助于青霉菌降解 B[a]P(图 3).且当菲和 B[a]P 共存时,在初始阶段青霉菌先降解生物易降解的菲,并从中获取了降解 B[a]P 的能量,因而提高了 B[a]P 的降解率,但是较高浓度的菲抑制了真菌的生长.这与前述中 Hwang 等[21]的研究结果一致.

黑曲霉菌对土壤中添加的 B[a]P 降解能力很强,在旱地红壤的降解率达到 58.4%,但向土壤中加入低分子量有机物菲或邻苯二甲酸时不同程度地降低了 B[a]P 在土壤中的降解率.这种添加简单有机物抑制高分子量 PAHs 降解的报道也曾有过.如 Yuan 等[11]研究表明,PAHs 共代谢降解不仅受到温度、pH、PAHs 浓度的影响,同时不同简单有机碳源和能源均能影响微生物对其中 PAHs 的降解率.其中添加的醋酸盐、丙酮酸酯以及酵母浸膏对其降解不产生影响;而加入简单化合物如氨基酸和硫酸盐等与微生物密切相关的营养物质能显著地提高 PAHs 的降解率;低分子量 PAHs 菲的存在能显著地提高蒽、荧蒽、芘以及苯并[a]芘的降解.同样出现了加入部分简单有机物对高分子量 PAHs 出现抑制的现象[22,23].William 等[24]研究了对菲有降解能力的假单胞菌对萘、甲基萘以及芴的竞争性共代谢降解.结果表明,这种能以菲作为唯一碳源和能源的细菌,同样能以萘和甲基萘作为唯一碳源和能源进行生物降解.但不能以芴以及茚满作为碳源和能源对其进行降解;可是在与萘共存时,细菌能正常生长,并能显著地降解芴和茚满.

白腐真菌对 PAHs 具有很强的降解能力[25~28],同时研究者认为,白腐真菌在对高分子量 PAHs 降解时需要低分子量 PAHs 做为共代谢底物,且在降解初期需要低分子量 PAHs 的诱导专一性降解酶才能提高对高分子量 PAHs 的降解.但本研究结果表明,白腐真菌在旱地红壤中对B[a]P的降解能力较弱,其降解率明显地低于青霉菌及黑曲霉对土壤中 B[a]P的降解率,但是当引入低分子量 PAHs 菲或邻苯二甲酸后,白腐真菌对土壤中B[a]P的降解能力明显提高,说明二者都是其良好的共代谢底物.

4 结论

(1)江西第四纪红色黏土发育的旱地红壤对 B[a]P有自然降解能力,自然土壤中的土著微生物在起作用.低分子量的 PAHs 菲能促进自然土壤中 B[a]P 的降解,100 $mg \cdot kg^{-1}$浓度菲处理的效果比 200 $mg \cdot kg^{-1}$的好,邻苯二甲酸对自然土壤中 B[a]P 降解没有显著影响.灭菌土壤中 B[a]P 几乎没有降解.

(2)青霉菌在旱地红壤中加入 100 $mg \cdot kg^{-1}$、200 $mg \cdot kg^{-1}$浓度菲或 300 $mg \cdot kg^{-1}$邻苯二甲酸都能促进 B[a]P 的降解,提高土壤中 B[a]P 的降解率;黑曲霉在旱地红壤壤中都能较好地降解 B[a]P,但菲或邻苯二甲酸的加入都抑制了黑曲霉对土壤中 B[a]P的降解;白腐真菌在旱地红壤中对 B[a]P 的降解需要共代谢底物,共代谢底物菲或邻苯二甲酸的引入提高了白腐真菌对 B[a]P 的降解.

(3)由 3 种真菌对土壤中 B[a]P 的共代谢降解格局可以看出,3 种真菌代表了对 B[a]P 降解的 3 种不同类型:青霉菌对 B[a]P 的降解能力较弱,但当环境中存在简单有机物时,降解能力显著提高;黑曲霉对 B[a]P 的降解能力很强,但当环境中存在简单有机物时,反而抑制了黑曲霉对 B[a]P 的降解;白腐真菌对 B[a]P 有较强的降解能力,但对简单有机物的依赖性介于青霉菌和黑曲霉之间.

