

DOI: 10.11766/trxb202102060081

朱燕婕, 何艳, 徐建明. 不同还原条件下多环芳烃厌氧微生物降解研究: 基于文献计量的剖析[J]. 土壤学报, 2022, 59(6): 1574–1582.  
ZHU Yanjie, HE Yan, XU Jianming. Research on Anaerobic Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Under Different Reducing Conditions: Analysis Based on Bibliometrics[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(6): 1574–1582.

# 不同还原条件下多环芳烃厌氧微生物降解研究: 基于文献计量的剖析\*

朱燕婕, 何艳<sup>†</sup>, 徐建明

(浙江大学土水资源与环境研究所, 浙江省农业资源与环境重点实验室, 杭州 310058)

**摘要:** 厌氧微生物降解是环境中多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 污染削减的重要途径。为系统、全面地了解 PAHs 厌氧微生物降解的研究现状, 以 Web of Science 核心数据库为数据源, 对该领域已发表文献进行文献计量分析, 并以厌氧环境中不同还原条件对应的电子受体还原体系为切入点, 分别论述反硝化体系、金属离子还原体系、硫酸盐还原体系和产甲烷体系中的 PAHs 厌氧微生物降解的研究进展, 在此基础上重点对土壤中 PAHs 厌氧微生物降解研究的现存理论空白和未来发展趋势进行探讨。分析结果表明, PAHs 厌氧微生物降解领域的研究整体较少, 其中, 绝大多数仅针对低环 PAHs; 不同还原条件中对产甲烷和金属离子还原体系的关注也较少; 已有研究多侧重纯培养物或水体、沉积物等环境介质, 较少基于土壤展开, 且新兴技术在该领域尚未得到广泛应用。因此, 目前针对土壤中 PAHs 厌氧微生物降解的认识尚存在诸多理论空白。土壤是环境中 PAHs 汇集和积累的重要场所, 未来应当尝试将单体稳定同位素分析、稳定同位素核酸探针、组学等多种新兴技术与传统研究方法相结合, 从多种角度深入探究土壤 PAHs 厌氧微生物降解的机制, 并将已有的理论和经验在土壤中进行验证, 以填补现存理论空白, 推进厌氧土壤中 PAHs 污染微生物修复工作的开展。

**关键词:** 多环芳烃; 厌氧微生物降解; 还原条件; 新兴技术; 土壤体系

**中图分类号:** X53      **文献标志码:** A

## Research on Anaerobic Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Under Different Reducing Conditions: Analysis Based on Bibliometrics

ZHU Yanjie, HE Yan<sup>†</sup>, XU Jianming

(Institute of Soil and Water Resources and Environmental Science, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

\* 国家重点研发计划项目 (2016YFD0200302, 2016YFD0800200)、国家自然科学基金创新研究群体项目 (41721001)、浙江省自然科学基金重大项目 (LD21D030001) 和国家现代农业产业技术体系 (CARS-04) 联合资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (Nos. 2016YFD0200302 and 2016YFD0800200), the National Natural Science Foundation of China (No. 41721001), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province of China (No. LD21D030001) and the Agriculture Research System of MOF and MARA of China (No. CARS-04)

<sup>†</sup> 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yhe2006@zju.edu.cn

作者简介: 朱燕婕 (1997—), 女, 硕士研究生, 主要研究土壤有机污染微生物修复。E-mail: 21814125@zju.edu.cn

收稿日期: 2021-02-06; 收到修改稿日期: 2021-05-11; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-08-24

**Abstract:** 【Objective】 Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a kind of persistent organic pollutants that exist widely in various environmental media. As one of the most important ways to eliminate PAHs pollution in the environment, microbial degradation has been widely studied in the past few decades. Many of the polluted environmental media may undergo anaerobic states or remain in anaerobic states, e.g. paddy soils, bottom soils, wetlands, sediments, water. However, existing studies mainly focused on the aerobic environment and paid less attention to the anaerobic environment. Considering the current situation, this study systematically and comprehensively illustrates the research status of anaerobic microbial degradation of PAHs. 【Method】 The core collection database of Web of Science was used as the data source to conduct a bibliometric analysis of published literature in this field, with the aid of two pieces of software, VOSviewer and CiteSpace. The main contents of the bibliometric analysis included the year of publication, disciplines, keywords frequencies, keywords co-occurrence and most cited papers. In addition, by classifying different electron acceptors based on their reducing sequence, this paper discussed the research progress regarding anaerobic microbial degradation of PAHs in denitrification, metal ion reducing, sulfate reducing and methanogenesis conditions, respectively, with a focus on typical degrading microbes and mechanisms. On this basis, the existing theoretical gaps and future development trends in the field of PAHs anaerobic microbial degradation in the soil were discussed emphatically. 【Result】 The results showed that since 1991, the number of studies in this field showed the trend of fluctuating growth but was still relatively small on the whole, and most of them only focused on low-ring PAHs, especially naphthalene. Among the four different reducing systems, denitrification and sulfate reducing systems were studied more extensively, while less attention was paid to metal ion reducing and methanogenesis systems. Most significantly, the majority of mechanical studies remained at a relatively superficial level, without exposing the biological mechanisms of PAHs anaerobic microbial degradation and the interactions between functional microbes. Emerging technologies have not been commonly used in this field. Most studies were based on pure culture or environmental media such as water and sediment, but few were based on soil system. 【Conclusion】 As a result, there are still many theoretical gaps in the understanding of anaerobic microbial degradation of PAHs in the soil at present. Soil is the main site for the confluence and accumulation of PAHs in the environment. In the future, researchers should try to combine Compound-specific Stable Isotope Analysis (CSIA), DNA-stable isotope probing (DNA-SIP), Omics and other emerging technologies with traditional research methods to explore the mechanisms of PAHs anaerobic microbial degradation in the soil from a variety of different aspects, and verify the applicability of existing theories and experience to the soil, so as to fill the current theoretical gaps and promote the microbial remediation of PAHs pollution in anaerobic soil.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons; Anaerobic microbial degradation; Reducing conditions; Emerging technologies; Soil system

