多环芳烃降解微生物与培养技术的研究进展

杨灼南[1]，邢　军[2]，靳奥飞[1]，吕倩婧[1]，王　箐[1]，张　瑞[1*]

（1. 新疆师范大学 生命科学学院，新疆 乌鲁木齐　830054；2. 新疆大学 生命科学学院，新疆 乌鲁木齐　830046）

摘　要　多环芳烃（PAHs）作为一类典型的有机污染物在环境中难以自然降解，而微生物凭借其环境适应性，在 PAHs 降解过程中具有不可替代的作用，因此开发高效的 PAHs 降解微生物实验室分离培养技术是未来的研究方向。本文对 PAHs 降解微生物种类及其培养技术和方法进行了综述，指出了微生物包括细菌、真菌、藻类（本文特指属于微生物范畴的微型藻类）和放线菌等降解多环芳烃的不同机理，以及通过有氧或厌氧降解 PAHs 的代谢途径，并讨论了不同类型的传统和新型培养技术，对比分析了传统培养技术（如优化培养基成分、调整培养基结构等）和新型培养技术（如细胞分选技术等）的特点与应用，有助于筛选更有效的培养方法，挖掘更多 PAHs 降解微生物，进一步推动 PAHs 降解微生物的研究，为解决 PAHs 污染问题提供理论依据和技术支持。

关键词　多环芳烃（PAHs）；降解微生物；降解途径；酶系统；培养技术

中图分类号　Q935　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1005－7021（2026）02－0116－13

doi：10.3969/j.issn.1005－7021.2026.02.011

Advances on the Microorganisms and their Cultivation Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Degradation

YANG Zhuo-nan[1], XING Jun[2], JIN Ao-fei[1], LU Qian-jing[1], WANG Qing[1], ZHANG Rui[1*]

（1. *College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi* 830054;
2. *College of Life Sciences, Xinjiang University, Urumqi* 830046）

Abstract　Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), as a typical class of organic pollutants, are difficult to naturally degrade in the environment. However, microorganisms, by virtue of their environmental adaptability, play an irreplaceable role in the degradation process of PAHs. Therefore, the development of efficient laboratory isolation and cultivation techniques for PAHs-degrading microorganisms has become a research direction. This article reviews the types of PAHs-degrading microorganisms, as well as their cultivation techniques and methods. It points out the different mechanisms of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, including bacteria, fungi, algae (specifically microalage belonging to the category of microorganisms), and actinomycetes, etc., and their metabolic pathways for degrading PAHs under aerobic or anaerobic conditions. Additionally, it discusses different types of traditional and novel cultivation techniques, and makes a comparative analysis of the characteristics and applications of traditional cultivation techniques (such as optimizing the composition of the culture medium and adjusting the structure of the culture medium, etc.) and novel cultivation techniques (such as cell sorting technology, etc.). This is helpful for screening more effective cultivation methods, exploring more PAHs-degrading microorganisms, further promoting the research on polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading microorganisms, and providing theoretical basis and technical support for solving the problem of PAHs pollution.

Keywords　polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); degrading microorganisms; degradation pathways; enzyme system; culture techniques

基金项目：新疆维吾尔自治区自然科学基金重点项目（2022D01D42）

作者简介：杨灼南　男，硕士研究生。主要研究方向为应用微生物。E-mail：2549092095@qq.com

* 通讯作者。女，教授，硕士，硕士生导师。主要研究方向为应用微生物。E-mail：zhangrui1124@xjnu.edu.cn

收稿日期：2025-06-07

中国知网　https://www.cnki.net

多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)是一种具有持续性的有机污染物,是由两个或两个以上的苯环组合而成的碳氢化合物[1],由于 PAHs 具有疏水性和稳定性的特点,随着苯环数量增加,其在环境中的留存时间变得更长,毒性也愈发强烈,同时由于 PAHs 具有致癌、致畸、致突变的"三致效应",对人体健康也存在潜在危害,因此去除环境中 PAHs 是目前的研究热点之一[2]。从经济和环境治理层面来看,持久性污染物的生物降解和生物修复属于最有利的生物技术干预措施,相较物理和化学方法去除 PAHs 时存在成本高、操作复杂、对环境造成二次污染等局限性,利用微生物降解不会造成二次污染,能够高效地转化污染物为低毒的中间代谢产物,是有效去除 PAHs 极具前景的方法[3]。微生物在污染物清除与降解过程中扮演着不可或缺的角色。其核心原理在于,微生物凭借自身强大的环境适应能力将 PAHs 降解为无毒或低毒的中间代谢产物并进入地球的生物化学循环,从而实现对生态环境的净化与修复[4]。环境中存在大量的微生物资源,能够降解 PAHs 的微生物种类范围广,目前研究已证实,细菌、真菌、放线菌以及藻类(本文特指属于微生物范畴的微型藻类)具备降解 PAHs 的能力,它们主要通过自身的相关酶系,将 PAHs 完全矿化或转化为低毒的代谢产物[5]。为更深入地探究单一微生物降解 PAHs 的效率、途径,以及调控机制和相关基因的表达情况,从而实现其在实际生活中的有效应用,对 PAHs 降解微生物进行纯化培养显得极为关键。然而在实验室培养条件下,存在诸多制约因素,例如培养基富营养化、生长因子缺失以及微生物之间的天然相互联系被破坏等[6],这些因素导致部分 PAHs 降解微生物难以成功培养。所以,积极研究和开发多样化的培养技术,成为获取更多 PAHs 降解微生物的重要途径。优化培养基成分和开发新的培养技术是有效获得 PAHs 降解微生物纯培养的核心策略。本文概述了 PAHs 降解微生物的种类及其降解机制,并着重阐述了传统培养技术与新培养技术在 PAHs 降解微生物培养中的应用,为深入探究 PAHs 降解机制和推动生物修复领域的发展提供培养 PAHs 降解微生物的有效手段。

1 PAHs 降解微生物的种类

自然环境中微生物长期经受污染环境的胁迫,在 PAHs 的毒害作用下,微生物种群逐渐进化出了对 PAHs 的抗性和代谢能力,其在 PAHs 的自然去除过程中发挥着关键作用。近年来,学者们对 PAHs 的微生物修复进行了大量的相关研究,数以百计不同种类的 PAHs 降解菌从各类环境中被陆续分离出来,目前所获得的具有 PAHs 降解能力的微生物包括多种细菌、真菌、藻类和放线菌等,如表 1 所示。

表 1 多环芳烃降解微生物

Table 1 PAHs-degrading microorganisms

微生物	物种	污染物种类和浓度	降解率/%	参考文献
细菌	*Pontibacillus chungwhensis* HN14	10 mg/L 菲(Phe)	30.00	[7]
		10 mg/L 苯并芘(BaP)	100	
	Pseudomonas xizangensis S4	50 ppm 荧蒽(Flu)	41.90	[8]
	Brevibacterium sediminis MK9	1 000 mg/L 芘(Pyr)	59.00	[9]
	Sarocladium terricola	10 mg/L 芘(Pyr)	88.97	[10]
真菌	*Streptomyces cinereoruber* subsp. M-1	100 mg/L 蒽(Ant)	93.14	[11]
		50 mg/L 菲(Phe)	49.25	
	Candida tropicalis B	500 mg/L 芘(Pyr)	97.40	[12]
藻类	*Selenastrum capricornutum*	5 mg/L 萘(Nap)	88.30	[13]
	Alexandrium pacificum	200 μg/L 芘(Pyr)	96.00	[14]
放线菌	*Amycolatopsis niigatensis* Poz14	150 mg/L 萘(Nap)、150 mg/L 芘(Pyr) 150 mg/L 蒽(Ant)、150 mg/L 荧蒽(Flu)	100、25.10 37.87、18.18	[15]

