・综述・

混合微生物体系降解多环芳烃研究进展

刘羿洋1, 王璐2, 贾晓强1*

1 天津大学 化工学院生物化工系 系统生物工程教育部重点实验室,天津 300072
2 中国石油集团科学技术研究院有限公司,北京 100083

刘羿洋, 王璐, 贾晓强. 混合微生物体系降解多环芳烃研究进展[J]. 生物工程学报, 2025, 41(5): 1843-1860. LIU Yiyang, WANG Lu, JIA Xiaoqiang. Research progress in degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed microbial consortia[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(5): 1843-1860.

摘 要:多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)指含 2 个或 2 个以上苯环的芳烃, 其致癌、 致突变、致畸作用引起了严重的环境问题。微生物降解作为 PAHs 污染的修复方式之一, 具有成本 低、效率高、环境友好等优点。而相比于传统的单一菌株降解, 混合微生物体系通常降解效果更好, 适应性和抗逆性更强。本文综述了从自然环境中获得的各种 PAHs 降解天然混菌体系以及基于不同 单菌成员的降解或其他特性构建的人工混菌体系, 对各混菌体系的条件优化方法以及对实际污染场 地进行修复的研究进展, 并对混合微生物体系降解多环芳烃的未来发展方向进行了展望。 关键词: 多环芳烃; 微生物修复; 混菌体系; 基因工程; 降解机理

Research progress in degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed microbial consortia

LIU Yiyang¹, WANG Lu², JIA Xiaoqiang^{1*}

1 Key Laboratory of Systems Bioengineering (Ministry of Education), School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2 China Petroleum Corporation Science and Technology Research Institute Co., Ltd., Beijing 100083, China

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) with two or more benzene rings have caused serious environmental problems due to their carcinogenic, mutagenic, and teratogenic properties. Microbial degradation is one of the methods for the remediation of PAH contamination, offering advantages such as low costs, high efficiency, and environmental friendliness. Compared with single strains in degradation, mixed microbial consortia exhibit

*Corresponding author. E-mail: xqjia@tju.edu.cn

资助项目:国家重点研发计划(2018YFA0902100);国家自然科学基金(22178262)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFA0902100) and the National Natural Science Foundation of China (22178262).

Received: 2024-06-19; Accepted: 2024-09-10; Published online: 2024-09-10

improved degradation performance, adaptability, and resistance to adverse conditions. This paper reviews various natural PAH-degrading mixed microbial consortia obtained from natural environments, as well as artificially constructed mixed microbial consortia based on the degradation capabilities or other characteristics of different individual strains. It also discusses the optimization methods for these consortia and the research progress in their application to the remediation of actual contaminated sites. Finally, the paper provides an outlook on the future development of mixed microbial systems for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Keywords:** polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); microbial remediation; mixed microbial consortia; genetic engineering; degradation mechanisms

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)代表一类分子结构中含有 2 个或以上芳 环的难降解有机化合物,它们在环境中有多种 存在形式且分布广泛,对环境和人体健康都有 不利的影响。环境中的 PAHs 主要有天然和非 天然这 2 种来源[1]。天然来源包括森林火灾、 火山爆发、石油渗漏、煤矿和化石燃料的露天 燃烧等^[2]。而几乎所有类型的有机材料燃烧后 都会产生 PAHs,因而 PAHs 及其衍生物的非天 然来源更加多样,各种燃料材料的不完全燃烧、 液化厂、沥青厂、炼油厂和汽车尾气等都属于 导致 PAHs 污染的非天然因素来源^[3]。PAHs 具 有低水溶性和亲脂性,且具有致癌、致突变、 致畸作用,可以渗透到生物体中,储存在肝脏、 肾脏和脂肪组织中并造成病变[4]。短期接触高 浓度的 PAHs 会引起严重的恶心、腹泻、呕吐、 眼睛刺激等症状^[5]。部分地区 45%的农业土壤 中 PAHs 的含量高于致癌风险值^[6]。长期接触多 环芳烃会导致皮肤、肺、胰腺、食管、膀胱、 结肠和乳房等器官更容易形成肿瘤^[7]。多环芳 烃暴露可能会增加肺癌以及心血管疾病 (cerebrovascular disease, CVD)的风险,包括动 脉粥样硬化、高血压、血栓形成和心肌梗死^[8]。