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是指含两个或两个以上苯环的碳氢化合物, 广泛存在于大气、土壤、水体等环境介质中, 是威胁生态安全和人类健康的一种典型持久性有机污染物, 具有致癌、致畸、致突变性。美国国家环保局 (USEPA) 规定了 16 种优先控制 PAHs, 包括两环的萘, 三环的蒽、菲、芘、芘烯、芴, 四环的荧蒽、苯并[a]蒽、芘、䓛, 五环的苯并[k]荧蒽、苯并[b]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,n]蒽和六环的茚并[1,2,3-c,d]芘、苯并[g,h,i]芘。

微生物降解是环境中 PAHs 削减的重要途径之一<sup>[1]</sup>。相关研究兴起之初, 研究者主要关注好氧条件下的降解过程。大约从 20 世纪 70 年代开始, 有

研究者发现厌氧条件下 PAHs 同样能够发生微生物降解, 但降解机理与好氧条件下不同<sup>[2]</sup>。土壤是环境中 PAHs 汇集和积累的重要场所, 研究表明, 我国表层土壤普遍受到 PAHs 污染<sup>[3]</sup>, 而许多受 PAHs 污染的土壤会经历甚至长期处于厌氧状态 (例如底层土壤、稻田等)<sup>[4]</sup>, 因此, 深入研究 PAHs 的厌氧降解对准确认知 PAHs 污染土壤的自净功能及修复原理具有重要意义。鉴于此, 本文先以 Web of Science 核心数据库为数据源, 利用 VOSviewer 和 CiteSpace 软件对 PAHs 厌氧微生物降解相关研究进行文献计量分析, 并综述不同环境介质或研究体系中已开展的不同电子受体作用下 PAHs 厌氧微生物降解研究进展, 梳理稳定同位素核酸探针 (DNA-SIP)

和组学 (Omics) 等新兴技术在该研究领域的最新应用案例。在此基础上, 重点探讨土壤 PAHs 厌氧微生物降解研究领域的现存理论空白, 并据此进行未来研究展望, 为完善厌氧土壤中 PAHs 的污染自净与修复原理提供支撑。

## 1 材料与方 法

### 1.1 数据来源

数据来源于美国汤森路透公司 (Thomson Reuters) Web of Science (WOS) 核心合集数据库, 检索时间为 2021 年 1 月 29 日。检索主题为: ("polycyclic aromatic hydrocarbon?" or "PAH?" or naphthalene or anthracene or phenanthrene or fluoranthene or pyrene or benzo[a]pyrene) AND (anaerobic or anoxic) AND (biodegradation or microbial degradation or bacteria degradation or microbial metabolism or bacteria metabolism), 其中双引号 ("") 作用是将词组作为一个整体进行检索; 问号 (?) 表示任意字符, 包括空字符。时间跨度选择所有年份。

### 1.2 研究方法

利用 WOS 自带的“分析检索结果”功能进行各学科和各年份文献发文量统计; 导出检索到的 767 篇文献的全纪录与引用的参考文献, 利用 VOSviewer.1.6.16 进行关键词共现分析和频数统计 (为确保分析结果的准确性, 采用如下分析途径: 分析类型选择“co-occurrence”, 分析单元选择“author keywords”; 关键词共现图中频数阈值设置为 5, 频数统计表不设置阈值; 手动合并同义词); 利用 CiteSpace.5.7.R2, 以 5 年为时间切片进行文献共被引分析。

## 2 结 果

### 2.1 PAHs 厌氧微生物降解领域文献产出趋势和学科分布

发文数量可反映一个研究领域受重视的程度及发展水平<sup>[5]</sup>。由于 PAHs 微生物降解相关的研究大多围绕好氧环境展开, 较少关注厌氧环境, 因此仅检索到 767 篇文献, 发表年份最早为 1991 年。但从 1991 年至 2020 年, 发文量整体呈波动式增长趋势 (图 1)。

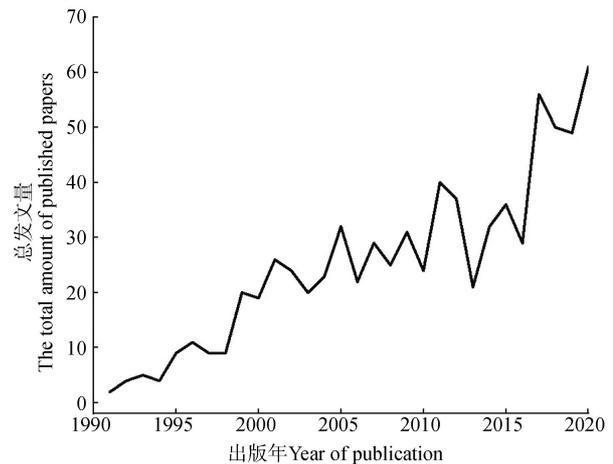


图 1 1991—2020 年多环芳烃 (PAHs) 厌氧微生物降解领域发文量

Fig. 1 The amount of papers about PAHs anaerobic microbial degradation during 1991-2020