参考文献:

[1] Keith L H, Telliard W A. Priority pollutants I. A perspective view[J]. Environ Sci Technol, 1979, **13**: 416-423.
[2] Heitkamp M A, Cerriglia C E. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by a *Mycobacterium* sp. in microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem[J]. Appl Environ Microbiol, 1989, **55**: 1968-1973.
[3] Ingeborg D B, Richard B. Structure biodegradability relationship of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil[J]. Bull Environ Contamin Toxicol, 1986, **37**: 490-495.
[4] 王晓蓉. 环境化学[M]. 南京: 南京大学出版社, 1997.
[5] Field J A, Jong E D, Costa G F, *et al*. Biodegradation of PAH by new isolates of white rot fungi[J]. Appl Environ Microbiol, 1992, **58**(7): 2219-2226.
[6] Charlotte K, Gejlsbjerg B, Ekelund F, *et al*. Effects of sludge-amendment on mineralization of pyrene and microorganisms in sludge and soil[J]. Chemosphere, 2001, **45**: 625-634.
[7] 巩宗强, 李培军, 王新, 等. 真菌对土壤中苯并[a]芘的共代

谢降解[J]. 环境科学研究, 2001, **14**(6): 36-39.

[8] 李培军, 许华夏, 张春桂, 等. 污染土壤中苯并[a]芘的微生物降解[J]. 环境污染治理技术与设备, 2001, **2**(5): 37-40.

[9] Cristina R M, Monica L S, Cecilia C M, *et al*. Pyrene degradation by yeasts and filamentous fungi[J]. Environ Pollut, 2002, **117**: 159-163.

[10] 丁克强, 骆永明, 刘世亮 等. 利用改进的生物反应器研究不同通气条件下土壤中菲的降解[J]. 土壤学报, 2004, **41**(1): 245-251.

[11] Yuan S Y, Chang J S, Yen J H, *et al*. Biodegradation of phenanthrene in river sediment[J]. Chemosphere, 2001, **43**: 273-278.

[12] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩, 等. 土壤、植物样品中的多环芳烃(PAHs)分析方法研究[J]. 应用生态学报, 1995, **6**(1): 92-96.

[13] Nam K, Kim J Y, Oh D L. Effect of soil aggregation on the biodegradation of phenanthrene aged in soil[J]. Environ Pollut, 2003, **121**: 145-151.

[14] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 黑麦草对苯并[a]芘污染土壤的根际修复及其酶学机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(2): 526-532.

[15] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根强化植物修复作用研究[J]. 土壤学报, 2004, **41**(3): 336-342.

[16] Xu S Y, Chen Y X, Lin K F, *et al*. Removal of pyrene from contaminated soils by white clover[J]. Pedosphere, 2009, **19**(2): 265-272.

[17] 巩宗强, 李培军, 王新, 等. 几种芳香化合物对苯并芘在泥浆反应器中降解的影响[J]. 环境科学, 2002, **23**(6): 69-73.

[18] Carolyn J C, Olli H T. Mineralization of phenanthrene and fluoranthene in yard waste compost[J]. Environ Pollut, 2003, **124**: 81-91.

[19] Kanaly R A, Bartha R. Co-metabolic mineralization of benzo[a]pyrene caused by hydrocarbon additions to soil[J]. Environ Toxicol Chem, 1999, **18**(10): 2186-2190.

[20] Bauer J E, Capone D G. Effects of co-occurring aromatic hydrocarbons on the degradation of individual polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments slurries[J]. Appl Environ Microbiol, 1988, **54**(7): 1649-1655.

[21] Hwang S, Cutright T J. Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil[J]. Chemosphere, 2002, **47**: 891-899.

[22] Yuan S Y, Wei S H, Chang B V. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture[J]. Chemosphere, 2000, **41**: 1463-1468.

[23] Deborah D R, Joanna M, Cerniglia C E. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2002, **41**: 1-7.

[24] William T S, Michael D A. Competitive metabolism of naphthalene, methylnaphthalene, and fluroene by phenanthrene-degrading pseudomonads[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, **61**(1): 357-362.

[25] Anderson B E, Welinder L, Olsson P A, *et al*. Growth of inoculated white-rot fungi and their interactions with the bacterial community in soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, as measured by phospholipids fatty acids[J]. Biores Technol, 2000, **73**: 29-36.

[26] Zheng Z G, Obbard J P. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by the white rot fungus, Phanerochaete chrysosporium[J]. Enzy Microb Technol, 2002, **31**: 3-9.

[27] Zheng Z G, Obbard J P. Removal of surfactant solubilized polycyclic aromatic hydrocarbons by Phanerochaete chrysosporium in a rotation biological contactor reactor[J]. J Biotechnol, 2002, **96**: 241-249.

[28] Canet R, Birnstingl J G, Malcolm D G, *et al*. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native micro flora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil [J]. Biores Technol, 2001, **76**: 113-117.