

DOI: 10.11766/trxb201301180037

多环芳烃污染土壤真菌修复进展*

吴宇澄 林先贵[†]

(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)

摘要 多环芳烃是一类具有致癌、致畸、致突变效应的化合物,主要通过生物质和化石燃料的不完全燃烧产生,过量的排放可能导致土壤污染。现有多环芳烃污染土壤的生物修复大多利用细菌的降解功能,真菌的修复潜力尚未被充分认识。真菌是土壤生态系统的重要组成部分,具有极高的多样性。多种真菌,主要是担子菌和子囊菌具有降解多环芳烃的能力,它们通过细胞内的细胞色素 P450 氧化酶、细胞外的木质素水解酶及胞外聚合物系统作用于多环芳烃;某些真菌与植物形成共生菌根,以协同方式实现污染物的降解。由于真菌降解多环芳烃的特点,其在减少土壤高环多环芳烃含量、降低多环芳烃毒性方面具有独特的优势。本文综合介绍了多环芳烃降解真菌的多样性和降解机制,对现有的真菌土壤修复技术进行了总结,针对目前真菌修复中存在的问题作了进一步讨论,并对真菌修复的未来发展趋势提出了展望。

关键词 多环芳烃;土壤污染;真菌;生物修复;多样性;机制

中图分类号 X53 **文献标识码** A

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是具有多个稠合苯环结构的一类化合物,主要由生物质及化石燃料的不完全燃烧形成。多环芳烃具有致癌、致畸和致突变效应,由于其结构稳定、水溶性低,难以被生物降解,是美国环境保护署“优先控制”的持久性有机污染物。通过燃烧排放进入大气的 PAHs 将随沉降过程进入土壤,导致土壤的多环芳烃污染。据估算,我国每年 PAHs 排放量超过 25 000 t^[1],城市、工业场地和农业土壤中普遍存在 PAHs,局部地区的含量达到数千 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ^[2]。这些 PAHs 如被作物吸收,将通过食物链传递而危害人体,产生环境健康风险。

在多种土壤 PAHs 清除手段中,生物修复因其环境友好及成本低廉的优势得到广泛重视^[3]。现有污染土壤的生物修复大多注重发挥细菌或植物对 PAHs 的降解及吸收作用,而作为土壤生态系统重要组成的真菌,其修复潜力被长期忽视。近年来随着真菌 PAHs 降解机制及真菌生态学研究的深入,它们在土壤修复中的潜在价值逐渐显现^[4]。本文主要介绍真菌的 PAHs 降解机制及其在土壤修复中的应用,并对 PAHs 污染土壤真菌修复中存在的

问题及发展趋势展开讨论。

1 PAHs 降解真菌多样性

真菌具有极高的多样性。据估计,真菌物种数超过 150 万,而获得描述的不到 10 万种^[5]。目前的分类体系中,真菌分为 7 个门及数个相对独立的亚门^[6],PAHs 降解真菌主要分布在其中的担子菌门、子囊菌门和毛霉菌亚门中^[4]。目前已知具有 PAHs 降解功能的真菌超过了 220 种^[7],在污染土壤修复中得到应用的也有 30 余种(表 1),集中于担子菌门的伞菌亚门(大多为白腐真菌)和子囊菌门的盘菌亚门。这是因为白腐担子菌具有高效的 PAHs 降解机制,而子囊菌是最为常见的土壤真菌,适合在土壤环境的应用。此外,球囊菌门真菌和植物形成共生菌根,因与植物修复有机结合而在实际应用中具有一定的优势。其他低等真菌中也存在 PAHs 降解菌株,但数量较少、应用不广^[7]。由于担子菌和子囊菌占已描述真菌总数的绝大多数^[4],因此今后真菌修复资源的开拓,应着重于发掘担子菌和子囊菌的污染土壤应用潜力,以及菌根真菌的植物协同修复能力。