对于 PAHs 污染的修复方法主要分为物理 法、化学法和以微生物为主的生物修复法^[9]。 物理法与化学法去除 PAHs 的步骤主要包括洗 涤、膜过滤、焚烧、水样脱氯、紫外线氧化、 光催化氧化和化学氧化等^[10]。通过物理和化学 的方法处理 PAHs 通常较为彻底且耗时较短,

次污染等缺点^[11]。而生物修复方法是一种环保 且有效的方法,具有投资成本小、效率高、操 作简单和生态环境友好等优点^[12]。生物修复主 要包括微生物修复和植物修复这 2 种方式,主 要是利用生物体内的新陈代谢反应将 PAHs 转 化为无害的形式^[13]。 在 PAHs 污染的微生物修复过程中,一般 可以利用单菌或混菌体系,通过特定基因和代

但是这些修复方法通常存在成本高、易造成二

可以利用单菌或混菌体系,通过特定基因和代 谢途径降解 PAHs,将其转化为无害物质。在污 染场地中添加具有较高 PAHs 降解能力的单菌, 在修复初期可促进目标污染物的生物降解和微 生物的生长^[14]。然而由于 PAHs 污染的复杂性 和难降解性等特点, 单菌体系的弊端逐渐显露 出来。例如, PAHs 代谢途径冗长, 在单个底盘 细胞中表达代谢途径会增加底盘细胞的代谢负 担,不利于降解代谢反应的进行;随着生物修 复时间的延长, 接种单菌的生物降解活性逐渐 降低,对 PAHs 的降解效率也逐渐下降^[15]。此外, 在实际污染环境中通常存在多种污染物共同污 染,如重金属、长链烃、卤代烃等,同时复杂 的环境因素(温度、pH、氧浓度、营养条件等) 会影响菌株的生长[16]。与单一细菌体系相比, 混菌体系具有更高的多样性、更丰富的碳代谢 途径、更强的抗逆性,体系内各菌株 之间提供 各类相互作用, 被广泛应用于污染场所^[17]。PAHs 降解菌菌群构建策略主要可以分为 2 类:一是 通过加大目标污染物浓度进行驯化和筛选,获 得能够降解 PAHs 的天然菌群; 二是通过组合

不同功能的微生物(包括天然菌株和基因工程 菌株),构建能提升 PAHs 降解能力的人工菌群。 获得降解 PAHs 的微生物菌群后,通过对各类 影响菌株生长与降解的因素进行条件优化能够 进一步提升菌群的修复效果。本文重点阐述了 各类 PAHs 降解混菌体系构建与优化方法的研 究进展。

1 天然微生物菌群降解多环芳烃

天然 PAHs 降解菌通常广泛存在于各类 PAHs 污染场所,如液化厂、沥青厂、炼油厂等。 Kumari 等^[18]和 Singh 等^[19]将黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.)、海杆菌(*Marinobacter* sp.)、 节杆菌(*Arthrobacter* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、微球菌(*Micrococcus* sp.)、诺卡氏菌 (*Nocardia* sp.)、分枝杆菌(*Mycobacterium* sp.)、 伯克霍尔德菌(*Burkholderia* sp.)、假单胞菌 (Pseudomonas sp.)、弧菌(Vibrio sp.)、棒杆菌 (Corynebacterium sp.)和鞘氨醇单胞菌 (Sphingomonas sp.)列为最常见的降解 PAHs 的 细菌属。其中许多种类的细菌,包括假单胞菌 属(Pseudomonas sp.)和红球菌属(Rhodococcus sp.)的细菌,能够利用双加氧酶氧化多环芳 烃^[20]。Romero等^[21]发现铜绿假单胞菌 (Pseudomonas aeruginosa)可在 30 d 内有效降解 菲。在自然环境中,尤其是在各类 PAHs 污染 场所中,各种天然 PAHs 降解单菌构成了天然 微生物菌群。通过添加各种污染物作为底物, 培养污染场所的土著微生物并进行多轮富集, 即可获得各种天然 PAHs 微生物降解菌群。

通过驯化筛选方法构建的天然 PAHs 降解 菌群及其降解率见表 1。Hu 等^[22]以菲、葱、芘、 菌和苯并(a)芘等作为实验对象,从土著菌中驯 化筛选得到了在 48 h 内对 5 种 PAHs 的降解率