1.1 细菌

细菌在有机污染物降解过程中扮演着极为关键的角色,参与度极高,目前已从污染的环境样品中分离出可降解 PAHs 的细菌,常见的 PAHs 降解

中国知网 https://www.cnki.net

菌包括芽孢杆菌属（*Bacillus* sp.）、假单胞菌属（*Pseudomonas sp.*）、分枝杆菌属（*Mycobacterium* sp.）等，这些细菌凭借自身独特的代谢途径和酶系统，为 PAHs 的降解提供了重要的生物基础[16]。Lazzem 等[17]从受原油污染的海水中筛选出一株无色杆菌（*Achromobacter aegrifaciens*）S5，以芘为唯一碳源时在第 7 天对芘的降解率达到 86%；张瑞课题组从开菲尔中分离出的一株以苯并芘为唯一碳源的降解菌贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*），经过条件优化，其对苯并芘的降解率达到 65.78%[18]。

细菌对 PAHs 的降解与体系中氧含量有关。在 PAHs 有氧分解代谢过程中，分子氧在有氧呼吸过程中能作为终端电子受体和双加氧酶的底物，双加氧酶由还原酶、铁氧还蛋白和末端加氧酶亚基组成，帮助将氧原子结合到碳氢化合物中，从而实现更容易的反应[19]。不同类型的双加氧酶对 PAHs 的攻击位点有所不同，例如萘双加氧酶通常攻击萘的 1 位和 2 位碳碳双键，形成顺式-1，2-二羟基-1，2-二氢萘[20]；蒽双加氧酶在 9 位和 10 位碳上进行加氧反应，生成 9，10-蒽醌[21]。PAHs 在双加氧酶的作用下使芳香环羟基化形成顺式二氢二醇，在脱氢酶的作用下脱氢为二醇中间体。然后，这些二醇中间体环裂解产生儿茶酚等中间体后进一步代谢为 CO_2 和 H_2O[22-23]（图 1）。其中萘的初步降解由萘双加氧酶或芳环羟基化双加氧酶（ARHD）将两个氧原子结合到萘环中形成顺式 1，2-二羟基-1，2-二氢萘，下一步是二氢二醇脱氢酶将顺式-1，2-二羟基-1，2-二氢萘转化为 1，2-二羟基萘，然后进行开环和氧化，生成 2-羟基苯并吡喃-2-羧酸酯，随后异构化形成反式邻羟基亚苄基丙酮酸。然后，水合醛缩酶作用于反式-邻羟基亚苄基丙酮酸，并将其裂解为水杨醛和 C3 化合物丙酮酸，水杨醛通过 NAD 依赖的水杨醛脱氢酶转化为水杨酸，从而与水杨酸形成复合物[20]。而菲的降解由多组分双加氧酶引发环羟基化并产生顺式-3，4-二羟基-3，4-二氢菲，然后进行二氢二醇脱氢产生 3，4-二羟基-菲，3，4-二羟基-菲发生间位裂解并形成 1-羟基-2-萘甲酸。1-羟基-2-萘甲酸的氧化脱羧作用产生 1，2-二羟基萘，并通过水杨酸途径进一步降解，最后与萘的后续降解途径相同[22]。不同的 PAHs 降解途径存在差异，因此需要深入挖掘 PAHs 的降解机制。

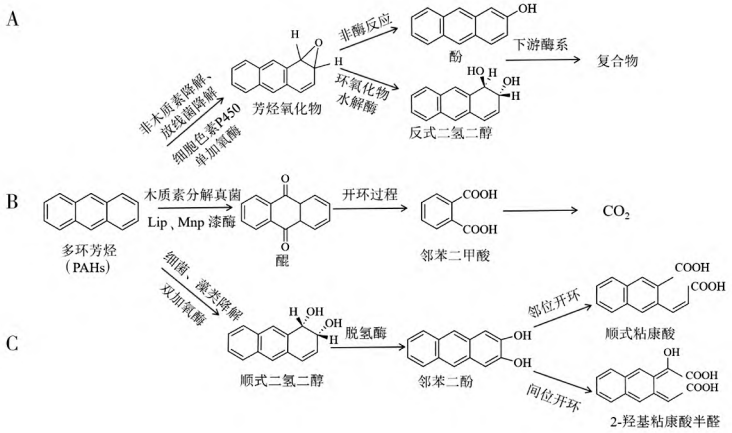


图 1 微生物降解多环芳烃的三条主要途径[24]

Fig. 1 Three main pathways for PAHsdegradation by microorganisms[24]

与 PAHs 有氧降解不同，由于氧气的缺乏及能量难合成，PAHs 的厌氧降解主要是利用还原反应来完成的，许多受污染地（含水层、水生沉积物和淹没土壤）主要为缺氧环境，其中厌氧菌利用硝酸盐、硫酸盐或铁离子等替代有氧降解中的氧对 PAHs 进行生物降解[25]。在 PAHs 的厌氧降解过程中，羧化反应作为关键的初始步骤发挥着不可或缺的作用[26]。不同细菌羧化反应的位点存在差异，例如菲的 C2 位或 C4 位与 HCO_3^- 发生羧化反应生成产物 2-菲甲酸或 4-菲甲酸[27-28]。硫酸盐还原菌在辅酶 A 连接酶的作用下产生 2-菲酰基辅酶 A，紧接着在加氢还原条件下转化为八氢-2-菲酰

中国知网 https://www.cnki.net

基辅酶 A[27]，当菲环中有两个苯环完全氢化后，氢化产物发生环裂变，生成苯系化合物和环己烷衍生物，进一步还原和裂解环生成 CO_2[28-29]。硝酸盐还原菌将 2-菲甲酸与富马酸反应生成 2-菲甲基琥珀酸，随后转化为 2-菲酰基-CoA，与硫酸盐还原菌类似，经过还原和裂解后，短链脂肪酸被转化为二氧化碳[30]。铁离子还原菌在还原酶的作用下生成八氢-2-菲甲酸，经过裂解反应后生成 CO_2 和 H_2O[31]。产甲烷菌针对 2-菲甲酸或产物 4-菲甲酸，通过氢环还原和厌氧水合反应，生成产物 1-羟基十一氢-2-菲甲酸和产物 3-羟基十一氢-4-菲甲酸；之后环裂解反应生成的裂解产物通过乙酰化转化为乙酸，乙酸利用完后，产甲烷菌利用乙酸分解产物进一步产甲烷形成 CO_2[29,32]。细菌强大的环境适应能力赋予其独特的代谢优势，使其无论在有氧还是无氧条件下，均能够以多环芳烃作为能源物质进行生长繁殖，因此细菌在自然环境 PAHs 的去除过程中扮演着极为重要的角色(图 2)。

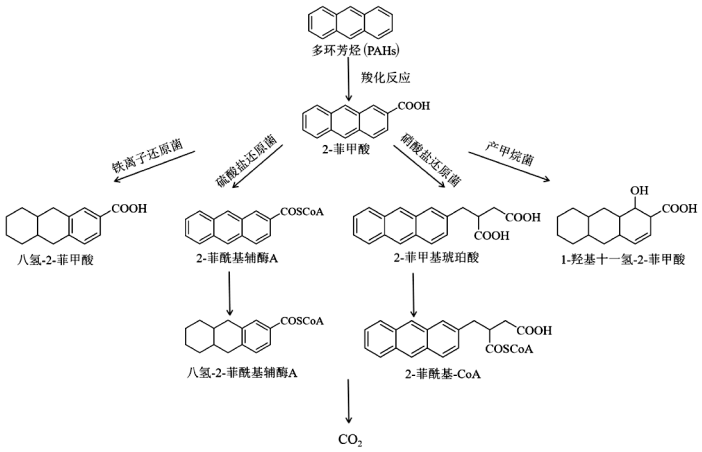


图 2　细菌厌氧微生物降解多环芳烃的途径[29]