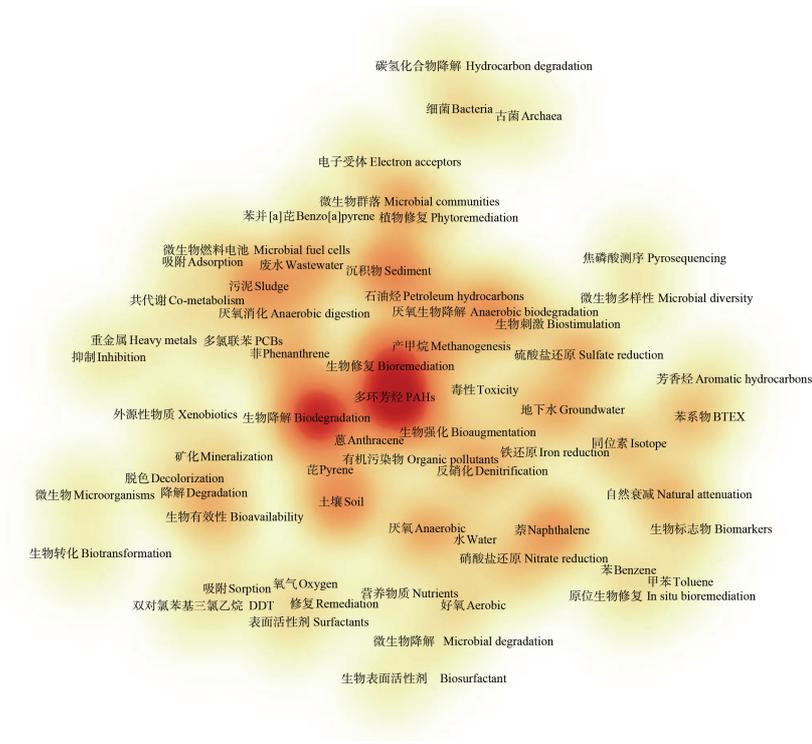
按照不同学科进行分类 (表 1) 可知, 环境科学发文量 (421) 远高于其他学科, 表明 PAHs 厌氧微生物降解与环境科学学科领域相关性最高。水资源学发文量 (109) 排名靠前, 而土壤学却排在第 22 位, 总发文量仅 9 篇 (表中未列出)。

表 1 PAHs 厌氧微生物降解领域发文量排名前五的学科

学科 Disciplines	总发文量 The total amount of papers
环境科学 Environmental Sciences	421
环境工程学 Engineering Environment	170
生物技术与应用微生物学 Biotechnology	160
Applied Microbiology	160
微生物学 Microbiology	122
水资源学 Water Resources	109

### 2.2 PAHs 厌氧微生物降解领域文献关键词及研究热点

文献作者给出的关键词是对主旨的高度概括, 因此进行关键词共现分析是了解研究热点的一种高效途径<sup>[6]</sup>。基于 VOSviewer 软件进行关键词共现分析 (图 2), 通过人为判断可知, 该领域大致有以下几个热点内容: 不同还原条件下的 PAHs 厌氧降解菌筛选及其特性研究 (如关键词 nitrate reduction、sulfate reduction、methanogenesis、iron reduction、



注：某关键词出现频率越高、相邻关键词个数越多，则其背景色越接近红色。Note: The higher the occurrence frequency of a keyword and the more the number of its adjacent keywords, the closer its background color to red.

图 2 PAHs 厌氧微生物降解领域关键词共现分析

Fig. 2 Keyword co-occurrence analysis of papers about PAHs anaerobic microbial degradation

bacteria、microbial communities 等)、厌氧环境中 PAHs 转化途径及微生物修复策略(如关键词 biotransformation、bioremediation、in situ bioremediation、bioaugmentation 等)、影响 PAHs 厌氧微生物降解效率的因素(如关键词 biostimulation、bioavailability、inhibition、nutrients、surfactants 等)。

为直观地反映该领域研究的侧重点，对 PAHs 类型、还原条件、环境介质及新兴技术相关关键词频数进行分类统计(表 2)。在各类 PAHs 中，萘作为关键词出现的频数最高(频数 43)，其次是菲(频数 28)，而高环 PAHs 如蒽(频数 13)和苯并[a]蒽(频数 7)出现的频数较低；常见的电子受体还原体系中，硝酸盐还原和反硝化作为关键词出现的总频数最高(频数 48)，其次是硫酸盐还原(频数 31)和产甲烷(频数 29)，金属离子还原体系文献数量最少且几乎仅针对铁还原体系(频数 12)；在不同的环境介质中，水体(包括水、地下水和废水)作为关键词出现的总频数最高(频数 76)，这与学科发文量分析结果(表 1)一致；与新兴技术相关的关键词，如同位素(包括单体稳定同位素分析