* 中国科学院青年创新促进会专项资助

[†] 通讯作者, E-mail: xglin@issas.ac.cn

作者简介: 吴宇澄(1977—),男,博士,副研究员,主要从事土壤微生物研究。E-mail: ycwu@issas.ac.cn

收稿日期: 2013-01-18; 收到修改稿日期: 2013-04-08

表 1 用于 PAHs 污染土壤生物修复的真菌

Table 1 Fungi used in bioremediation of PAHs-contaminated soil

门或亚门 Phylum or Subphylum	纲 Class	种 Species
担子菌门 Basidiomycota 伞菌亚门 Agaricomycotina	伞菌纲 Agaricomycetes	<i>Trametes versicolor</i> ^[8] , <i>Irpex lacteus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> ^[9] , <i>Pleurotus pulmonarius</i> ^[10] , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ^[11] , <i>Bjerkandera</i> sp. ^[12] , <i>Antrodia vaillantii</i> ^[13] , <i>Kuehneromyces mutabilis</i> , <i>Agrocybe aegerita</i> ^[14] , <i>Merulius tremellosus</i> ^[15] , <i>Stropharia rugo-soannulata</i> , <i>Stropharia coronilla</i> ^[16] , <i>Marasmiellus trojanus</i> ^[17] , <i>Phellinus</i> sp. ^[18]
子囊菌门 Ascomycota 盘菌亚门 Pezizomycotina	座囊菌纲 Dothideomycetes	<i>Botryosphaeria rhodina</i> ^[10] , <i>Cladosporium</i> sp. ^[19] , <i>Coniothyrium</i> sp. ^[20] , <i>Lewia</i> sp. ^[21]
	散囊菌纲 Eurotiomycetes	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus sydowii</i> ^[22] , <i>Aspergillus niger</i> ^[23] , <i>Aspergillus</i> sp. ^[24] , <i>Penicillium</i> sp. ^[25] , <i>Penicillium funiculosum</i> ^[22]
	粪壳菌纲 Sordariomycetes	<i>Fusarium</i> sp. ^[23] , <i>Trichoderma</i> sp. ^[23]
	锤舌菌纲 Leotiomyces	<i>Monilinia</i> sp. ^[26]
毛霉菌亚门 Mucoromycotina	—	<i>Mucor</i> sp. ^[27] , <i>Absidia cylindrospora</i> ^[28] , <i>Rhizopus</i> sp. ^[22]
球囊菌门 Glomeromycota	球囊菌纲 Glomeromycetes	<i>Glomus etunicatum</i> ^[29] , <i>Glomus mosseae</i> ^[30] , <i>Glomus caledoniun</i> ^[31]

2 PAHs 真菌降解机制

2.1 直接作用

2.1.1 细胞内色素 P450 氧化酶系统 细胞色素 P450 是许多动物、植物和微生物用来催化有机物氧化的一类酶的统称。部分真菌可利用细胞色素 P450 酶系氧化 PAHs(图 1)。小克银汉霉(*Cunninghamella*)通过细胞色素 P450 单加氧酶和环氧化物水解酶将 PAHs 氧化为反式二氢二醇衍生物^[32],与哺乳动物对多环芳烃的代谢激活作用类似。值得一提的是,PAHs 被细胞色素 P450 氧化后形成的代谢中间物常常具有较母体化合物更强的生物毒性。

2.1.2 细胞外木质素水解酶系统 为了利用难降解的底物(如木质素、纤维素),真菌向胞外分泌多种氧化酶,如漆酶、锰过氧化物酶、木质素过氧化物酶等,合称木质素水解酶。它们作用底物范围广,能够氧化包括 PAHs 在内的许多有机污染物,是真菌降解 PAHs 的独特机制。

锰过氧化物酶(EC 1.11.1.13)是含亚铁血红素的糖蛋白,它以 H_2O_2 为电子受体将二价锰离子(Mn^{2+})氧化为三价锰离子(Mn^{3+}), Mn^{3+} 具有高度反应活性,可以氧化多种酚类物质。另一种可能的机制是脂类过氧化,即锰过氧化物酶以 O_2 为电子受体催化氧化不饱和脂肪酸,产生自由基导致 PAHs 的共氧化(图 1)^[33]。具有锰过氧化物酶活性的主要是担子菌中的白腐真菌和凋落物分解真菌^[34]。

木质素过氧化物酶(EC 1.11.1.14)也是含亚铁血红素的糖蛋白,以 H_2O_2 为电子受体催化氧化 PAHs,形成醌类结构(图 1)^[35]。同位素示踪研究表明 PAHs 醌类衍生物的氧原子来自于水分子^[36]。目前已知仅少数白腐真菌产生木质素过氧化物酶。漆酶(EC 1.10.3.2)广泛存在于担子菌、子囊菌及其他真菌中,是一种活性中心含铜的蓝铜氧化酶,因最初在漆树的汁液中发现而得名。漆酶以 O_2 为电子受体,将 PAHs 催化氧化为相应的醌类。醌类衍生物的稳定性较 PAHs 低,便于实现开环并进一步降解(图 1)。此外,漆酶可以催化 PAHs 的聚合,其机理和效应目前尚不明确^[37]。

电离电位(Ionization potential, IP)指电子脱离分子所需要的能量。木质素水解酶的氧化效果与 PAHs 的电离电位存在负相关。例如,漆酶可以快速氧化蒽(IP 7.43 eV),但对同样三个苯环结构的菲(IP 7.91 eV)效果极其有限^[38],锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶也有类似的现象^[35]。一些酚类物质,如藜芦醇、ABTS 等可被漆酶氧化形成自由基,充当氧化还原反应的介质,显著提高漆酶对 PAHs 的氧化能力^[39]。此外,漆酶对 PAHs 中毒性最高的苯并[a]芘具有高效的转化能力^[40],这对于降低土壤中 PAHs 的毒性当量有重要意义。

真菌可以通过以上机制直接转化 PAHs。但是,很少能观察到真菌对 PAHs 的矿化,也很少真菌能以 PAHs 为唯一碳源生长。它们主要与其他生物协同,以共代谢的方式实现对 PAHs 的最终矿化。