表 1 PAHs	天然降解菌群
----------	--------

Table 1	Naturally	PAHs-degradi	ng microbial	consortia

Consortium	Main strains	PAH compound	Degradation efficiency (%)	Source of the organism	Reference
U03	Gordonia sp.	Phenanthrene	72.4	PAHs contaminated	[22]
		Anthracene	64.5	soil	
		Pyrene	65.8		
		Chrysene	66.5		
		Benzo(a)pyrene	64.8		
Phe	Rhodococcus sp.,	Phenanthrene	More than 80.0	Sludge obtained from a	[23]
	Mycobacterium sp.	Fluorene	More than 80.0	wastewater treatment plant	
Pyr	Pseudomonas sp.,	Anthracene	More than 60.0	Sludge obtained from a	[23]
	Rhodococcus sp.	Pyrene	More than 60.0	wastewater treatment plant	
PDMC	Sphingobium sp.,	Phenanthrene	100.0	PAHs-contaminated	[24]
	Pseudomonas sp.	Dibenzothiophene	94.3	soil samples	
BP-W	Chryseobacterium sp.,	Biphenyl	99.9	Oil-contaminated soil	[25]
	Pseudomonas sp.,	Naphthalene	100.0		
	Stenotrophomonas sp.,	Phenanthrene	97.5		
	Achromobacter sp.	Pyrene	42.3		
HJ-SH	Pseudomonas sp.,	Phenanthrene	98.1	Oil-contaminated soil	[26]
	Stenotrophomonas sp.,	Biphenyl	93.1		
	Brevundimonas sp., Curtobacterium sp.	Anthracene	91.6		

分别达到 72.4%、64.5%、65.8%、66.5%和 64.8% 的 PAHs 降解菌剂。Ma 等^[23]同样从废水处理厂 的活性污泥中富集得到了 2 个分别具有降解菲 和芘能力的菌群 Phe 与 Pyr,将这 2 种菌群各自 加入到含有 4 种 PAHs 各 50 mg/kg 的土壤中, Phe 菌群在 7 d 内去除了土壤中 80.0%以上的芴 和菲,而 Pyr 菌群可降解 60.0%以上的蒽和芘。 Zhang 等^[24]从工业区污染土壤中得到了一个能 高效降解 PAHs 的混菌体系 PDMC,主要由鞘 脂 菌 属 (58.57%–72.40%) 和 假 单 胞 菌 属 (25.93%–39.75%)组成,能够有效地降解菲和二 苯并噻吩;该混菌体系还能分别降解萘、苊、 芴、蒽、氟蒽、苯并(a)蒽、二苯并呋喃、咔唑 和吲哚。

在本课题组的前期工作中,以联苯为唯一 碳源,从石油污染土壤中筛选到混菌体系 BP-W。该混菌体系在72h内可以降解99.9%的 初始浓度为1g/L的联苯,同时该混菌体系对 100 mg/L 萘、菲、芘和 3,3',4,4'-四氯联苯 (tetrachlorobiphenyl, PCB77)的5d降解率分别 为100.0%、97.5%、42.3%和26.7%^[25]。在另一 项工作中,以菲为唯一碳源,从被菲长期污染 的土壤中驯化得到混合菌群 HJ-SH,并鉴定出 7个主要降解菲的菌株 SH-1-7,天然混菌体系 HJ-SH可在3d内降解98.1%的100 mg/L 菲^[26]。 混合菌群 HJ-SH 对菲的耐受性为4.5 g/L,降解5d 后,混合菌群 HJ-SH 对 100 mg/L 联苯、蒽和 十六烷的降解能力分别达到93.1%、91.6% 和70.1%。

通过驯化筛选得到的天然微生物群落通常 具有群落结构极其复杂、生物多样性高的特点。 群落中的菌株之间存在各种代谢交换,然而实验 室培养条件有限,因此通常存在大量目前还不能 纯培养的微生物。此外,由于底物类型、温度、 pH、溶解氧等各种环境因素的影响,微生物群 落也在不断进化,引起群落组成的演替。因此想 要确定群落组成的演替机制和各菌株间代谢物、 信息分子等的交换情况非常困难。目前,研究人 员只能确定高丰度或关键降解微生物的显性菌 群,并根据有限的实验结果推断出天然菌群中有 限的代谢机制,这些问题限制了天然菌群的进一 步应用。