(CSIA)、DNA-SIP 等)、组学、16s rRNA 测序技术，出现频数均不高(低于 23)。

### 2.3 PAHs 厌氧微生物降解领域重要文献分析

利用 CiteSpace 软件，进行文献共被引分析得到该领域被引频次最高的六篇文献(图 3)，包括：1997 年由 Coates 等<sup>[7]</sup>发表于 *Applied and Environmental Microbiology* 的研究论文，发现硫酸盐还原能够与多种 PAHs 的厌氧微生物降解相耦合；同年，由 Zhang 和 Young<sup>[8]</sup>发表于同期刊的研究论文，首次提出羧化是硫酸盐还原条件下萘和菲微生物降解的活化途径；2000 年，由 Rockne 等<sup>[9]</sup>发表于同期刊的研究论文，首次报道了纯培养条件下以硝酸盐为电子受体的萘降解；同年，由 Meckenstock 等<sup>[10]</sup>发表于同期刊的研究论文，对某菌群在硫酸盐还原条件下降解萘的途径进行探究，进而验证了 Zhang 和 Young<sup>[8]</sup>的观点；2009 年和 2016 年，由 Haritash 和 Kaushik<sup>[11]</sup>与 Meckenstock 等<sup>[12]</sup>分别发表于 *Journal of Hazardous Material* 及 *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 的综述，对 PAHs 厌氧微生物降解的研究进展进行了系统的阐述。

表 2 PAHs 厌氧微生物降解领域关键词分类统计

Table 2 Keywords classified statistic of papers about PAHs anaerobic microbial degradation

类别	关键词	总频数
Classifications	Keywords	Total frequencies
PAHs 类型	萘 Naphthalene	43
Types of PAHs	菲 Phenanthrene	28
	芘 Pyrene	13
	苯并[a]芘 Benzo[a]pyrene	7
还原条件	反硝化/硝酸盐还原	48
Reducing conditions	Denitrification / nitrate reduction	48
	硫酸盐还原 Sulfate reduction	31
	铁还原 Iron reduction	12
	产甲烷 Methanogenesis	29
污染介质类型	水/地下水/废水 Water / groundwater / wastewater	76
Types of polluted media	沉积物 Sediment	63
	土壤 Soil	54
	污泥 Sludge	48
新兴技术	同位素 Isotope	22
Emerging technologies	组学 Omics	13
	16s rDNA /16s rRNA	12

综上, PAHs 厌氧微生物降解的研究在近 30 年间逐渐得到重视, 但总发文量仍较少; 最主要的发文学科为环境科学; 研究热点主要包括不同还原条

件下的 PAHs 厌氧降解菌筛选及降解机制研究、厌氧环境中 PAHs 迁移转化及原位微生物修复策略、影响 PAHs 厌氧微生物降解效率的因素等; 在不同类型的 PAHs 中, 萘得到了最广泛的关注, 而高环 PAHs 相关文献较少; 在常见的还原体系中, 硝酸盐还原体系受到最多关注, 硫酸盐还原体系次之, 而产甲烷体系和金属离子还原体系文献数量较少; 新兴技术在该领域的应用较少。此外, 值得强调的是, 综合表 1 和表 2 的数据可知, 土壤学学科在该领域的发文量非常少, 且针对土壤体系的研究少于水相和沉积物体系。

### 3 讨论

基于上述文献计量分析, 进一步对不同还原条件下 PAHs 厌氧微生物降解的研究进展进行剖析。好氧环境中, PAHs 降解以氧气 ( $O_2$ ) 为电子受体; 厌氧环境中  $O_2$  缺乏, 需要  $NO_3^-$ 、 $Mn^{4+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $CO_2$  等氧化态物质依次替代  $O_2$  作为电子受体, 接受微生物厌氧氧化 PAHs 释放的电子, 发生顺序还原, 同时介导反硝化、金属离子还原、硫酸盐还原和产甲烷等反应过程<sup>[13-14]</sup> (图 4)。由于微生物对电子受体的利用存在选择性, 因此不同还原条件下, 主导电子受体不同, 参与 PAHs 降解的关键微生物通常也不同, 降解机理也存在差异, 这导致厌氧条件下的 PAHs 微生物降解较好氧条件下更复杂。

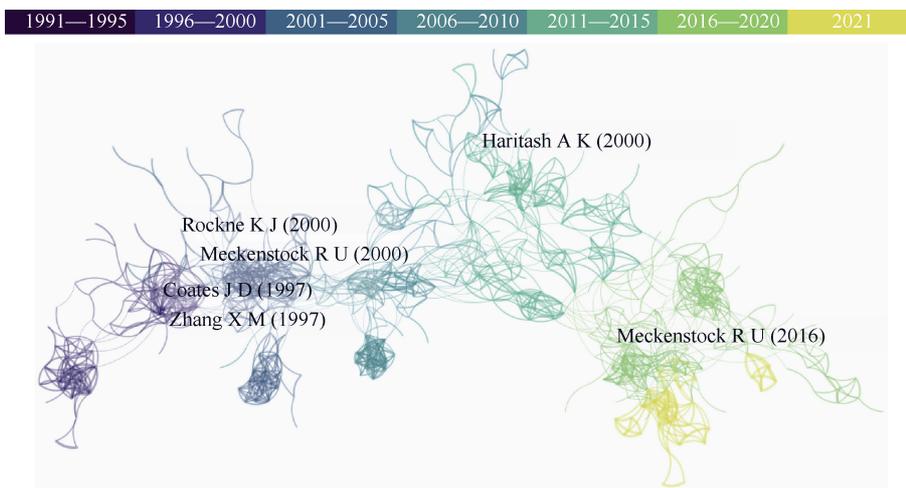
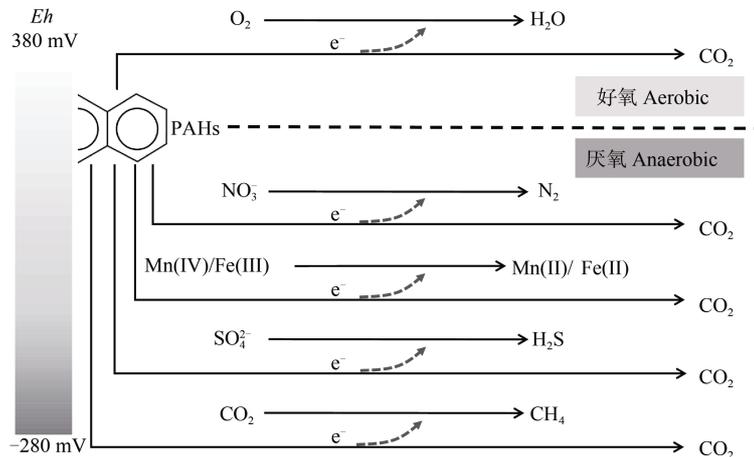