Fig. 2　Pathways for PAHs degradation by anaerobic bacterial[29]

1.2　真菌

近年来，众多真菌因具备代谢不同 PAHs 的能力在 PAHs 降解领域的研究备受关注，研究表明从海洋中分离的链格孢属(*Alternaria*)、枝孢属(*Cladosporium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicilliun*)对荧蒽、菲、芘、苯并[a]芘均具有耐受和降解能力[33]。然而部分真菌不能使用 PAHs 作为唯一碳源，而是通过共代谢的方式降解[34]。从油田中分离的蜡质菌属(*Ceriporia lacerata*) RF-7，以 20 mg/L 芘为唯一碳源的降解率仅为 55.5%，添加共底物(葡萄糖)后对芘的降解率可达到 90.5%[35]。表明了真菌在 PAHs 降解方面的潜力，也为 PAHs 污染的生物修复提供了新的思路。

与细菌的降解方式不同，真菌是利用其氧化能力降解 PAHs。真菌降解 PAHs 有两种降解机制：一是细胞内色素 P450 氧化酶系统，二是细胞外木质素水解酶系统[36]。细胞内细胞色素 P450 单加氧酶通过环氧化反应产生环氧化物和 H_2O 来启动 PAHs 代谢。不稳定的环氧化物被环氧化物水解酶水合形成反式二氢二醇或通过非酶促作用重排为苯酚衍生物，反应产物反式二醇和酚类被甲基化或与硫酸盐、木糖、葡糖醛酸或葡萄糖形成缀合物[23,37](图 1A)。木质素水解酶系统中包含细胞外分泌的木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶，这些酶均具有氧化 PAHs 的功能[3]。木质素分解酶降解 PAHs 的起始过程是通过提供的羟自由基氧化 PAHs 形成 PAH-醌和酸，再通过环分裂进一步代谢为无毒中间体或终产物(图 1B)。

1.3　藻类

PAHs 对众多水生动植物具有毒害作用。藻类作为水生生态系统中关键的生产者之一，在水体 PAHs 的生物转化过程中，发挥着至关重要的作用[38]。微藻去除 PAHs 的机制包括死细胞吸附和活细胞内富集，研究表明死亡藻类细胞的叶绿素能吸收光能，跃迁至激发态，通过形成高水平的活性单线态氧发生光催化转化 PAHs 为小分子

中国知网 https://www.cnki.net

物质[39]。藻类活细胞降解 PAHs 的机制与细菌降解 PAHs 类似,当 PAHs 经过细胞壁进入微藻后,在双加氧酶和脱氢酶的作用下产生二醇和醌类化合物,通过邻位或间位双加氧酶的作用裂解为粘康酸半醛或粘康酸,产生 CO_2 和 H_2O[40]。杜青平等[41]研究发现羊角月牙藻(*Selenastrum carpricornutum*)7 d 后能够降解 99% 的芴和 89% 菲。藻类降解 PAHs 的独特机制使藻类在水生生态系统中对 PAHs 的降解发挥重要作用。

1.4 放线菌

研究表明放线菌与非木质素分解有类似的降解途径。一般来说,放线菌的终端氧化反应是将烷烃催化成伯醇,然后由脱氢酶将伯醇氧化成醛和羧酸。在亚末端氧化中,烷烃转化为仲醇,而仲醇又被单氢酶进一步氧化为酮,然后再被氧化为酯。最后,酯酶将酯分解成脂肪酸[42]。Mishra 等[43]分离到了一株耐热、嗜盐和亲碱菌株志恒流氏菌属(*Zhihengliuella* sp.)ISTPL4,在 250 ppm 的菲浓度下,72 h 和 168 h 菲的去除率分别为 81% 和 87%。

1.5 共培养体系降解 PAHs

研究表明在 PAHs 的胁迫下大量微生物难以培养,但通过构建共培养体系能够促进微生物的培养并且能够提高对 PAHs 的降解率。从根本上讲,利用共培养促进菌种的培养,是一种允许微生物依附于其他生物生长的培养策略,其中高分子量的 PAHs 由于结构稳定,往往由真菌首先攻击苯环,在共培养体系里,真菌通过木质素降解酶对高分子量PAHs进行氧化,而细菌则通过双加氧酶氧化 PAHs,在生成醌类后进一步被细菌利用脱氢酶将中间代谢产物继续降解,形成代谢交叉喂养网络,实现 PAHs 的完全矿化。同时,群体感应系统调控基因表达,影响细菌代谢和生物膜形成,控制群落状态。这种协同作用既提高了 PAHs 降解效率,又增强了微生物群落对环境变化的适应能力与稳定性[24]。Ogawa 等[44]的研究表明伯克霍尔德菌属(*Burkholderia* sp.)Bcrs1W 不能降解菲,分枝杆菌属 EPa45 能降解菲,在菲胁迫的环境中,菌株 Bcrs1W 不能生长,将菌株 Bcrs1W 和 EPa45 共培养后发现菌株 Bcrs1W 能够在菲胁迫环境下生长,且共培养体系对菲的降解率高于单菌 EPa45 的降解率。证实了微生物共同培养形成的种间协同作用增强了酶的活性,从而促进了 PAHs 的生物降解,并提高了微生物的可培养性。

2 传统培养技术培养 PAHs 降解微生物

营养物质对于细菌的生长繁殖至关重要,因不同细菌对生长环境的营养需求各异,配置不同的培养基能得到不同的功能菌株。实验室通常会配制含有 K_2HPO_4、NaCl、NH_4Cl、$MgSO_4$ 以及微量元素的无机盐培养基筛选 PAHs 降解菌[45]。然而部分 PAHs 降解菌培养难度较大,限制了对 PAHs 降解途径、功能基因和相关酶的深入研究,因此通过优化培养基使其更契合 PAHs 降解菌的生长环境,成为突破这一研究瓶颈的关键所在。优化培养方法如图 3 所示。

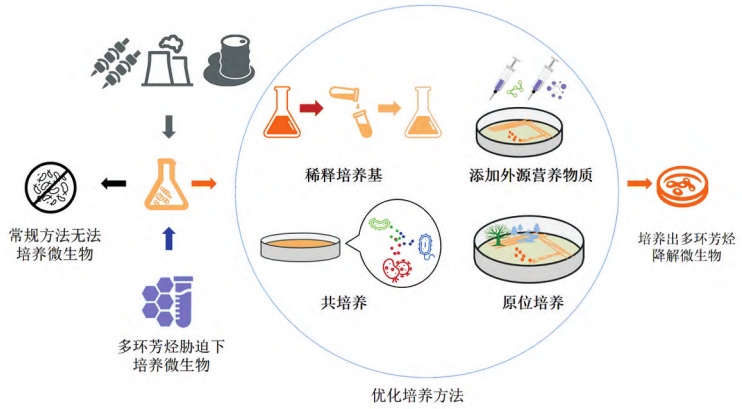


图 3 优化培养方法筛选多环芳烃降解微生物

Fig. 3 Optimization of culture methods for screening PAHs-degrading microorganisms

中国知网 https://www.cnki.net

2.1 寡营养培养基对 PAHs 降解微生物可培养性的影响

自然界的微生物存在生长期短的富营养菌(r-strategists)和生长期长的寡营养菌(k-strategists)[46],其中寡营养菌在营养缺乏时会调控基因激活透性酶并降低代谢能力来减少能量消耗,此外,寡营养微生物会储存碳源,以备以后使用[47-48]。基于部分尚未被成功培养的 PAHs 降解菌所具有的寡营养特性,以及其降解 PAHs 的内在机制,培养基中仅以 PAHs 作为唯一碳源,消除富营养导致的环境胁迫,使寡营养的 PAHs 降解菌能够正常生长。