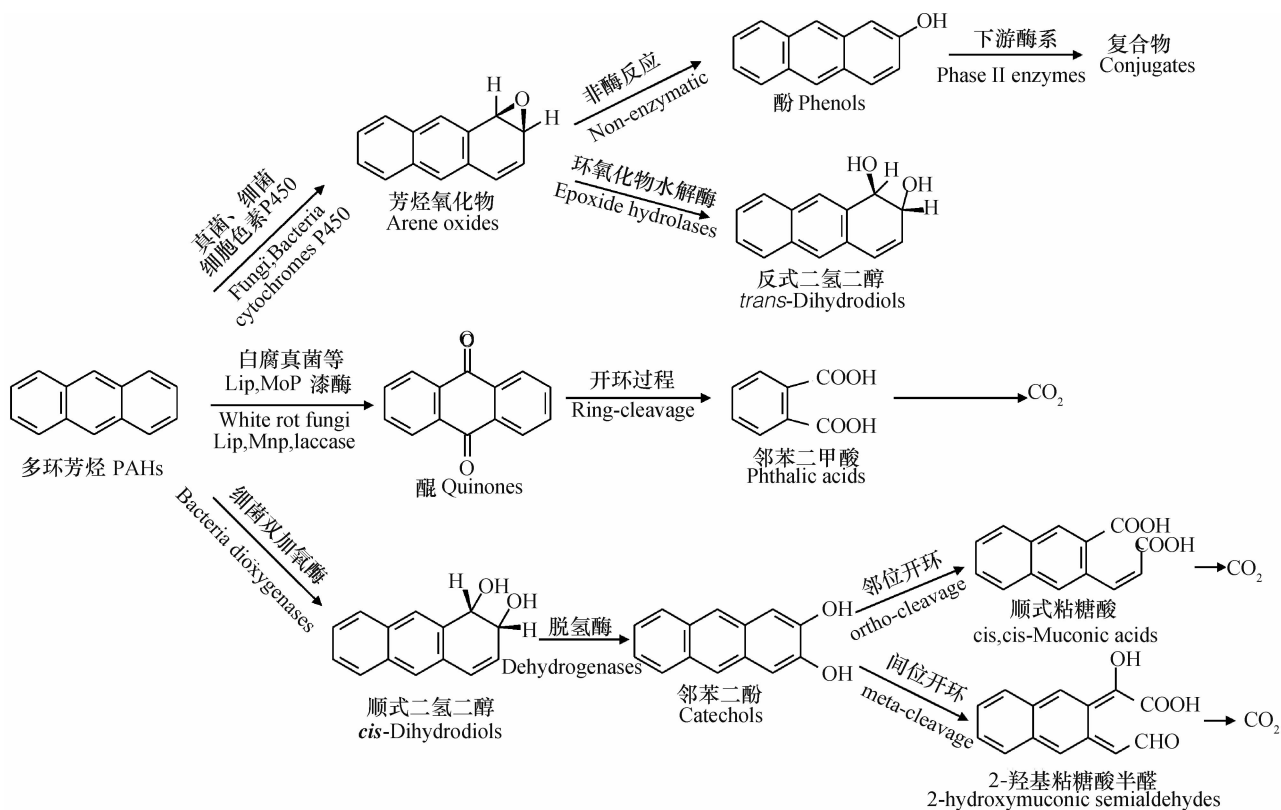


图1 真菌、细菌 PAHs 降解途径:以蒽为例^[7]

Fig.1 Degradation pathways of PAHs by fungi and bacteria: Take anthracene for example^[7]

2.1.3 真菌胞外聚合物 胞外聚合物 (Extracellular polymeric substances, EPS) 是菌体向胞外分泌的主要由蛋白质、多糖、核酸和脂类组成的物质,具有维持生物膜结构、增强细胞抗逆性等重要作用^[41]。许多真菌分泌 EPS,将黑曲霉 *Aspergillus niger* 胞外聚合物与 PAHs 污染土壤混合,可以显著促进污染物的降解^[42]。其机制可能是 EPS 中带电荷或疏水性的多糖、蛋白基团可以与 PAHs 结合,有利于 PAHs 从土壤颗粒脱附,提高生物有效性;同时, EPS 具有多种酶活性,直接导致 PAHs 的氧化降解。但是,目前对真菌胞外聚合物的污染物降解功能还缺乏了解,需要作更深入的研究。

2.2 协同作用

2.2.1 真菌-细菌协同 土壤中真菌和细菌共存,在 PAHs 降解中发挥协同作用。研究表明,在 PAHs 污染土壤中双接种真菌、细菌的效果要优于真菌或细菌单接种^[43],可能原因一方面是真菌氧化 PAHs 的产物水溶性增加、毒性减小,有利于细菌矿化作用。例如在土壤中白腐真菌蒽氧化产物的矿化速率显著快于蒽,真菌-细菌协同大大加快了 PAHs 的降解速度^[44]。另一方面,真菌在土壤中生

长形成菌丝网络,传输降解细菌甚至污染物本身,提高污染物降解效率。在缺水土壤中,真菌菌丝可以形成连续的液膜,引导 PAHs 降解细菌在土壤中快速移动^[45],或对 PAHs 进行传输^[46],从而提高 PAHs 对细菌的生物有效性,促进细菌降解。土壤细菌也可为真菌降解 PAHs 创造条件。某些细菌产生物表面活性剂,将其接种至土壤,可以显著改善真菌降解的效果^[29]。细菌也能分泌生长因子、减弱拮抗效应而有利于菌根的形成^[47],间接促进污染物降解。发挥真菌和细菌的协同作用,将是 PAHs 污染土壤修复的重要发展方向。