图 3 PAHs 厌氧微生物降解领域文献共被引分析

Fig. 3 Co-cited analysis of papers about PAHs anaerobic microbial degradation



注：图中 Eh 指 pH=6.5 时发生还原反应所需的氧化还原电位。其中，不同电子受体还原的 Eh 区间大致为： $O_2 \rightarrow H_2O$ ,  $Eh=380 \sim 320$  mV； $NO_3^- \rightarrow N_2$ ,  $Eh=280 \sim 220$  mV； $Mn(IV) \rightarrow Mn(II)$ ,  $Eh=220 \sim 180$  mV； $Fe(III) \rightarrow Fe(II)$ ,  $Eh=110 \sim 80$  mV； $SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$ ,  $Eh=-140 \sim -170$  mV； $CO_2 \rightarrow CH_4$ ,  $Eh=-200 \sim -280$  mV<sup>[15]</sup>。Note: Eh refers to the redox potentials at which the reduction reactions occur at pH 6.5. Including:  $O_2 \rightarrow H_2O$ ,  $Eh=380 \sim 320$  mV； $NO_3^- \rightarrow N_2$ ,  $Eh=280 \sim 220$  mV； $Mn(IV) \rightarrow Mn(II)$ ,  $Eh=220 \sim 180$  mV； $Fe(III) \rightarrow Fe(II)$ ,  $Eh=110 \sim 80$  mV； $SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$ ,  $Eh=-140 \sim -170$  mV； $CO_2 \rightarrow CH_4$ ,  $Eh=-200 \sim -280$  mV<sup>[15]</sup>。

图 4 PAHs 降解与不同电子受体的还原作用

Fig. 4 PAHs degradation and the reduction of different electron acceptors

### 3.1 反硝化体系 PAHs 厌氧微生物降解

文献计量结果发现，针对反硝化（硝酸盐还原）体系的文献较多（表 2，频数 48）。这是由于厌氧条件下硝酸盐作为电子受体具有优先利用性，环境中存在着许多可在反硝化条件下降解 PAHs 的细菌。例如，萘降解菌群 NAP-3-1、NAP-3-2、NAP-4<sup>[9]</sup>，以及菲降解菌 PheN1<sup>[16]</sup>和菌群 PheN9<sup>[17]</sup>等。这方面的研究多集中于探索降解菌特性或影响降解效率的因素，围绕降解机制的相对较少。例如，Qin 等<sup>[18]</sup>提出反硝化条件下苯并[a]芘降解通过加氢还原活化，最终进入萘降解途径。Zhang 等<sup>[16-17]</sup>结合基因组测序和降解产物分析，证实反硝化条件下菲降解存在羧化和甲基化两种活化方式。除  $NO_3^-$  和  $NO_2^-$  外，近期 Zhang 等<sup>[19]</sup>首次证实 NO 也可作为 PAHs 厌氧降解的电子受体。

### 3.2 金属离子还原体系 PAHs 厌氧微生物降解

高价金属离子，特别是 Fe(III) 和 Mn(IV)，也可作为 PAHs 厌氧微生物降解的电子受体。除铁锰之外，近期钒(V[V])被发现可作为菲厌氧微生物降解的电子受体<sup>[20]</sup>。根据文献计量结果，此方面研究数量最少（如表 2，频数 12），已有的报道重点关注该还原体系中 PAHs 的降解途径。例如，Yan

等<sup>[21]</sup>发现铁还原条件下苯并[a]芘降解会生成 5-乙基蒽、蒽、菲等中间产物。Marozava 等<sup>[22]</sup>结合 DNA-SIP 技术与生物信息学分析推测 1-甲基萘降解将依次生成萘-2-甲基琥珀酸和 2-萘甲酸。典型降解菌包括萘降解菌群 N49<sup>[23]</sup>、菲降解菌 PheF2<sup>[24]</sup>等。

### 3.3 硫酸盐还原体系 PAHs 厌氧微生物降解

文献计量分析表明，针对硫酸盐还原体系的文献数量较多（表 2，频数 31），仅次于反硝化体系。典型降解菌包括萘降解菌 NaphS3、NaphS6<sup>[25]</sup>、菌群 N47 及菲降解菌 PheS2<sup>[26]</sup>等。针对该体系，有较多研究对 PAHs 的降解机制展开了深入探讨。例如，Safinowski 和 Meckenstock<sup>[27]</sup>研究表明，甲基化是菌群 N47 降解萘的活化方式。而 Musat 等<sup>[25]</sup>则发现菌株 NaphS3 和 NaphS6 降解萘的活化方式为羧化。由此可知，硫酸盐还原条件下萘的微生物降解存在甲基化和羧化两种活化方式。还有研究者对萘的下游降解途径进行了探究，并证实该过程中有辅酶 A 参与<sup>[28-29]</sup>。部分研究者还借助组学技术研究了硫酸盐还原条件下 PAHs 降解的生物学机制。例如，Kraiselburd 等<sup>[30]</sup>采用转录组学和蛋白组学的方法推断出硫酸盐还原菌群降解菲的途径。Qian 等<sup>[31]</sup>采用宏基因组技术，揭示了硫酸盐还原条件下两种菌株