培养基营养物质浓度显著影响微生物可培养性,营养浓度过低的培养基会导致细菌减少或阻碍细胞物质的合成,过高则抑制菌体生长。由于实验室培养基营养水平(如碳)远高于自然环境,高浓度复杂有机碳会抑制特定物种生长[49]。Arif 等[50]以岩石为样本,研究寡富营养培养基对 PAHs 降解菌多样性的影响,结果发现与富营养培养基相比,寡营养培养基明显丰富了微生物群,且具有多种碳氢化合物代谢潜力,而富营养培养基由于快速生长的微生物消耗营养,使生长缓慢的微生物无法生长,导致微生物的多样性大量丧失。另外,生长缓慢的细菌易被生长迅速的细菌抑制,营养供应又限制了快速生长物种的繁殖,因此利于缓慢生长物种生长[51]。Zhao 等[52]通过寡营养条件和富营养条件分离土壤中的菲降解菌,传统富集法培养的主要菲降解菌为假单胞菌,寡营养条件下主要菲降解菌为鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.),分离的菲降解菌群有差异。因此,通过解除寡营养 PAHs 降解菌的营养胁迫能够培养出不同种类的 PAHs 降解菌。

2.2 培养基成分对 PAHs 降解微生物可培养性的影响

功能微生物在缺乏其生长必需的生长因子时,往往难以被成功培养。添加功能微生物生长不可或缺的生长因子会改变细菌的生命活动、菌体密度以及代谢产物的生成,进而影响功能微生物降解 PAHs 的过程。

2.2.1 *添加电子受体* 在厌氧环境下,由于缺乏氧气作为末端电子受体,且开环酶底物不足,PAHs 难以被微生物利用,不过有研究表明厌氧微生物可以利用其他无机盐离子或化合物作为最终电子受体进行呼吸作用并降解 PAHs[53]。具体而言,在厌氧环境中,厌氧 PAHs 降解菌以硫酸盐、硝酸盐、金属离子等作为最终电子受体,以 PAHs 作为电子供体和碳源,借助自身相关酶的作用,在去除 PAHs 的同时,实现自身的生长与繁殖,完成物质转化和能量代谢[22]。电子受体反应如图 4 所示。从热力学角度看,硝酸盐和硫酸盐还原过程的标准吉布斯自由能变化接近有氧呼吸过程[54]。最早关于 PAHs 厌氧降解的研究发现,在未添加外源电子受体时,萘的浓度不变;添加硝酸盐作为电子受体后,萘在 14 d 内完全降解,证实了以硝酸盐为电子受体的 PAHs 降解菌的存在[55],此外,硝酸盐不仅能作为 PAHs 降解菌的电子受体,还能为微生物的生长繁殖提供氮源。硫酸盐还原菌在严格厌氧条件下,将硫酸盐还原为硫化物的同时实现对 PAHs 的降解,钱柚粉[56]通过添加 11 种 PAHs 为电子供体和 20 mmol/L 硫酸盐为电子受体,在厌氧条件下从沉积物种中筛选出了降解 PAHs 的核心微生物硫酸盐还原菌 SB8。该研究证实了硫酸盐还原菌不仅能够降解高分子量的 PAHs,而且还可降解很多种类的 PAHs。研究还表明厌氧条件下产生的中间代谢产物毒性更低,而且降解过程更为彻底[57]。在厌氧环境下,厌氧微生物还原 Fe(Ⅲ)可以氧化 PAHs,然后将释放的电子转移到 Fe(Ⅲ)上,以获得生长所需的能量[58]。Marozava 等[59]以 $Fe(OH)_3$ 为电子受体,在厌氧条件下培养出了脱硫细菌并发现其通过 Fe(Ⅲ)的还原降解 1-甲基萘。研究认为厌氧条件下 Fe(Ⅲ)促进微生物降解 PAHs 的机理主要包含两个方面,一方面在 PAHs 降解过程中的产氢产酸阶段需要氢化酶参与,而铁元素是产氢产酸微生物合成氢化酶必不可少的元素;另一方面 Fe(Ⅲ)能发挥双加氧酶或单加氧酶的功能氧化 PAHs,为铁还原菌等微生物供能[60]。在没有其他电子受体的条件下,有研究发现厌氧产甲烷过程中也有 PAHs 的厌氧降解现象,在产甲烷条件下,PAHs 的降解是一个具有热力学挑战性的过程,因为生物降解过程中 ATP 的净增益极低,从热力学计算推断,只有在利用氢的产甲烷菌存在的情况下,PAHs 的产甲烷降解才是可行的[61]。在产甲烷的过程中,会产生大量的 CO_2,

中国知网 https://www.cnki.net

CO_2 或 CO_2 溶于水形成的 HCO_3^- 可以作为电子受体，加速 PAHs 的降解[56]。Fuchedzhieva 等[62]在厌氧条件下分离出的厌氧蜡状芽孢杆菌（*Bacillus cereus*）证明了产甲烷菌能够利用 PAHs。