2.2.2 真菌-植物协同 真菌与植物根系可以形成共生结构,根据其着生部位和形态特征分为内生菌根(丛枝菌根)和外生菌根等。一些担子菌和子囊菌和树木形成外生菌根,但外生菌根常常阻碍 PAHs 的降解^[48-49],其确切原因尚不清楚,据推测可能与土壤营养物的消耗有关。能强化土壤修复的主要是球囊菌门真菌与植物根系形成的丛枝菌根共生体,它们可以改善植物营养、提高植物抵御不良环境的能力,在污染土壤生物修复中具有广泛应用前景,是“根际修复”的重要机制^[50]。许多研究

表明,接种球囊菌门真菌,可以有效促进土壤中 PAHs 的降解,达到土壤修复的目的。丛枝菌根消减土壤 PAHs 的机制较为复杂,主要可能有:(1)丛枝菌根真菌根外菌丝网络吸收并向植物根系转运 PAHs,促进植物对 PAHs 的富集。例如实验证实球囊菌菌丝可摄入土壤中的 PAHs,并通过菌丝传输给宿主黑麦草,导致黑麦草根内 PAHs 含量的升高^[51]。(2)植物分泌的有机物有利于丛枝菌根真菌的生长,菌根真菌进一步向土壤输送有机物,改变根际微生物群落组成,刺激土著微生物的降解能力^[52]。由于可以和某些作物相结合,丛枝菌根真菌在农业土壤修复中具有独特的优势。

此外,真菌与植物有着广泛的相互作用。内生真菌是生活在植物体内不引起任何病害症状的微生物,在受益于植物提供营养的同时,也有利于植物生长。内生真菌可以促进植物对 PAHs 的吸收^[21],降低土壤 PAHs 含量,是值得重视的真菌-植物协同修复机制。植物根系也可以通过刺激包括真菌在内的土壤微生物活性促进 PAHs 的降解^[53],发挥真菌-植物的协同修复作用。

3 PAHs 污染土壤真菌修复方法

真菌的生理特性与细菌存在明显的差异,这些特性赋予真菌修复以独特的优势。首先,真菌菌体呈丝状生长,在土壤中形成菌丝网络,并通过分泌胞外酶或产生自由基,主动接近并作用于吸附在土壤有机质中的污染物。同时,菌丝网络能促进土壤中降解要素的分布,从而部分克服了 PAHs 的生物有效性问题;其次,真菌胞外酶底物范围广,可以攻击多环芳烃、多氯联苯、杀虫剂等多种有机污染物,在高浓度污染物下也能发挥作用,适用于重度有机复合污染土壤的治理;第三,真菌的存在也有利于发挥其他土壤生物如细菌和植物根系的修复能力。根据这些优点,目前发展出了多种土壤修复方法,基于修复起始材料大致可以分为酶修复和真菌修复两类。

3.1 酶修复

以漆酶为代表的真菌胞外氧化酶已实现工业化生产。将酶制剂加入污染土壤可以直接作用于污染物,起到修复土壤的效果^[40]。酶修复的优势在于:(1)作用速度快,可以在短时间内消除 PAHs 污染、降低土壤毒性;(2)酶对污染物浓度较不敏感,在污染程度较高情况下依然可以发挥作用;(3)底

物作用广,适用于有机复合污染土壤的修复;(4)外源酶活性在土壤中逐渐消失,不会对生态系统产生长期影响。因此,酶修复特别适用于有机复合型重度污染土壤的快速处理。

酶修复的高成本对其实际应用有一定限制,许多替代技术能够以较低的成本发挥真菌氧化酶的作用:食用菌产业副产物菇渣含有较高的木质素酶活性,将其添加至土壤可以有效降低土壤中的 PAHs 含量^[54];通过基因工程方法改造细菌或植物,使其表达真菌氧化酶^[55-56],再应用到污染土壤修复中,是解决酶修复成本问题的另一方法。

3.2 真菌修复

3.2.1 生物强化 生物强化(bioaugmentation)指向土壤中接种具有降解功能的微生物,以达到修复土壤的目的。因此,筛选高效的 PAHs 降解菌株是实施生物强化的前提。为了获得高效菌株,较为简易的方法是利用木质素水解酶对有色酚类底物(如愈创木酚、Poly R 等)的氧化脱色作用,根据培养基的颜色变化,对潜在降解菌株进行快速筛选^[57]。应用高通量测序等分子生物技术预先对土壤中木质素酶功能基因多样性进行分析^[58],有助于获得新的潜在降解菌。将具有较强木质素酶活性的菌株接种到污染土壤中,往往可以促进土壤中 PAHs 的降解^[26]。

白腐真菌是目前较多使用的强化菌株。应用白腐真菌进行土壤生物强化,需要考虑它们在土壤中的定殖能力。白腐真菌的最佳生境往往是木材或富含木质素的环境,土壤中相对缺乏营养,可能限制白腐真菌的生长^[59]。另一方面,白腐真菌也面临着土著微生物的竞争。从污染土壤中分离菌株,经扩大培养后回接是避免这一问题的有效办法^[60],且接种量越大,越有利于真菌在土壤中的存活。