协同降解复合 PAHs 污染的机制。

### 3.4 产甲烷体系 PAHs 厌氧微生物降解

自然界中长期处于强还原条件的厌氧环境介质通常缺乏硫酸盐、硝酸盐或高价金属离子作为电子受体,而  $\text{CO}_2$  或碳酸盐普遍存在,因此,产甲烷条件下的微生物降解是环境中 PAHs 削减的重要途径之一。而文献计量结果揭示出针对产甲烷体系的研究相对较少(表 2, 频数 29)。可能原因之一是该体系中 PAHs 微生物降解涉及甲烷的产生并伴随放热过程,使反应体系相对复杂。目前在该还原体系中分离得到的功能菌非常少,且已有研究鲜有涉及降解机制。有研究者<sup>[32]</sup>采用 DNA-SIP、16S rRNA 测序和基因组学技术,首次尝试对产甲烷条件下的 PAHs 微生物降解进行深入研究,但并未识别出具体降解机制。

### 3.5 已有研究的不足之处

半个多世纪以来,研究者已从不同角度对 PAHs 的厌氧微生物降解进行了探究,取得了长足进展。但根据文献计量和综述的综合分析,目前该领域仍存在许多理论空白。首先,实际环境中 PAHs 污染常以复合形式存在。低环 PAHs 分子结构简单,相对易于被微生物直接作为碳源和能源进行呼吸代谢,因此得到了较广泛的研究。例如,萘结构简单,常被作为“模式 PAH”,综合已有的报道可知,厌氧条件下萘主要通过甲基化或羧化途径活化,之后在脱氢酶、水合酶等一系列酶的催化下逐步断键、开环并最终转化为  $\text{CO}_2$ 。而高环 PAHs 分子结构复杂、性质稳定,难以被微生物直接利用,因此相关报道较少,导致其厌氧微生物降解机制仍不明确,目前可用于高环 PAHs 污染修复的微生物种类也十分有限。

其次,虽然研究者已分离出多种 PAHs 降解菌,但它们发挥降解功能通常依赖于菌群协作。由此可以预见,在受 PAHs 污染的实际厌氧环境中,微生物种类繁多、环境条件复杂多变,发挥降解功能的可能不是某一种或几种微生物,而是由 PAHs 降解菌和电子受体还原菌构成的菌群。前者降解 PAHs 产生的电子经过一系列中间反应最终传递给后者,二者相互依赖并共同发挥功能,在介导 PAHs 厌氧降解过程中,同步发生不同的还原反应。但截至目前,该领域围绕菌群协作的研究尚较缺乏。特别是产甲烷条件下,降解过程关联温室效应,更应受到重视。再者,关于降解机制的探讨大多仅通过检测降解产物来推断降解途径,而未深入挖掘内在的生物学机制,包括在微生物

细胞中的转运过程、关键酶和功能基因、与微生物体内蛋白及小分子代谢产物的互作关系等。

此外,最重要的是,前已述及,已有研究多在纯培养物或水体等环境介质中进行,关注土壤体系的相对偏少,而土壤是环境中 PAHs 汇集和积累的重要场所,且许多土壤会经历甚至长期处于厌氧状态,这凸显了深入研究土壤 PAHs 厌氧微生物降解的必要性。然而,土壤是一个具有高度复杂性和多变性的动态体系,基于纯培养物和水体等简单体系研究所得的理论很大程度上并不适用于揭示土壤中发生的相关过程与机制。土壤微生物种类繁多,群落中各物种存在紧密互作,而现有研究大多仅关注个别发挥关键功能的微生物,忽略了微生物之间的网络关联,因此关于受 PAHs 污染的厌氧土壤中微生物如何“各司其职”、协同降解 PAHs,如何进行电子传递,以及污染胁迫下微生物群落的响应和适应机制等,目前的认知仍十分有限。主要原因之一是难以在实验室中复刻自然土壤中的复杂微生物群落。宏基因组技术是研究复杂微生物群落的强大工具,不仅可用于揭示群落中大量微生物的遗传和功能特性,甚至可利用其设计培养基以分离培养原本未培养的微生物<sup>[33]</sup>。在芳香烃降解相关的报道中,有研究者利用该技术预测未培养微生物的污染物代谢能力<sup>[34-35]</sup>,探讨自然削减过程中不同微生物类群所发挥的功能和互作关系<sup>[36]</sup>,或揭示污染物与其他营养物质的共代谢机制<sup>[37]</sup>等,上述研究均证实了宏基因组技术的广阔前景。但文献计量和综述结果均表明,目前该技术在土壤 PAHs 厌氧微生物降解的研究中少有应用。此外,CSIA、DNA-SIP 等技术也并未得到广泛应用。因此,该领域仍存在一定的发展空间。