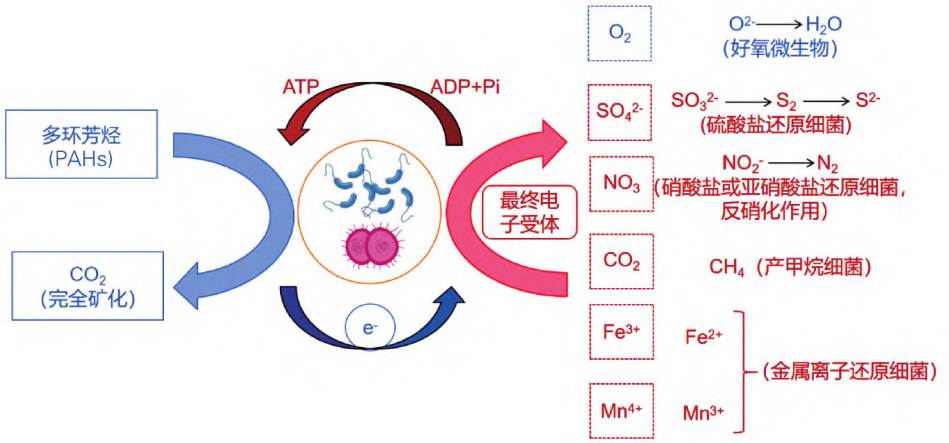


图 4 PAHs 微生物降解使用生物电子受体

Fig. 4 Electron acceptors used for microbial degradation of PAHs

2.2.2 添加复苏促进因子 复苏促进因子（resuscitation-promoting factor，Rpf）最早在藤黄微球菌（*Micrococcus luteus*）中被发现，是一种具有溶菌酶活性的蛋白，能够复苏细菌并促其生长，作为一种肽聚糖限制性水解酶，Rpf 作用于细胞壁肽聚糖，能有效刺激细菌的复苏和生长[63]，而 PAHs 对微生物具有毒害作用，在 PAHs 胁迫下微生物往往会进入“活的非可培养状态”（Viable but Non-Culturable state，VBNC），添加 Rpf 可以提高功能菌的可培养性。目前，PAHs 降解细菌大多通过传统平板纯化获得。虽然已分离出多种 PAHs 降解微生物，但非培养方法研究显示，多数有降解潜力的细菌仍不可培养[64]。Cai 等[65]采用 SIP、扩增子测序和宏基因组测序相结合的方法，研究了石油污染土壤中萘的生物降解，基于 SIP 和扩增子测序结果，一个未培养的变形菌纲细菌（*Gammaproteobacterium* sp.）细菌确定为关键的萘降解菌。由于 PAHs 污染环境中的各类物理、化学、生物应激因素，以及有毒金属等共污染物，均可诱导细菌进入 VBNC 状态[66]，导致在实验室条件下，难以分离出高效降解 PAHs 的微生物。最先在藤黄微球菌发现的复苏促进因子可以促进休眠细菌的复苏和生长[67]。近年来，该因子在 PAHs 降解菌的分离中发挥了重要作用，Wang 等[68]发现，在石油污染土壤中添加重组蛋白 Rpf4 改变了萘降解菌多样性。对比实验显示，未添加 Rpf4 的对照组仅分离出 8 株萘降解菌，添加后的实验组分离出 23 株萘降解菌，说明 Rpf4 具有促进微生物复苏培养的作用。Fu 等[69]通过表达红球菌（*Rhodococcus erythropolis*）KB1 的复苏促进因子 *rpf2* 基因，获得重组蛋白 Rpf2，将 Rpf2 蛋白加入培养基中用于分离降解菌，有 8 株菌株是仅从添加了 Rpf2 蛋白的处理组中分离得到的独特菌株。这些研究均充分体现了复苏促进因子在微生物研究，尤其是 PAHs 降解菌分离与生长促进方面的重要价值。目前，对于复苏促进因子发挥复苏作用的机制尚未完全明确，仍处于深入研究阶段，主要存在两种假说来解释这一现象。第一种假说认为，Rpf 可能充当水解酶，凭借其水解酶活性对处于休眠状态的细菌细胞壁进行切割，破坏细胞壁的原有结构，进而打破细菌的休眠状态，促进细胞复苏；第二种假说则指出，Rpf 或许作为一种信号分子，在细胞内或细胞间通过特定的信号传递途径，激活相关基因的表达或启动一系列生理生化反应，最终实现促进细胞复苏的目的[70]。

2.2.3 添加共代谢底物 一般说来，随着 PAHs 苯环数量的增加，其极性和稳定性便会显著增强。这使得生物降解过程无法单纯以高分子量（三环及以上）的 PAHs 作为唯一碳源，同时，PAHs 的疏水性也阻碍了微生物生物降解。有研究指出，对于四环及以上的 PAHs，大多数微生物主要通过共

中国知网 https://www.cnki.net

代谢的方式来实现降解[71]。曹晓星[72]的研究成果表明鞘氨醇单胞菌 US6-1 能够利用二甲苯、邻苯二酚、荧蒽和苯,但在以菲和苯并芘作为唯一碳源时不能生长,只有添加辅助碳源混合糊精才能降解菲和苯并芘。生长底物的缺乏限制了 PAHs 降解菌的降解潜力,共代谢底物不仅能为微生物的生长提供助力,还能产生强化降解 PAHs 的中间代谢产物和胞外聚合物,此外共代谢附加的有机底物能为 PAHs 的协同代谢提供电子,同时有机底物还能促进 PAHs 降解的分解代谢酶的活性。

2.3 培养基结构对 PAHs 降解微生物可培养性的影响

培养基制备过程中能通过调整培养基结构为微生物营造适宜的生长环境,避免微生物与抑菌物质接触,进而助力更多微生物生长。PAHs 水溶性低,难以直接添加到固体培养基或软琼脂培养基中,也无法在其中均匀分布。通常会添加丙酮来增溶,以便将 PAHs 掺入固体介质[73]。虽然这种方法常用于筛选碳氢化合物降解细菌,但仍无法保证它们在其中均匀分布,也不能确保微生物可充分利用这些碳氢化合物。王慧等[74]研发出一种创新的 PAHs 降解菌筛选方法,该方法在固体培养基表面覆盖一层纤维素膜,将 PAHs 溶解于易挥发的有机溶剂中,然后加到纤维素膜上,通过这种方式对海田土壤样品进行筛选,筛选出两株 PAHs 降解菌,分别为仙河海旋菌(*Thalassospira xianhensis*) P-4 和仙河盐单胞菌(*Halomonas xianhensis*) A-1。避免了传统筛选方法中醚类或丙酮等有机溶剂对 PAHs 降解菌的杀灭作用,以及 PAHs 分布不均的问题,为 PAHs 降解菌的筛选提供了更为有效的途径。

2.4 其他培养方法

在实验室环境下,针对能够利用多环芳烃作为碳源的细菌,主要采用在摇晃的液体培养基中进行富集培养的方式。但这种方法存在一定局限性,它更有利于在悬浮状态下生长良好的细菌,而在筛选过程中,那些与土壤颗粒紧密结合,且在悬浮环境中生长极为缓慢甚至无法生长的 PAHs 降解细菌,很可能会被遗漏。Bastiaens 等[75]提出了一种创新的分离方法,利用聚四氟乙烯作为 PAHs 的吸附载体,成功分离出两株具有独特碳源利用能力的细菌。其中一株为分枝杆菌属 LB501T,它能够以蒽作为唯一碳源;另一株为浅黄分枝杆菌(*M. gilvum*) LB307T,其可将菲作为唯一碳源。这一研究成果为 PAHs 降解细菌的分离提供了新的思路和方法,有效弥补了传统富集培养方法的不足。

3 原位培养

通过在培养基中添加特定的有机或无机化合物来改变生长条件,降低营养物质浓度,延长孵育时间,富集培养以及使用替代胶凝剂,都可以提高微生物的回收率,但大多数假定的自然环境中的微生物类群仍然未被培养。这表明微生物的不可培养性不能简单地解释为特定物种对某些培养条件的不适应,如培养基的营养、pH、温度和气体[76]。Zhao 等[52]利用原位土壤基质膜系统和以菲为唯一碳源的传统培养方法,对多种菲降解菌进行了富集和分离。在传统方法中,发现的主要菲降解菌为假单胞菌属,相比之下,使用土壤基质膜系统(SSMS)观察到的主要菲降解细菌为鞘氨醇单胞菌,并发现 SSMS 对菲的利用率高于传统的培养方法。Hirose 等[77]利用聚氨酯泡沫原位捕获海洋细菌,在聚氨酯泡沫中填充琼脂培养基和煤油,于天然海水中培养降解 PAHs 的海洋微生物,得到能降解 PAHs 的食烷菌属(*Alcanivorax* sp.)。因此,其他重要但未知的因素,可能更普遍和关键地影响这些未培养的微生物的生长,在原生态环境中获得天然的营养物质、信号分子或其他生长因子,将未培养微生物转变为可培养的微生物资源,从而实现对微生物特性的研究[78]。

4 新的培养技术培养 PAHs 降解微生物

在微生物群落中,一些具有特定功能的微生物,即使其相对丰度较低,却能在降解过程中发挥至关重要的作用,然而,正是因为这些微生物的相对丰度较低,传统的分离方法往往难以奏效,极大地限制了对它们的研究与应用。细胞分选技术作为细胞生物学研究领域的核心技术,能够从混合细胞群体中精准分离出单个细胞,为深入研究这