生物强化的生态效应是一个常被忽视的问题。真菌可能引起植物病害,如果病原真菌被用于生物强化,将对农业生产产生潜在的危害。修复措施对土著微生物群落的影响也不可忽视,如有些白腐真菌显著降低土壤异养细菌的数量,其生态后果尚不明确^[61]。因此,要深入研究外来真菌和土著生物的相互作用规律,探讨使微生物和谐共处的途径,发展真菌生态调控技术。

3.2.2 生物刺激 生物刺激(biostimulation)通过向土壤中加入营养元素、电子受体等物质,刺激土壤中土著微生物的降解能力。真菌的生理特性和营养需求与细菌不同,针对性生物刺激材料有富

含纤维素或木质素的物料如秸秆、木片、玉米芯等。最近的研究表明食用菌栽培物料也具有刺激真菌降解效果的功能^[62],根据 PAHs 降解特征,这类材料可能通过刺激土壤真菌分泌胞外木质素水解酶类起作用。氧化还原介体可以显著提高土壤中真菌氧化酶对 PAHs 的转化效果^[39],研发高效、廉价的天然氧化还原介体是真菌生物刺激的一个潜在方向。

3.2.3 真菌-植物联合修复 目前真菌-植物联合修复技术主要是利用菌根的根际修复能力。菌根真菌可以提高植物抵抗 PAHs 胁迫的能力^[63],根际的 PAHs 含量与非侵染根系相比更低^[64]。研究表明接种苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium*)在促进紫花苜蓿和黑麦草植物生长的同时降低了土壤中的 PAHs^[65]。由于菌根真菌可以改善宿主的营养状况、增强宿主的抗逆性、提高作物的产量和品质,在农业土壤污染修复中具有特殊的优势,是值得推广的真菌修复技术之一。

4 PAHs 污染土壤真菌修复的存在问题与发展方向

4.1 全面认识真菌修复的机制、生态效应和影响因素

当前我国土壤污染的严峻形势对土壤修复技术提出了更高的要求。真菌在 PAHs 污染土壤修复中具有独特的优势,但是真菌修复要成为一种现实的修复手段还有很长的路要走。要从理论和技术两个方面入手,一方面深入阐明土壤修复的机理和过程,另一方面建立和完善相关的修复技术体系,促进真菌修复的实际应用。

土壤环境的高度异质性决定了真菌修复是一个非常复杂的过程。纯培养条件下的真菌降解 PAHs 规律,不一定能够照搬到土壤系统。因此,认识真菌修复过程中的污染物迁移转化、生物相互作用、环境调控等规律,对于发展安全、高效、实用的修复技术将具有重要的理论意义。这其中有几个问题值得深入探究。

4.1.1 明确 PAHs 污染土壤真菌修复的机理

在土壤修复过程中,并非所有微生物均发挥微生物降解功能。认识优势降解微生物、揭示其降解 PAHs 的机理,是改善土壤修复效果的重要基础。方法学的进展为达到这一目标提供了重要契机:科学家的长期协作研究发现转录间隔区(ITS)序列可以反映

真菌的分类地位,可以作为真菌鉴定的通用条形码(barcode)^[66],配合新一代高通量测序技术,将极大提高优势菌株筛选的效率^[67];同位素示踪方法可以直接分析降解真菌及真菌、细菌协同作用^[68],对认识 PAHs 的微生物作用机理具有不可替代的价值。另一方面,真菌与土著微生物协同降解 PAHs,产生复杂的中间产物。近年来质谱、核磁共振等分析技术的发展有助于对土壤中 PAHs 转化中间物的分析^[69],将为揭示真菌修复过程中 PAHs 的代谢途径奠定重要基础。

4.1.2 重视真菌修复措施的生态效应 修复措施对土壤生态系统的影响是决定其可行性的重要依据。许多证据表明,接种真菌会改变土壤微生物的组成,并可能导致土壤生态功能的变化,而土壤微生物对外源真菌菌剂的拮抗会影响到真菌生物强化的效果。同时,由于某些真菌能够引起严重的植物病害,因此在选择菌种时要考虑对未来农业生产的影响,使真菌修复的生态影响处于安全、可控的范围内。

4.1.3 全面评价真菌修复的效果 在目前的修复实践中,主要以土壤中 PAHs 的含量变化来评价修复效果。但是,不同 PAHs 的毒性当量因子有很大的区别。某些真菌仅对部分 PAHs 起作用,例如木质素酶对高度毒性的苯并[*a*]芘转化效果突出,但对低毒的萘和菲则缺乏作用,如果仅用 PAHs 的绝对浓度,将会低估真菌修复的效果^[40]。另一方面,PAHs 转化中间产物的毒性也不可忽视。有研究表明真菌细胞色素 P450 氧化酶通过对 PAHs 的代谢激活,产生致突变能力更强的中间产物^[32]。因此,要综合采用发光细菌分析、Ames 试验等生态毒性测试方法对土壤生态毒性进行评价,保证真菌修复措施的有效性。