2 人工微生物菌群降解多环芳烃

针对驯化得到的天然微生物菌群存在复杂 程度高、可逆性差、效率低等缺点,研究人员 开发了新的混菌体系构建方法:基于目标污染 物底物的不同特点以及不同单菌的生长状况及 对降解的贡献能力,选择多种单菌微生物(包括 天然菌株和基因工程菌株)并根据一定的比例 混合培养从而获得新的混菌体系^[27]。基于这种 方式得到的微生物群落具有组成和分工明确、 可重复性好、有利于后续研究等优势^[28]。根据 构成混菌体系微生物是否经过基因工程的修 饰,可以将人工微生物菌群分为以下 2 类。

2.1 天然微生物构建人工混菌体系

利用天然微生物构建人工混菌体系时,通 常可以根据组成菌种类别的不同,分为细菌组 成的混菌体系、真菌组成的混菌体系、细菌和 真菌组成的混菌体系以及细菌与藻类组成的混 菌体系(表 2)。

2.1.1 细菌构成的混菌体系

细菌具有很高的代谢可塑性,使其成为在 不同操作条件下降解 PAHs 污染物的理想选择^[48]。 目前针对细菌混菌体系对 PAHs 降解特性和机 理的研究也较为深入。Zhong 等^[29]将分枝杆菌 (*Mycobacterium* sp.) A1-PYR 与鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas* sp.) PheB4 混合培养,混菌体系 3 d 完全降解 10 mg/L 菲,7 d 分别降解 71.2% 和 50.0%的氟蔥和芘;混菌体系多样化的代谢 物模式不利于菲和氟蔥的降解,但增强了芘的 降解,可能是由于菌株 PheB4 以产生的芘代谢 物作为生长底物在混菌培养体系中快速生长(图 1A)。Vaidya 等^[30]构建了一个由 3 种细菌,即假单 胞菌(*Pseudomonas* sp.) ASDP1、伯克霍尔德菌 (*Burkholderia* sp.) ASDP2 和红球菌(*Rhodococcus*

Type Mixed cultures Degradation PAHs compound Medium References efficiency (%) Bacteria Mycobacterium sp. A1-PYR, Phenanthrene 100.0 Liquid (aerobic) [29] Sphingomonas sp. PheB4 Fluoranthene 71.2 50.0 Pvrene Pseudomonas sp. ASDP1, Pyrene 100.0 Liquid (aerobic) [30] Burkholderia sp. ASDP2, Rhodococcus sp. ASDP3 Liquid (aerobic) Bacillus licheniformis STK 01, Benzo(ghi)perylene 61.4 [31] Bacillus subtilis STK 02, Pseudomonas aeruginosa STK 03 Phenanthrene 86.7 Pseudomonas stutzeri PheN2, Liquid (anaerobic) [32] anammox culture (Candidatus Kuenenia) Mycobacterium spp. PO1 and PO2, Pvrene 100.0 Liquid (aerobic) [33] Novosphingobium pentaromativorans PY1, Ochrobactrum sp. PW1, Bacillus sp. FW1 98.4 Fungi Aspergillus aculeatus AA, Fluoranthene Liquid (aerobic) [34] Mucor irregularis MI Fluorene 86.0 Trichoderma viride EXF8977, Soil (aerobic) [35] Penicillium chrysogenum EXF181, Pyrene 87.0 78.0 Agrocybe aegerita EXF3253 Chrysene Benzo(a)pyrene 86.5 Pleurotus ostreatus PO-3, Benzo(a)pyrene 86.1 Liquid (aerobic) [36] Penicillium chrysogenum MTCC 787 100.0 Algae Desmodesmus sp. MAS1, Phenanthrene Soil (aerobic) [37] Heterochlorella sp. MAS3 Fluorene 100.0 Benzo(a)pyrene 100.0 Benzo(a)anthracene 92.0 Liquid (aerobic) [38] Selenastrum capricornutum, Scenedesmus acutus Benzo(a)pyrene 87.0 Selenastrum capricornutum, Chlorella sp. Benzo(a)pyrene 98.1 Liquid (aerobic) [39] Bacteria Penicillium sp., Ralstonia pickettii Phenanthrene 73.6 Liquid (aerobic) [40] and fungi Penicillium sp., Pseudomonas cepacea Phenanthrene 72.8 92.0 Liquid (aerobic) Enterobacter sp. TN3W-14, Pyrene [41] Pseudomonas sp. TN3W-8, Benzo(a)pyrene 72.0 Phlebia brevispora TN3F and TMIC 33929 Bacillus sp. SB02, Mucor sp. SF06 Benzo(a)pyrene 95.3 Soil (aerobic) [42] Penicillium sp., Serratia marcescens Benzo(a)pyrene 65.0 Liquid (aerobic) [43] Pleurotus ostreatus PO-3, Benzo(a)pyrene 75.1 Liquid (aerobic) [36] Pseudomonas aeruginosa MTCC 1688