## 4 结 论

以  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Mn}^{4+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_2$  等为电子受体的 PAHs 厌氧微生物降解是厌氧环境中 PAHs 削减的重要途径之一。过去几十年间,PAHs 厌氧微生物降解逐渐得到重视,但相关文献数量仍不多。综合文献计量和综述的结果可知,该领域研究现存的不足之处主要包括:高环 PAHs 的降解机制,产甲烷等还原条件下的 PAHs 降解机制,以及土壤等复杂介质中微生物协同降解 PAHs 的机制等。已有的机理性研究大多停留在较浅显的层面。这在很大程度

上限制了绿色高效的污染修复方法的开发。

土壤作为环境中 PAHs 汇集和积累的主要场所，应该受到重点关注，而实际情况并非如此，迫切需要研究跟进。未来的研究可将新兴技术与传统方法相结合，侧重从以下几个方面展开研究工作：

(1) 利用 DNA-SIP 技术发掘在厌氧条件下能够直接降解高环 PAHs 的新型菌株，并结合稳定同位素示踪技术研究具体降解途径；(2) 筛选适应能力强、降解效率高的微生物，并研究其在不同厌氧土壤环境中的存活情况和适应能力，进而发掘能够用于厌氧土壤中复合 PAHs 污染原位修复的微生物，并探究提高修复效率的措施；(3) 将宏基因组与蛋白组学、转录组学和代谢组学等多种组学技术相结合，研究与 PAHs 厌氧降解相关的基因、蛋白和小分子代谢物，进而探究降解菌同化 PAHs 的生物学机制；(4) 利用基因组学技术，寻找能够指示 PAHs 厌氧降解菌的基因标志物；(5) 利用稳定同位素示踪、DNA-SIP 和组学等技术及微生物网络分析，研究实际厌氧土壤中微生物协同降解 PAHs 的机制，并结合电化学技术阐明 PAHs 厌氧降解与电子受体还原过程之间的耦合机制；(6) 对多种典型降解菌进行降解产物鉴定，结合 CSIA 技术，研究不同还原条件下 PAHs 厌氧微生物降解途径及同位素分馏效应，明确降解途径是否与电子受体类型直接相关，并探究同位素富集系数能否用于判断 PAHs 厌氧降解途径。此外，最重要的是，无论从何种角度开展研究，最终均应回归土壤，将所得出的理论经验在土壤中进行验证，确保其适用于揭示土壤 PAHs 厌氧微生物降解相关过程与机制。只有这样才能准确认知厌氧土壤中 PAHs 的污染自净功能，完善发展厌氧土壤中 PAHs 污染的强化修复方法原理。

## 参考文献 (References)

- [ 1 ] Davie-Martin C L, Stratton K G, Teeguarden J G, et al. Implications of bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils for human health and cancer risk[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51 ( 17 ): 9458—9468.
- [ 2 ] Williams P A, Catterall F A, Murray K. Metabolism of naphthalene, 2-methylnaphthalene, salicylate, and benzoate by *Pseudomonas* PG regulation of tangential pathways[J]. *Journal of Bacteriology*, 1975, 124 ( 2 ): 679—685.
- [ 3 ] Zhang P, Chen Y G. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons contamination in surface soil of China: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 605: 1011—1020.
- [ 4 ] Han X, Wang F, Zhang D, et al. Nitrate-assisted biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the water-level-fluctuation zone of the three Gorges Reservoir, China: Insights from in situ microbial interaction analyses and a microcosmic experiment[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 268: 115693.
- [ 5 ] Yan K, Lou J, Wang H Z, et al. Research of contaminated sites based on knowledge graph analysis and its development trend[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58 ( 5 ): 1234-1245. [严康, 楼骏, 汪海珍, 等. 污染场地研究现状与发展趋势: 基于知识图谱的分析[J]. *土壤学报*, 2021, 58 ( 5 ): 1234-1245.]
- [ 6 ] He Y, Huang X W, Cheng Z Y, et al. Proposals for research on protection and functional improvement of soil environment in soybean producing area in face of the new situation[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58 ( 2 ): 269—280. [何艳, 黄晓伟, 程中一, 等. 新形势下大豆产地土壤环境保护与功能提升的研发建议[J]. *土壤学报*, 2021, 58 ( 2 ): 269—280.]
- [ 7 ] Coates J D, Woodward J, Allen J, et al. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63 ( 9 ): 3589—3593.
- [ 8 ] Zhang X, Young L Y. Carboxylation as an initial reaction in the anaerobic metabolism of naphthalene and phenanthrene by sulfidogenic consortia[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63 ( 12 ): 4759—4764.
- [ 9 ] Rockne K J, Chee-Sanford J C, Sanford R A, et al. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66 ( 4 ): 1595—1601.
- [ 10 ] Meckenstock R U, Annweiler E, Michaelis W, et al. Anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66 ( 7 ): 2743—2747.
- [ 11 ] Haritash A K, Kaushik C P. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169( 1/3 ): 1—15.
- [ 12 ] Meckenstock R U, Boll M, Mouttaki H, et al. Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2016, 26 ( 1/2/3 ): 92—118.
- [ 13 ] Yang X N, Li E Z, Liu F F, et al. Interactions of PAH-degradation and nitrate-/sulfate-reducing assemblages in anaerobic sediment microbial community[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 388: 122068.
- [ 14 ] Nzila A. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 788—802.