4.2 建立完善的 PAHs 污染土壤真菌原位修复技术体系

迄今真菌修复大多还处于实验室阶段,尚未形成完整、规范的原位土壤修复技术体系。要让真菌修复切实发挥作用,首先要全面了解土壤的污染历史、理化特征和用途,根据实际情况选择适宜的修复策略。例如,对于农田可以采用菌根真菌联合植物修复的方法,以兼顾农业生产与土壤治理;重污染土壤应考虑生物刺激,发挥土著微生物作用;酸性土壤可以利用白腐真菌喜好酸性环境的特点开展生物强化等。在管理措施上,也要根据真菌的特点进行设计,避免土壤翻耕造成菌丝的损伤,影响

真菌在土壤中的生长。其次要发展“测土修复”技术,定向利用土壤真菌的 PAHs 降解功能。可以采用新一代高通量测序技术,对土壤真菌及其他微生物的组成进行全面解析,再根据当地土著微生物组成的特点,有针对性的采用生物强化或生物刺激手段,发挥真菌的污染物转化作用。三是要大力发展高效、低耗的修复技术,促进真菌修复的推广和应用。食用菌产业的原料和副产物如菇渣、菇渣提取物等含有丰富的木质素酶,是土壤真菌修复的廉价原料。利用基因工程手段构建高效工程菌大量生产真菌胞外氧化酶,或通过转基因植物原位表达酶活性,是真菌酶修复的另一个潜在发展方向。四是要重视真菌修复与其他手段的配套,发挥土著微生物的共代谢作用,促进 PAHs 污染物的降解和减毒。结合植物和真菌优势的菌根修复措施是值得大力推广的综合性修复技术之一。

综上所述,随着我国经济的快速发展,土壤污染范围日益扩大、污染物种类增多,呈现复合化、多来源的特点,已经成为一个不容忽视的环境问题。真菌以其独特的生理特点,不仅针对 PAHs 污染,在各种有机、无机复合污染土壤修复中具有独特的优势,是未来土壤生物修复技术发展的新方向之一。真菌修复必将在土壤环境保护中发挥更大的作用。

参 考 文 献

- [1] Xu S S, Liu W X, Tao S. Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons in China. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(3): 702—708
- [2] Yu X Z, Gao Y, Wu S C, et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils at Guiyu area of China, affected by recycling of electronic waste using primitive technologies. *Chemosphere*, 2006, 65(9): 1500—1509
- [3] 骆永明. 污染土壤修复技术研究现状与趋势. *化学进展*, 2009, 21(2/3): 558—565. Luo Y M. Current research and development in soil remediation technologies (In Chinese). *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2/3): 558—565
- [4] Harms H, Schlosser D, Wick L Y. Untapped potential: Exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(3): 177—192
- [5] Stajich J E, Berbee M L, Blackwell M, et al. The fungi. *Current Biology*, 2009, 19(18): R840—R845
- [6] Hibbett D S, Binder M, Bischoff J F, et al. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research*, 2007, 111(5): 509—547
- [7] Cerniglia C E, Sutherland J B. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi//Timmis K N. *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Berlin: Springer, 2010
- [8] Borrás E, Caminal G, Sarra M, et al. Effect of soil bacteria on the ability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by *Trametes versicolor* and *Irpex lacteus* from contaminated soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(12): 2087—2093
- [9] Byss M, Elhottova D, Triska J, et al. Fungal bioremediation of the creosote-contaminated soil: Influence of *Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus* on polycyclic aromatic hydrocarbons removal and soil microbial community composition in the laboratory-scale study. *Chemosphere*, 2008, 73(9): 1518—1523
- [10] Federici E, Leonardi V, Giubilei M A, et al. Addition of allochthonous fungi to a historically contaminated soil affects both remediation efficiency and bacterial diversity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 77(1): 203—211
- [11] Chen B L, Ding J. Biosorption and biodegradation of phenanthrene and pyrene in sterilized and unsterilized soil slurry systems stimulated by *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 229—230: 159—169
- [12] Valentin L, Lu-Chau T A, Lopez C, et al. Biodegradation of dibenzothiophene, fluoranthene, pyrene and chrysene in a soil slurry reactor by the white-rot fungus *Bjerkandera* sp. BOS55. *Process Biochemistry*, 2007, 42(4): 641—648
- [13] Andersson B E, Lundstedt S, Tornberg K, et al. Incomplete degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil inoculated with wood-rotting fungi and their effect on the indigenous soil bacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22(6): 1238—1243
- [14] Sack U, Fritsche W. Enhancement of pyrene mineralization in soil by wood-decaying fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 22(1): 77—83
- [15] Lee H, Jang Y, Kim J M, et al. White-rot fungus *Merulius tremellosus* KUC9161 identified as an effective degrader of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Basic Microbiology*, 2013, 53(2): 195—199
- [16] Steffen K T, Schubert S, Tuomela M, et al. Enhancement of bioconversion of high-molecular mass polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated non-sterile soil by litter-decomposing fungi. *Biodegradation*, 2007, 18(3): 359—369
- [17] Nemerget D R, Wunch K G, Johnson R M, et al. Benzo[*a*]pyrene removal by *Marasmiellus trojanus* in soil microcosms. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2000, 25(2): 116—119
- [18] Arun A, Eyini M. Comparative studies on lignin and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by basidiomycetes fungi. *Bioresource Technology*, 2011, 102(17): 8063—8070
- [19] Atagana H I, Haynes R J, Wallis F M. Fungal bioremediation of creosote-contaminated soil: A laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fungi. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2006, 172(1/4): 201—219
- [20] Potin O, Rafin C, Veignie E. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2004, 54(1): 45—52
- [21] Cruz-Hernandez A, Tomasini-Campocoso A, Perez-Flores L J, et al. Inoculation of seed-borne fungus in the rhizosphere of *Fes-*