Pyrene

Pyrene

Pyrene

Phenanthrene

Benzo(a)pyrene

Naphthalene

Phenanthrene

Fluorene

68.7

100.0

100.0

100.0

94.3

90.0

70.0

76.0

Liquid (aerobic)

Liquid (aerobic)

Liquid (aerobic)

Soil (aerobic)

表 2 天然微生物构建的 PAHs 人工降解菌群

Table 2 Artificial PAHs-degrading microbial consortia constructed from natural microorganisms

Bacteria

and algae

Basidioascus persicus EBL-C16,

Rhodococcus wratislaviensis 9

Pandoraea pnomenusa GP3B

Chlorella sp. MM3,

Pseudomonas GP3A,

Bacillus sp.

Pseudomonas putida ATCC 12633

Synechocystis sp., Pseudomonas sp.,

GY2B, Burkholderia cepacia GS3C,

Scenedesmus obliquus GH2, Sphingomonas

[44]

[45]

[46]

[47]



图 1 人工构建 PAHs 降解菌群 A: 细菌体系; B: 真菌体系; C: 细菌与真菌; D: 细菌与藻类。 Figure 1 Artificially constructed PAHs-degrading microbial consortia. A: Bacterial system; B: Fungal system; C: Bacteria and fungi; D: Bacteria and algae.

sp.) ASDP3 组成的混菌体系 PBR,该混菌体系 最大生长速率为 0.060 h⁻¹, 芘的最大降解速率 为 16 mg/(L·d); ASDP1、ASDP2 和 ASDP3 对 芘的 10 d 降解率分别只有 5%、14%和 18%; 然而,由上述 3 种单菌组成的 PBR 混菌体系在 7 d内几乎完全降解 100 mg/L 的芘。Amodu 等^[31] 将分别从 3 种不同地区分类得到的单菌地衣芽 孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) STK01、枯草芽孢 杆菌(*Bacillus subtilis*) STK02 和铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) STK03 构成混菌体系降解苯并 (ghi)芘;其中地衣芽孢杆菌 STK01 为主要的降 解菌,混菌体系 60 d 可降解 61.4%的苯并(ghi)芘, 高于 3 种单菌分别降解时的效率。

2.1.2 真菌与真菌构成的混菌体系

真菌根据其降解 PAHs 的能力可以分为2类: 第1类是木质素降解真菌,它们使用胞外酶, 如木质素过氧化物酶、锰依赖性过氧化物酶、 酚氧化酶和产生过氧化氢的酶;第2类是非木 质素降解真菌^[49]。与细菌胞内酶相比,真菌分 泌的用于木质素异化的胞外酶更利于催化对土 壤中存在的 PAHs 的早期降解。真菌微生物的 共同培养可能是诱导酶生产多样性的更好方 法,因为共同培养容易让菌株接触其他化学信号, 而单菌培养可能缺少这些信号^[50](图 1B)。Bankole 等^[34] 将 海 洋 真 菌 棘 抱 曲 霉 (Aspergillus aculeatus)和不规则毛霉(Mucor irregularis)共培 养,在7d内降解了98.4%的荧光蒽;在荧光蒽 降解过程中,漆酶、木质素过氧化物酶和锰过 氧化物酶的诱导率分别为 93%、85%和 71%, 这些酶的表达促进了混菌体系对荧光菌的降解。 Vipotnik 等^[35]研究了和绿色木霉(Trichoderma viride)、产黄青霉(Penicillium chrysogenum)和杨 树菇(Agrocybe aegerita)共培养对土壤中 PAHs 的降解情况;在 pH 值为 5 时, 芴、芘和苯并(a) 芘在土壤中的降解率更高,而在 pH 值为 7 时, 芘的降解率更高;约 85.0%-90.0%的 PAHs 被真 菌降解;在实验中还观察到虽然共同培养增加 了对某些 PAHs 的降解, 但在真菌单独培养时,