中国知网 https://www.cnki.net

些低丰度但功能关键的微生物提供了有力手段。稳定同位素探测(SIP)是一种独立于培养的技术,用于评估代谢反应,并提供了将微生物的身份与其在自然栖息地中的功能联系起来的机会[79]。该方法引入用稳定同位素(例如^{13}C或^{15}N)标记的底物,以监测它们从底物到生物分子的流动,并识别功能微生物,SIP 依赖于将稳定同位素并入微生物细胞的不同细胞内组分(DNA、RNA 或蛋白质),这些组分能够被分离以鉴定同位素并入部分,即 DNA-SIP、RNA-SIP 和蛋白质-SIP,它经常用于实验室研究,但没有能力分离鉴定活性降解物[80]。磁性纳米颗粒介导分离(MMI)从复杂的微生物群落中分离出具有活性的功能微生物,利用生物相容性磁性纳米颗粒(MNPs)磁化整个微生物群落的所有微生物,然后将逐渐分裂并最终失去磁性的活性微生物与通过外部磁铁保持磁性的非分裂细菌分离[81]。拉曼激活细胞分选(RACS)是一种利用单细胞拉曼光谱(SCRS)根据单个细胞的特征有效分离单个细胞的新兴方法。SCRS 可以揭示单个细胞的内在生化指纹,例如有关特定生物标志物(核酸、蛋白质和脂质)的信息,这有助于在单细胞水平上探索活性降解物的生理和代谢特征[82]。当微生物用稳定同位素(如^{13}C、^{15}N或^{2}H)标记的底物培养且活性细胞将稳定同位素纳入其生物量时,SCRS 光谱中的某些拉曼波段会发生移位,因此,SCRS 结合 SIP 可以原位鉴定单细胞特定同位素底物的代谢活动,为实现单个微生物细胞的分离与鉴定,SCRS 系统中的 RACS 包含了一个细胞分离工具,该工具可依据细胞的特征对单个细胞进行分类[83]。

Li 等[84]将磁性纳米颗粒介导分离(MMI)和 DNA-SIP 耦合,以鉴定参与 PAHs 污染废水中菲降解的活性微生物。从 SIP 结果来看,假单胞菌属和鞘氨醇菌属(*Sphingomonas* sp.)的附属微生物负责原位菲代谢,而噬色素菌属(*Pigmentiphaga* sp.)仅在 MMI 和 MMI-SIP 微观环境中降解菲,极稀有微生物的相对丰度 OTU_53 从原废水中为 0.02% 增加到 2.75%,证明 MMI-SIP 可以分离出负责菲原位降解的极稀有微生物,同时原始废水中只有不到 2% 的细菌种群在 MMI-SIP 中被分离,这表明废水中只有一小部分微生物负责就地代谢菲,说明了只有低丰度的稀有物种负责整个微生物群中菲的代谢。此外,还可运用 MMI-SIP-RACS 鉴定 PAHs 污染废水中的活性菲降解细菌细胞(图 5)。MMI-SIP-RACS 能够显著富集活性菲降解菌,并成功分离出具有代表性的单细胞,分选的活性菲降解菌为新鞘脂菌属(*Novosphingobium* sp.),证明了 MMI-SIP-RACS 是一种强大的培养微生物方法,可以准确有效地从复杂的废水微生物群落中分离出活性菲降解物的单细胞,特别是低丰度的功能性但不可培养的微生物[85]。

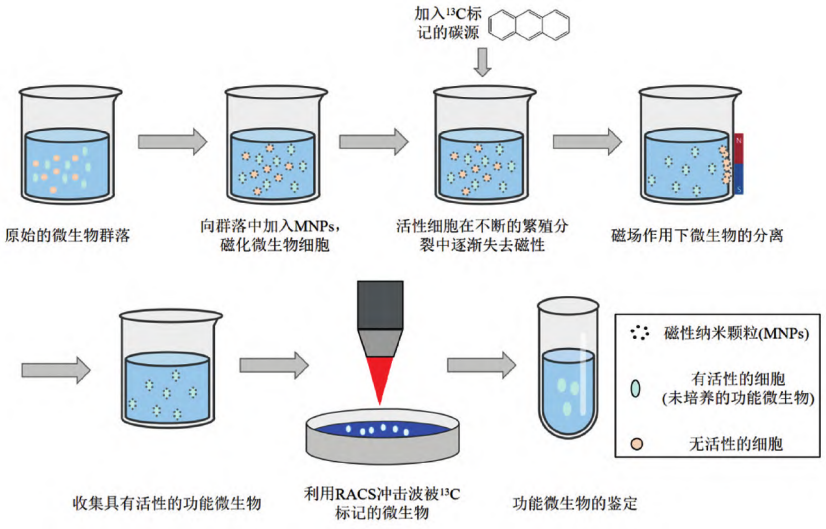


图 5 细胞分选技术分离培养多环芳烃降解微生物[85]

Fig. 5 Cell-sorting technique for the isolation and cultivation of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading microorganisms[85]

中国知网 https://www.cnki.net

5 展 望

多环芳烃(PAHs)在环境中广泛存在,不仅对生态环境造成严重破坏,还对人体健康构成巨大威胁。生物修复作为目前应对 PAHs 污染最为行之有效的手段之一,通过挖掘更多高效的 PAHs 降解菌,有望进一步提升对环境中 PAHs 的降解能力,为解决 PAHs 污染问题提供更为有力的支持。功能微生物在 PAHs 降解等领域展现出巨大潜力,但当前实验室的培养环境和技术存在局限,难以从复杂的微生物群落中获取功能微生物的纯培养物。这一困境极大地限制了 PAHs 降解机制的深入研究,也阻碍了相关研究成果向实际应用的转化。因此,优化传统培养方法并开发全新培养技术,成为挖掘更多功能微生物的关键路径,有望为 PAHs 污染治理开辟新的局面。本文系统归纳了现有 PAHs 降解微生物的种类及其降解机制,同时对当下 PAHs 降解微生物的培养技术进行了全面综述。尽管目前已阐明部分 PAHs 的降解机制,也掌握了一些 PAHs 降解微生物的培养方法,但仍存在诸多亟待解决的问题:①在微生物培养领域,目前的人工培养技术未能实现对功能微生物精准的纯化培养,对于能否从复杂的微生物群落中成功分离出 PAHs 降解菌,缺乏足够的理论依据,这在很大程度上制约了后续研究工作的开展。同时,虽然已发现功能微生物之间存在相互作用,然而共生微生物之间的协同培养机制仍有待深入探究。②关于降解基因表达,在 PAHs 降解过程中,关键降解基因的表达规律和调控机制还有待进一步深入研究。③在实际应用层面,PAHs 降解菌在不同环境条件下的适应能力以及应用潜力的挖掘与优化,尚需开展大量研究工作。

未来,针对 PAHs 降解菌的培养以及 PAHs 降解机制的研究,可从以下几个关键方面深入展开。其一,融合现代生物学技术优化培养体系,充分整合代谢组学、蛋白组学、宏基因组学以及宏转录组学等现代生物学技术所提供的信息,依据功能微生物独特的生理特性与代谢潜力,量身定制培养技术并精心设计培养基成分,同时,深入探究共生微生物之间的相互作用机制,从而为成功培养尚未被培养的功能微生物以及有效提升 PAHs 降解能力奠定坚实的理论基础;其二,借助基因工程靶向研究降解基因,运用基因工程技术,对 PAHs 降解过程中起关键作用的主要降解基因展开针对性研究,深入剖析这些基因的功能、表达调控机制,挖掘其在提高降解效率方面的潜力;其三,强化菌株环境适应能力研究及成果转化,加大对 PAHs 降解菌株环境适应能力的研究力度,深入探究其在不同环境条件下的生存策略与降解效能变化规律。通过这些研究,推动科研成果向实际应用的转化,切实提升 PAHs 降解菌在实际环境修复中的应用价值。

参考文献:

[1] Barbosa F, Rocha BA, Souza MCO, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs):Updated aspects of their determination, kinetics in the human body, and toxicity[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews, 2023, 26(1): 28-65.

[2] Barathi S, Gitanjali J, Rathinasamy G, et al. Recent trends in polycyclic aromatic hydrocarbons pollution distribution and counteracting bio-remediation strategies[J]. Chemosphere, 2023, 337: 139396.

[3] Premnath N, Mohanrasu K, Guru RAJ RAOR, et al. A crucial review on polycyclic aromatic hydrocarbons-environmental occurrence and strategies for microbial degradation[J]. Chemosphere, 2021, 280: 130608.