- tuca arundinacea* promotes hydrocarbon removal and pyrene accumulation in roots. *Plant and Soil*, 2013, 362(1/2): 261—270
- [22] Mancera-Lopez M, Esparza-Garcia F, Chavez-Gomez B, et al. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2008, 61(2): 151—160
- [23] Wang X, Gong Z Q, Li P J, et al. Degradation of pyrene and benzo(a) pyrene in contaminated soil by immobilized fungi. *Environmental Engineering Science*, 2008, 25(5): 677—684
- [24] Silva I S, dos Santos E D, de Menezes C R, et al. Bioremediation of a polyaromatic hydrocarbon contaminated soil by native soil microbiota and bioaugmentation with isolated microbial consortia. *Bioresource Technology*, 2009, 100(20): 4669—4675
- [25] Kim J D, Lee C G. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by bacterium-fungus co-cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2007, 12(4): 410—416
- [26] Wu Y C, Luo Y M, Zou D X, et al. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil with *Monilinia* sp.: Degradation and microbial community analysis. *Biodegradation*, 2008, 19(2): 247—257
- [27] Wang S X, Li X J, Liu W, et al. Degradation of pyrene by immobilized microorganisms in saline-alkaline soil. *Journal of Environmental Sciences-China*, 2012, 24(9): 1662—1669
- [28] Garon D, Sage L, Wouessidjewe D, et al. Enhanced degradation of fluorene in soil slurry by *Absidia cylindrospora* and maltosyl-cyclodextrin. *Chemosphere*, 2004, 56(2): 159—166
- [29] Xiao X, Chen H, Si C C, et al. Influence of biosurfactant-producing strain *Bacillus subtilis* BS1 on the mycoremediation of soils contaminated with phenanthrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2012, 75: 36—42
- [30] Yu X Z, Wu S C, Wu F Y, et al. Enhanced dissipation of PAHs from soil using mycorrhizal ryegrass and PAH-degrading bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186(2/3): 1206—1217
- [31] Liu S L, Luo Y M, Cao Z H, et al. Degradation of benzo a pyrene in soil with arbuscular mycorrhizal alfalfa. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2/3): 285—293
- [32] Cerniglia C E. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Past, present and future applications in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 1997, 19(5/6): 324—333
- [33] Moen M A, Hammel K E. Lipid peroxidation by the manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* is the basis for phenanthrene oxidation by the intact fungus. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(6): 1956—1961
- [34] Hofrichter M. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 2002, 30(4): 454—466
- [35] Vazquez-Duhalt R, Westlake D W S, Fedorak P M. Lignin peroxidase oxidation of aromatic compounds in systems containing organic solvents. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(2): 459—466
- [36] Hammel K E, Kalyanaraman B, Kirk T K. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[*p*]-dioxins by *Phanerochaete chrysosporium* ligninase. *Journal of Biological Chemistry*, 1986, 261(36): 16948—16952
- [37] Majcherczyk A, Johannes C, Hüttermann A. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 1998, 22(5): 335—341
- [38] Bogan B W, Lamar R T. One-electron oxidation in the degradation of creosote polycyclic aromatic hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(7): 2631—2635
- [39] Cañas A I, Alcalde M, Plou F, et al. Transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase is strongly enhanced by phenolic compounds present in Soil. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(8): 2964—2971
- [40] Wu Y C, Teng Y, Li Z G, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) oxidation by fungal laccase in the remediation of an aged contaminated soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(3): 789—796
- [41] Flemming H-C, Wingender J. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(9): 623—633
- [42] Jia C Y, Li P J, Li X J, et al. Degradation of pyrene in soils by extracellular polymeric substances (EPS) extracted from liquid cultures. *Process Biochemistry*, 2011, 46(8): 1627—1631
- [43] Wang S Z, Nomura N, Nakajima T, et al. Case study of the relationship between fungi and bacteria associated with high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 113(5): 624—630
- [44] Meulenberg R, Rijnaarts H H M, Doddema H J, et al. Partially oxidized polycyclic aromatic hydrocarbons show an increased bioavailability and biodegradability. *FEMS Microbiology Letters*, 1997, 152(1): 45—49
- [45] Furuno S, Pätzolt K, Rabe C, et al. Fungal mycelia allow chemotactic dispersal of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria in water-unsaturated systems. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(6): 1391—1398
- [46] Furuno S, Foss S, Wild E, et al. Mycelia promote active transport and spatial dispersion of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(10): 5463—5470
- [47] Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*, 2007, 176(1): 22—36
- [48] Genney D R, Alexander I J, Killham K, et al. Degradation of the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) fluorene is retarded in a Scots pine ectomycorrhizosphere. *New Phytologist*, 2004, 163(3): 641—649
- [49] Joner E J, Leyval C, Colpaert J V. Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere. *Environmental Pollution*, 2006, 142(1): 34—38
- [50] 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. Wang S G, Lin X G. Effect of mycorrhiza on bioremediation of polluted soil (In Chinese).