降解过程中的部分酶产量更高。

2.1.3 细菌与真菌构成的混菌体系

利用细菌与真菌混合培养有利于增强 PAHs 的降解, 在混合培养体系中, 两者可能协 同相互作用,代谢唯一碳源底物,也可能在利 用其他底物的同时共同代谢 PAHs 残基^[51]。由 于真菌对应激环境具有更高的耐受性,它们可 能通过将有毒污染物底物转化为可溶性中间体 来提高生物利用度或减少污染物对菌体的有害 影响,从而启动 PAHs 降解;而细菌则将这些 代谢中间体作为底物并进行进一步的矿化[51] (图 1C)。真菌菌丝通过在囊泡中积累 PAHs 来 隔离难溶于水的 PAHs, 使其可被吸收进入细胞^[52]。 与此同时,细菌也促进真菌在这种应激条件下 的生长发育和繁殖[53]。因此,使用相互协同的 混合细菌和真菌培养物可以提高降解效率,使 PAHs 降解过程更加高效和稳健。Chávez-Gómez 等[40]将4种真菌与4种细菌分别进行混合培养 以降解土壤中的菲,结果表明青霉菌属 (Penicillium sp.)的真菌与4种细菌[铜绿假单胞 菌(Pseudomonas aeruginose)、皮氏罗尔斯通氏 菌(Ralstonia pickettii)、假单胞菌(Pseudomonas sp.)、洋葱假单胞菌(Pseudomonas cepacea)]都有 较高的降解率, 最高 18 d 降解率为 73.6%。 Harry-Asobara 等^[41]将白腐菌(Phlebia brevispora) TN3F和TMIC33929与肠杆菌(Enterobacter sp.) TN3W-14 和假单胞菌 (Pseudomonas sp.) TN3W-8 混合培养, 混菌体系对芘和苯并(a)芘 的 15 d 降解率分别提升到 92.0%和 72.0%, 然 而混菌培养对菲的降解能力有所下降。Morales 等^[46]利用腐皮镰孢(Fusarium solani)和红城红 球菌(Rhodococcus erythropolis)混合降解甲醛、 甲苯和苯并(a)芘,结果表明混菌情况下比单独 培养具有更高的 CO2 产率和 CO2 百分比产率。

2.1.4 细菌与藻类构成的混菌体系

相较于细菌与真菌,藻类对 PAHs 的降解 研究较少,然而根据 Sivakumar 等^[54]的研究, 微藻可以快速产生脂质和碳氢化合物,它们的 光合能力使其成为生物修复和替代能源的绝佳 选择。当藻类单独存在时可以对 PAHs 进行降 解和吸附反应,目前虽有一定关于多种藻类共 培养的体系的研究,但并未深入研究不同微生 物之间的相互作用[39]。相比之下,微藻与细菌 构成的混合体系研究较多,它们的相互作用既 包括共生关系,也包括竞争关系。一般来说, 微藻与细菌之间的互利共生关系是建立在补充代 谢反应的基础上的,主要表现在氧分子和代谢物 的释放、吸附和利用^[55](图 1D)。Subashchandrabose 等^[45]以小球藻(Chlorella sp.)和弗氏红球菌 (Rhodococcus wratislaviensis) 9 组成混菌体系,并 在 30 d 内完全降解了土壤中 50 mg/L 菲、10 mg/L 花和 10 mg/L 苯并(a)花;并且在 16 种 PAHs 和几种重金属长期污染的土壤中,该藻-细菌系 统能够在 21 d 内成功降解这 3 种 PAHs。Li 等[56] 将分歧杆菌(Mycobacterium sp.)降解芘的代谢 产物用于培育羊角月牙藻 (Selenastrum capricornutum),结果表明,相比芘作为唯一碳 源, 芘的细菌代谢物可显著促进藻类细胞生长 和增殖相关的基础代谢。Patel 等^[57]利用集胞藻 (Synechocystis sp.)和 2 种已知互补降解能力的 花降解菌假单胞菌(Pseudomonas sp.)和芽孢杆 菌(Bacillus sp.)组成混菌体系,并分析了其对芘 的降解情况;结果表明在细菌存在的情况下, 集胞藻的生长和生物降解能力都得到了极大的 提高; 16 d 内该混菌体系对 50 mg/L 的芘去除 率为 94.1%, 但在只有藻类的情况下只能去除 36.0%的 1.5 mg/L 芘。