[4] Thacharodi A, Hassan S, Singh T, et al. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: An updated microbiological review[J]. Chemosphere, 2023, 328: 138498.

[5] Mou BL, Gong GY, Wu SM. Biodegradation mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: Combination of instrumental analysis and theoretical calculation[J]. Chemosphere, 2023, 341: 140017.

[6] Kapinusova G, Lopez MMA, Uhlik O, et al. Reaching unreachables: Obstacles and successes of microbial cultivation and their reasons[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1089630.

[7] Qian ZH, Yang HC, Li J, et al. The unique biodegradation pathway of benzo[a]pyrene in moderately halophilic *Pontibacillus chungwhensis* HN14[J]. Chemosphere, 2024, 354: 141705.

[8] Yang Y, Zhang GM, Pan J, et al. Characterization of fluoranthene degradation by the novel isolated *Pseudomonas xizangensis* S4 and its application potential immobilized in potassium humate-modified biochar[J]. Bioresource Technology, 2025, 419: 132066.

[9] Karmakar M, Jana D, Manna T, et al. Bioremediation by Brevibacterium sediminis: A prospective pyrene degrading agent to

中国知网 https://www.cnki.net

eliminate environmental polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2024, 40(12): 377.

[10] Ge HY, Peng ZX, Lu DL, et al. Biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sarocladium terricola* strain PYR-233 isolated from petrochemical contaminated sediment[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 363: 121419.

[11] Zhang ZM, Li H, Han H, et al. Degradation of anthracene and phenanthrene by strain *Streptomyces* sp. M-1 and its application in the treatment of PAHs-contaminated water[J]. Journal of Environmental Management, 2025, 375: 124298.

[12] Hegazy GE, Soliman NA, Farag S, et al. Isolation and characterization of *Candida tropicalis* B: A promising yeast strain for biodegradation of petroleum oil in marine environments[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23(1): 20.

[13] Wang MY, Wang H, Rong LY, et al. Unraveling the cellular response and detoxification efficiency of microalgal systems to naphthalene contamination in water[J]. Algal Research, 2025, 85: 103850.

[14] Huang XL, Xu ZH, Qiu JB, et al. Understanding the molecular mechanisms of pyrene in governing the critical metabolic circuits of *Alexandrium pacificum*[J]. Environmental Science & Technology, 2025, 59: 1112-1120.

[15] Ortega-González DK, Martínez-González GI, Flores CM, et al. *Amycolatopsis* sp. Poz14 isolated from oil-contaminated soil degrades polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 99: 165-173.

[16] Ghosal D, Ghosh S, Dutta TK, et al. Corrigendum: Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1369.

[17] Lazzem A, Lekired A, Ouzari H, et al. Isolation and characterization of a newly chrysene-degrading Achromobacter aegrifaciens[J]. International Microbiology: The Official Journal of The Spanish Society for Microbiology, 2023,27: 857-869.

[18] 迪丽拜尔·吐尔逊, 古丽加马力·艾萨, 郑蓓, 等. 开菲尔中可降解苯并(a)芘菌种筛选及其降解条件的优化[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(14): 134-142.

[19] Mallick S, Chakraborty J, Dutta TK. Role of oxygenases in guiding diverse metabolic pathways in the bacterial degradation of low-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2011, 37(1): 64-90.

[20] Subramanian R. Methods used to determine the structure of the oxygenase component of naphthalene 1,2 dioxygenase[J]. Methods in Enzymology, 2024, 704: 27-38.

[21] González A, Osorio H, Romero S, et al. Transcriptomic analyses reveal increased expression of dioxygenases, monooxygenases, and other metabolizing enzymes involved in anthracene degradation in the marine alga Ulva lactuca[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 955601.

[22] Li JL, Peng WL, Yin XQ, et al. Identification of an efficient phenanthrene-degrading *Pseudarthrobacter* sp. L1SW and characterization of its metabolites and catabolic pathway[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 465: 133138.

[23] 许盼. 高效菌群共代谢及生物炭促进多环芳烃降解研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.

[24] 王箐, 吕倩婧, 杨灼南, 等. 共培养微生物降解多环芳烃的研究进展[J]. 微生物学报,2025, 65(3): 1-15.

[25] Foght J. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: Pathways and prospects[J]. Journal of Molecular Microbiology & Biotechnology, 2008, 15(2-3): 93-120.

[26] Zhang K, Hu Z, Zeng FF, et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons and changes in microbial community structure in sediment under nitrate-, ferric-, sulfate-reducing and methanogenic conditions[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 249: 109425.

[27] Zhang ZT, Guo HJ, Sun J, er al. Anaerobic phenanthrene biodegradation by a newly isolated sulfate-reducer, strain PheS1, and exploration of the biotransformation pathway[J]. Science of the Total Environment, 2021, 797: 149148.

[28] Zhang ZT, Sun J, Guo Hj, et al. Investigation of anaerobic biodegradation of phenanthrene by a sulfate-dependent *Geobacter sulfurreducens* strain PheS2[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 409: 124522.

[29] 高于涵, 贾亚婷, 吕岳骏, 等. 微生物厌氧代谢耦合多环芳烃降解研究进展[J]. 环境科学与技术, 2023, 46(5): 67-75.

[30] Zhang ZT, Guo HJ, 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.

[31] Zhang ZT, Guo HJ, 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_2 as an electron acceptor[J]. The Science of the Total Environment, 2021, 750: 142245.

[32] Sun J, Zhang ZT, Wang H, et al. Exploration of the biotransformation of phenanthrene degradation coupled with methanogensis by metabolites and enzyme analyses[J]. Environmental Pollution, 2022, 293: 118491.

[33] Barrag JA, Laureau CC, Wick LY, et al. Fungi in PAH-contaminated marine sediments: Cultivable diversity and tolerance capacity towards PAH[J]. Marine Pollution Bulletin, 2021, 164: 112082.

[34] Ghosal D, Chakraborty J, Khara P, et al. Degradation of phenanthrene via meta-cleavage of 2-hydroxy-1-naphthoic acid by *Ochrobactrum* sp. strain PWTJD[J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters, 2010, 313(2):