- Rural Eco-environment, 2001, 17(1): 56—59
- [51] Gao Y Z, Cheng Z X, Ling W T, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae contribute to the uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by plant roots. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18): 6895—6901
- [52] Finlay R D. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: With special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(5): 1115—1126
- [53] Fu D Q, Teng Y, Shen Y Y, et al. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons and microbial activity in a field soil planted with perennial ryegrass. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2012, 6(3): 330—335
- [54] Russo L, Rizzo L, Belgiorno V. Ozone oxidation and aerobic biodegradation with spent mushroom compost for detoxification and benzo(a)pyrene removal from contaminated soil. *Chemosphere*, 2012, 87(6): 595—601
- [55] Zeng J, Lin X G, Zhang J, et al. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the bacterial laccase CueO from *E. coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(6): 1841—1849
- [56] Chiaiese P, Palomba F, Galante C, et al. Transgenic tobacco plants expressing a fungal laccase are able to reduce phenol content from olive mill wastewaters. *International Journal of Phytoremediation*, 2012, 14(9): 835—844
- [57] 潘澄, 茆婷, 吴宇澄, 等. 产漆酶真菌筛选及其对 PAHs 污染土壤修复的初步研究. *土壤学报*, 2011, 48(6): 1253—1259. Pan C, Mao T, Wu Y C, et al. Screening for laccase-producing fungus and its potential in remediation of PAHs-contaminated soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(6): 1253—1259
- [58] Christ S, Wubet T, Theuerl S, et al. Fungal communities in bulk soil and stone compartments of different forest and soil types as revealed by a barcoding ITS rDNA and a functional laccase encoding gene marker. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(6): 1292—1299
- [59] Baldrian P. Wood-inhabiting ligninolytic basidiomycetes in soils: Ecology and constraints for applicability in bioremediation. *Fungal Ecology*, 2008, 1(1): 4—12
- [60] D'Annibale A, Rosetto F, Leonardi V, et al. Role of Autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(1): 28—36
- [61] Andersson B E, Lundstedt S, Tornberg K, et al. Incomplete degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil inoculated with wood-rotting fungi and their effect on the indigenous soil bacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22(6): 1238—1243
- [62] Li X Z, Wu Y C, Lin X G, et al. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil microcosms amended with mushroom cultivation substrate. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 47: 191—197
- [63] Debiane D, Garcon G, Verdin A, et al. Mycorrhization alleviates benzo[*a*]pyrene-induced oxidative stress in an in vitro chicory root model. *Phytochemistry*, 2009, 70(11/12): 1421—1427
- [64] Joner E J, Leyval C. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(11): 2371—2375
- [65] 杨婷, 林先贵, 胡君利, 等. 丛枝菌根真菌对紫花苜蓿与黑麦草修复多环芳烃污染土壤的影响. *生态与农村环境学报*, 2009, 25(4): 72—76. Yang T, Lin X G, Hu J L, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on phytoremediation of PAHs-contaminated soil by *Medicago sativa* and *Lolium muhiflorum* (In Chinese). *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2009, 25(4): 72—76
- [66] Schoch C L, Seifert K A, Huhndorf S, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(16): 6241—6246
- [67] Singleton D R, Richardson S D, Aitken M D. Pyrosequence analysis of bacterial communities in aerobic bioreactors treating polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Biodegradation*, 2011, 22(6): 1061—1073
- [68] DeRito C M, Madsen E L. Stable isotope probing reveals *Trichosporon* yeast to be active in situ in soil phenol metabolism. *ISME Journal*, 2009, 3(4): 477—485
- [69] Schmidt S N, Christensen J H, Johnsen A R. Fungal PAH-metabolites resist mineralization by soil microorganisms. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(5): 1677—1682

FUNGAL REMEDIATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS-CONTAMINATED SOIL: A REVIEW

Wu Yucheng Lin Xiangui[†]

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

Abstract Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of chemicals with potential carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects, and are mainly produced out of incomplete combustion of biomass and fossil fuel. Excessive PAHs releasing into the atmosphere may accumulate in the soil through deposition, resulting in soil pollution. Currently the techniques available for bioremediation of PAHs-contaminated soils are mostly based on the degradation function of bacteria, while the potential of fungi in soil remediation is not yet fully understood. Fungi are important components of the soil ecosystem and extremely high in diversity. Quite a number of strains of fungi, mainly Basidiomycete and Ascomycete, are capable of degrading PAHs with their intracellular cytochrome P450 or extracellular ligninolytic enzymes. And some form Mycorrhizal symbiont with plant roots, which may degrade PAHs synergistically. Thanks to the feature of fungi degrading PAHs, they have their unique advantage in reducing the concentration and ecotoxicity of PAHs in soil. In this review, an overall introduction is presented to the diversity of PAHs-degrading fungi, and their PAHs-degrading mechanism, as well as the fungal remediation techniques currently available. In addition, the concerns and problems associated with fungal remediation are discussed and prospect of its development is predicted.

Key words Polycyclic aromatic hydrocarbons; Soil pollution; Fungi; Bioremediation; Diversity; Mechanisms

(责任编辑: 卢 萍)