2.2 基因工程菌群降解多环芳烃

随着系统代谢工程和合成生物学技术的发展,代谢网络和遗传背景清晰的菌株被加以基因工程改造来用于有机污染物的微生物修复。 将天然 PAHs 降解质粒转入到优选的异源表达底盘细胞中,或者是将降解所需要的基因通过引入质粒或者整合到基因组上的方式构造降解 PAHs 的基因工程菌株^[58]。Varner等^[59]将含有负 责萘分解代谢的基因分为 nal 和 sal 这 2 个操纵 子组成质粒 NAH7,并转入恶臭假单胞菌 (Pseudomonas putida),构建工程菌株 G7;2个 操纵子分别包含编码将萘转化为水杨酸盐的上 游途径和将水杨酸盐转化为丙酮酸盐和乙醛的 下游途径酶的基因;当水杨酸诱导其表达时, 细菌中常见的调节因子 NahR 正调控操纵子会 导致萘降解基因 nah 高水平表达^[60]。

与复杂程度高、可逆性差、效率低的天然 菌群相比,基因工程菌群可针对目标污染物进 行各种修饰与强化,利用各种分工强化菌株生 长,有利于进一步研究分析[61]。相比天然菌株 构建的混菌体系,通过基因工程的手段构建菌 株进行降解研究能够更深入地了解关键基因与 酶的作用以及各菌株之间的相互关系。基于 PAHs 的不同降解机理,引入关键相关降解基因 强化 PAHs 降解菌对目标底物的降解能力。通 过引入表面活性剂表达模块促进底物生物利用 度的提升,利用基因工程增强底盘细胞的抗逆 能力等都是通过基因工程手段构建 PAHs 降解 混菌体系的方法。基于不同基因工程菌株的降 解原理和菌间配合机制,基因工程降解混菌体 系的构建思路可分为增强关键代谢途径、人工 劳动分工、增加污染物利用度等。

2.2.1 多环芳烃降解机制

PAHs 的好氧细菌代谢的主要机制是在双加氧酶的作用下苯环的初始氧化形成顺式二氢二醇。这些二氢二醇脱氢形成二羟基化的中间体,然后通过儿茶酚进一步代谢成二氧化碳和水。PAHs 的厌氧细菌代谢包括通过羧基化、羟基化或富马酸还原加成激活苯环,然后进行脱羧、去羟基化或去芳构化反应,生成更简单的化合物^[62](图 2)。在芳烃的有氧分解代谢过程中,氧除了作为最终的电子受体外,还是芳烃羟基化和氧解环断裂的共底物。

与好氧细菌不同的是,芳香化合物的厌氧 分解代谢主要基于还原过程分解芳香环^[63]。芳 香族化合物的有氧分解代谢已经研究了几十年, 相比之下厌氧降解机理研究时间尚短。然而, 缺氧条件在许多自然栖息地和污染场所(如含水层、水生沉积物和淹没土壤)中很常见,厌氧菌通常使用硝酸盐、硫酸盐或铁离子等最终电子受体,而非氧来进行生物降解^[64]。

与细菌不同,很少有真菌可以将多环芳烃 作为唯一的碳和能量来源,并代谢为一系列解 毒氧化代谢物^[65]。真菌降解 PAHs 的机制通常 为分泌细胞外酶,将 PAHs 的芳香环分解成更 小的分子,然后进入真菌细胞进行进一步的反 应。参与 PAHs 降解的酶包括木质素降解酶, 如漆酶、锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶, 它们可以氧化多种 PAHs,特别是高分子量的 PAHs^[66]。参与 PAHs 降解的其他酶包括细胞色 素 P450 单加氧酶,它可以羟基化低分子量 PAHs^[49]。