中国知网 https://www.cnki.net

103-110.
[35] Hawash ABA, Qurnawi WSA, Abbood HA, et al. Pyrene-degrading fungus *ceriporia lacerata* RF-7 from contaminated soil in iraq[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 2020, 42(1): 40-48.
[36] 田晶. 降解多环芳烃真菌的筛选及其性能的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2018.
[37] Dhar K, Subashchandrabose SR, Venkateswarlu K, et al. Anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: A comprehensive review[J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2020, 251: 25-108.
[38] 罗俊鹏. 多环芳烃降解菌的筛选、降解特性及其与化学氧化联合应用研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
[39] Luo LJ, Lai XY, Chen BW, et al. Chlorophyll catalyse the photo-transformation of carcinogenic benzo[a]pyrene in water[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 12776.
[40] 侯锦超, 赵振华, 夏立玲. 浮游藻类在水体 PAHs 富集与降解中的研究[J]. 环境科技, 2016, 29(2): 64-68.
[41] 杜青平, 林壮立, 黄斌艳, 等. 羊角月牙藻(*Selenastrum carpricornutum*)对 1,2,4-三氯苯的降解效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(5): 932-936.
[42] Nazari MT, Simon V, Machado BS, et al. *Rhodococcus*: A promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants[J]. Journal of Environmental Management, 2022, 323: 116220.
[43] Mishra A, Rathour R, Singh R et al. Degradation and detoxification of phenanthrene by actinobacterium *Zhihengliuella* sp. ISTPL4[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2020, 27(22): 27256-27267.
[44] Ogawa N, Kato H, Kishida K, et al. Suppression of substrate inhibition in phenanthrene-degrading *Mycobacterium* by co-cultivation with a non-degrading *Burkholderia* strain[J]. Microbiology,2019, 165(6): 625-637.
[45] 李可欣. 多环芳烃降解菌的筛选、检测及对土壤中 PAHs 的降解特性[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2021.
[46] 卢萌萌. 浓香型白酒窖泥中未培养厌氧菌的可培养化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
[47] 周楠, 姜成英, 刘双江, 等. 从环境中分离培养微生物: 培养基营养水平至关重要[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1075-1081.
[48] Koch AL. Microbial physiology and ecology of slow growth[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1997, 61(3): 248-248.
[49] Vartoukian SR, Palmer RM, Wade WG. Strategies for culture of'unculturable'bacteria[J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiol Letter, 2010, 309: 1-7.
[50] Arif S, Reitner J, Hoppert M. Composition, diversity and functional analysis of the modern microbiome of the middle triassic cava superiore beds (Monte San Giorgio, Switzerland)[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 20394.
[51] Hahn MW, Stadler P, Wu QL, et al. The filtration-acclimatization method for isolation of an important fraction of the not readily cultivable bacteria[J]. Microbiol Methods, 2004, 57: 379-390.
[52] Zhao HH, Zhang YN, Xiao X, et al. Different phenanthrene-degrading bacteria cultured by in situ soil substrate membrane system and traditional cultivation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 117: 269-277.
[53] 孙娇, 张作涛, 郭海礁, 等. 多环芳烃厌氧生物降解研究进展[J]. 微生物学报, 2020, 60(12): 2844-2861.
[54] Rockne KJ, Strand SE. Anaerobic biodegradation of naphthalene, phenanthrene, and biphenyl by a denitrifying enrichment culture[J]. Water Research, 2001, 35(1): 291-299.
[55] Mihelcic JR, Luthy RG. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds undervarious redox conditions in soil-water systems[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(5): 1182-1187.
[56] 钱柚粉. 河涌底泥中硫酸盐呼吸耦合多环芳烃降解的核心微生物及其作用机制[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
[57] 冷晴雪. 厌氧降解海洋沉积物中高浓度多环芳烃的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2020.
[58] Bai BB, Zhang LM, Dong HL, et al. Coupled Fe(III) reduction and phenanthrene degradation by marine-derived *Kocuria oceani* FXJ8.057 under aerobic condition[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 459: 132237.
[59] 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.
[60] Coates JD, Anderson RT, Woodward JC, et al. Anaerobic hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated harbor sediments under sulfate-reducing and artificially imposed iron-reducing conditions[J]. Environmental Science & Technology, 1996, 30(9): 2784-2789.
[61] Chang W, Um Y, Holoman TRP. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation coupled to methanogenesis[J]. Biotechnology Letters, 2006, 28(6): 425-430.
[62] Fuchedzhieva N, Karakashev D, Angelidaki I. Anaerobic biodegradation of fluoranthene undermethanogenic conditions in presence of surface-activecompounds[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 153: 123-127.
[63] 叶哲. 复苏促进因子强化红球菌降解多氯联苯及其土壤污染模拟修复应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
[64] Loviso CL, Lozada M, Guibert LM, et al. Metagenomics reveals the high polycyclic aromatic hydrocarbon-degradation potential of abundant uncultured bacteria from chronically polluted subantarctic and temperate coastal marine environments[J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 119(2): 411-424.
[65] Cai XX, Li JB, Guan FY, et al. Unveiling metabolic characteristics of an uncultured Gammaproteobacterium responsible for

中国知网 https://www.cnki.net

in situ PAH biodegradation in petroleum polluted soil[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(11): 7093-7104.

[66] Su XM, Bamba AM, Zhang S, et al. Revealing potential functions of VBNC bacteria in polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation[J]. Letters in Applied Microbiology, 2018, 66(4): 277-283.

[67] Mukamolova GV, Kaprelyants AS, Kell DB. Secretion of an antibacterial factor during resuscitation of dormant cells in *Micrococcus luteus* cultures held in an extended stationary phase [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1995, 67(3): 289-295.

[68] Wang XN, Chen JX, Wang YG, et al. Promoting resuscitation of the VBNC bacteria and enrichment of naphthalene-degrading bacteria from oil-contaminated soils with the Rpf4 from *Rhodococcus erythropolis* KB1[J]. Geomicrobiology Journal, 2022, 39(10): 916-924.

[69] Fu J, Chen J, Wang Y,et al. Promoting effect of the recombinant resuscitation promoting factors-2 of *Rhodococcus erythropolis* on petroleum degradation and cultivable bacterial diversities of the oil contaminated soils[J]. Letters in Applied Microbiology, 2021, 74: 462-469.

[70] 王小宁. 红平红球菌 *rpf4* 基因表达生物学活性及促进 VBNC 状态细胞复苏研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2022.

[71] Li B, Liu HL, Liu XN, et al. Naphthalene enhances polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* in soil and water: Effect and mechanism[J]. Water, 2024, 16(17): 2537.

[72] 曹晓星. 多环芳烃降解菌的共代谢及其相关酶的研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2006.

[73] Zeng J, Zhu QH, Li YJ, et al. Isolation of diverse pyrene-degrading bacteria via introducing readily utilized phenanthrene [J]. Chemosphere, 2019, 222: 534-540.

[74] 王慧, 赵百锁, 宁大亮. 一种筛选多环芳烃降解菌的方法: CN101838629A[P]. 2009-03-17.

[75] Bastiaens L, Springael D, Wattiau P, et al. Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 1834-1843.

[76] Jung D, Liu LW, He S, et al. Application of in situ cultivation in marine microbial resource mining[J]. Marine Life Science & Technology, 2020, 3: 148-11.

[77] Hirose MY, Nishijima M, Ngirchechol MK, et al. Isolation of marine bacteria by in situ culture on media-supplemented polyurethane foam[J]. Marine Biotechnology, 2006, 8(3): 227-237.

[78] Pham VHT, Kim J. Cultivation of unculturable soil bacteria [J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(9): 475-484.

[79] Kim J, Hwangbo M, Shih CH, et al. Advances and perspectives of using stable isotope probing (SIP)-based technologies in contaminant biodegradation[J]. Water Research X, 2023, 20: 100187.

[80] Tang XF, Li Y, Jin RH, et al. Community pattern of potential phenanthrene (PHE) degrading bacteria in PHE contaminated soil revealed by ^{13}C-DNA stable isotope probing[J]. Chemosphere, 2023, 344: 140377.

[81] Zhang DY, Berry JP, Zhu D, et al. Magnetic nanoparticle-mediated isolation of functional bacteria in a complex microbial community[J]. The International Society for Microbial Ecology Journal, 2015, 9(3): 603-614.

[82] Yan SS, Qiu JX, Guo L, et al. Development overview of ramanactivated cell sorting devoted to bacterial detection at single-cell level[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2021, 105(4): 1315-1331.

[83] Li JB, Zhang DY, Luo CL, et al. In situ discrimination and cultivation of active degraders in soils by genome-directed cultivation assisted by SIP-raman-activated cell sorting[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(44): 17087-17098.

[84] Li JB, Luo CL, Zhang G, et al. Coupling magnetic-nanoparticle mediated isolation (MMI) and stable isotope probing (SIP) for identifying and isolating the active microbes involved in phenanthrene degradation in wastewater with higher resolution and accuracy[J]. Water Research, 2018, 144: 226-234.

[85] Li JB, Zhang DY, Li B, et al. Identifying the active phenanthrene degraders and characterizing their metabolic activities at the single-cell level by the combination of magnetic-nanoparticle-mediated isolation, stable-isotope probing, and raman-activated cell sorting (MMI-SIP-RACS)[J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56(4): 2289-2299.

中国知网 https://www.cnki.net