- [ 15 ] R W R, Brady N C, Brady N C. The nature and properties of soils[M]. Fifteenth. Columbus: Pearson, 2017.
- [ 16 ] Zhang Z T, Sun J, Guo H J, et al. Anaerobic biodegradation of phenanthrene by a newly isolated nitrate-dependent *Achromobacter denitrificans* strain PheN1 and exploration of the biotransformation processes by metabolite and genome analyses[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23 ( 2 ): 908—923.
- [ 17 ] Zhang Z T, Guo H J, Sun J, et al. Investigation of anaerobic phenanthrene biodegradation by a highly enriched co-culture, PheN9, with nitrate as an electron acceptor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 383: 121191.
- [ 18 ] Qin W, Zhu Y, Fan F, et al. Biodegradation of benzo[a]pyrene by *Microbacterium* sp strain under denitrification: Degradation pathway and effects of limiting electron acceptors or carbon source[J]. Biochemical Engineering Journal, 2017, 121: 131—138.
- [ 19 ] Zhang D J, Han X K, Zhou S B, et al. Nitric oxide-dependent biodegradation of phenanthrene and fluoranthene: The co-occurrence of anaerobic and intra-aerobic pathways[J]. Science of the Total Environment, 2021, 760: 144032.
- [ 20 ] Shi J X, Zhang B G, Cheng Y T, et al. Microbial vanadate reduction coupled to co-metabolic phenanthrene biodegradation in groundwater[J]. Water Research, 2020, 186: 116354.
- [ 21 ] Yan Z, Zhang Y, Wu H, et al. Isolation and characterization of a bacterial strain *Hydrogenophaga* sp PYR1 for anaerobic pyrene and benzo[a]pyrene biodegradation[J]. RSC Advances, 2017, 7 ( 74 ): 46690—46698.
- [ 22 ] Marozava S, Mouttaki H, Müller H, et al. Anaerobic degradation of 1-methylnaphthalene by a member of the *Thermoanaerobacteraceae* contained in an iron-reducing enrichment culture[J]. Biodegradation, 2018, 29 ( 1 ): 23—39.
- [ 23 ] Kleemann R, Meckenstock R U. Anaerobic naphthalene degradation by Gram-positive, iron-reducing bacteria[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 78 ( 3 ): 488—496.
- [ 24 ] Zhang Z T, Guo H J, Sun J, et al. Exploration of the biotransformation processes in the biodegradation of phenanthrene by a facultative anaerobe, strain PheF2, with Fe ( III ) or O<sub>2</sub> as an electron acceptor[J]. Science of the Total Environment, 2021, 750: 142245.
- [ 25 ] Musat F, Galushko A, Jacob J, et al. Anaerobic degradation of naphthalene and 2-methylnaphthalene by strains of marine sulfate-reducing bacteria[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11 ( 1 ): 209—219.
- [ 26 ] Zhang Z, Sun J, Guo H, et al. Investigation of anaerobic biodegradation of phenanthrene by a sulfate-dependent *Geobacter sulfurreducens* strain PheS2[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 409: 124522.
- [ 27 ] Safinowski M, Meckenstock R U. Methylation is the initial reaction in anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8 ( 2 ): 347—352.
- [ 28 ] Weyrauch P, Heker I, Zaytsev A V, et al. The 5, 6, 7, 8-tetrahydro-2-naphthoyl-Coenzyme A reductase reaction in the anaerobic degradation of naphthalene and identification of downstream metabolites[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86( 15 ): e00996-20.
- [ 29 ] Weyrauch P, Zaytsev A V, Stephan S, et al. Conversion of *Cis*-2-carboxycyclohexylacetyl-CoA in the downstream pathway of anaerobic naphthalene degradation[J]. Environmental Microbiology, 2017, 19 ( 7 ): 2819—2830.
- [ 30 ] Kraiselburd I, Bröls T, Heilmann G, et al. Metabolic reconstruction of the genome of candidate *Desulfatiglans* TRIP<sub>1</sub> and identification of key candidate enzymes for anaerobic phenanthrene degradation[J]. Environmental Microbiology, 2019, 21 ( 4 ): 1267—1286.
- [ 31 ] Qian Y, Xu M, Deng T, et al. Synergistic interactions of *Desulfovibrio* and *Petrimonas* for sulfate-reduction coupling polycyclic aromatic hydrocarbon degradation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 407: 124385.
- [ 32 ] Toth C R A, Berdugo-Clavijo C, O'farrell C M, et al. Stable isotope and metagenomic profiling of a methanogenic naphthalene-degrading enrichment culture[J]. Microorganisms, 2018, 6 ( 3 ): 65.
- [ 33 ] Kwak M J, Kong H G, Choi K, et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. Nature Biotechnology, 2018, 36 ( 11 ): 1100—1109.
- [ 34 ] Liu Y F, Qi Z Z, Shou L B, et al. Anaerobic hydrocarbon degradation in candidate Phylum '*Atribacteria*' ( JS1 ) inferred from genomics[J]. The ISME Journal, 2019, 13 ( 9 ): 2377—2390.
- [ 35 ] Dong X Y, Greening C, Rattray J E, et al. Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments[J]. Nature Communications, 2019, 10 ( 1 ): 1816.
- [ 36 ] Hu P, Tom L, Singh A, et al. Genome-resolved metagenomic analysis reveals roles for candidate phyla and other microbial community members in biogeochemical transformations in oil reservoirs[J]. MBio, 2016, 7 ( 1 ): e01669-15.
- [ 37 ] Sun Y, Liu L, Zeng J, et al. Enhanced cometabolism of benzo[a]anthracene by the lignin monomer vanillate is related to structural and functional responses of the soil microbiome[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2020, 149: 107908.

( 责任编辑: 陈荣府 )