2.2.2 增强关键代谢途径

随着微生物降解 PAHs 的机制逐渐被揭示, 整个降解过程中的关键基因以及关键酶的作用 也被阐述清楚。基于目标污染物降解过程中的 关键基因与关键酶,研究者们通过各种方 法从基因水平对关键基因进行改造与强化,从 而增强 PAHs 代谢途径,最终得到降解能力更 高的工程菌株(图 3A)。利用这些工程菌株构建 基因工程菌群即可进一步提高混菌体系对 PAHs 的降解效率。Saito 等^[67]构建的菲降解大 肠杆菌工程菌对 1 mmol/L 菲的降解率达到了 80%,同时他们证实了 phdABCD 基因对于工程 菌表现出菲降解活性的必要性。Mardani 等^[68]将 邻苯二酚 2,3-双加氧酶(catechol 2,3-dioxygenase, C23O) 编码基因 (nahH) 导入恶臭假单胞菌 (P. putida)构建工程菌株,成功提高了菌株对土 壤中菲(500 mg/kg, 60.566%)和芘(500 mg/kg, 43.123%)的降解。Maxel 等^[69]利用定向进化方 法对大肠杆菌(Escherichia coli) MX203 的位点 饱和诱变文库进行筛选,鉴定出 P450-BM3 突 变体 GVQ-AL 和 GVQ-D222N, 工程菌株对苊的 降解活性和偶联效率得到了提高。



图 2 代表性 PAHs 生物降解途径

Figure 2 Representative biodegradation pathways of PAHs.

2.2.3 人工劳动分工

目前大多数的降解工程菌都是在单个底盘 细胞中构建完成的,然而 PAHs 代谢途径冗长, 在单个底盘细胞中表达代谢途径显然会增加 底盘细胞的代谢负担,不利于降解代谢反应的 进行^[70]。基于劳动分工的原理,加强 PAHs 污 染物中间代谢产物的降解可以降低中间代谢产 物对菌株的毒性,减轻单菌的代谢负担,提升 整体降解率。Yan 等^[71]构建了一株含有 *camA*⁺、 *camB*⁺、*camC* 基因的工程大肠杆菌 CYP101,并 将其与天然五氯酚 (pentachlorophenol, PCP) 降解菌鞘氨醇菌 (*Sphingobium chloropholicum*) ATCC 39723 组成混菌体系;工程大肠杆菌 CYP101 会首先将底物六氯苯降解为五氯酚,而 天然鞘氨醇单胞菌 ATCC 39723 会将五氯酚进 一步矿化;结果表明,该混菌体系在 24 h 内对 4 μmol/L 六氯苯的降解率接近 40%,并伴有五 氯酚的瞬时积累和瞬时消耗。

在本课题组的研究中,基于从石油污染土 壤中分类得到的天然菲降解菌株铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) PH1 构建得到强化环裂解双加 氧酶的铜绿假单胞工程菌 PH2,随后构建了含 有 2 个末端双加氧酶模块和 1 个电子传递链的 工程大肠杆菌(*E. coli*) HY1^[72];在菲降解过程中 工程菌 HY1 释放菲双加氧酶将菲初步开环,而 最后的苯环裂解则主要由 PH2 负责。双菌组成 的混菌体系 15 d 内对 100 mg/L 菲降解率为 71%,对 100 mg/L 菲和 2%石油降解率为 80%, 对 100 mg/L 菲和 2%正十六烷降解率为 88%, 降解率均得到了显著提升。基于相同的思路, 后续的研究中将菲降解过程的 17 个基因分为 了芳香环裂解模块、水杨酸合成模块和儿茶酚 代谢模块并分别导入大肠杆菌 BL21 中,得到 了工程大肠杆菌 M1、M2、M3,这3株工程大 肠杆菌在代谢过程中协同合作,7 d 降解了 72.67%的 100 mg/L 菲,通过每隔 7 d 分批补充 工程菌使各菌保持最佳的降解能力,21 d 降解率 达到 90.66% (图 3B)^[73]。

2.2.4 提高污染物生物利用度

在 PAHs 降解过程中,通常会因水溶性低 导致降解效率难以提升^[74]。为了提升 PAHs 底 物的生物利用度,可以添加各种表面活性剂,



图 3 基因工程构建 PAHs 降解菌群 A: 增强关键代谢途径; B: 人工劳动分工; C: 提高生物利 用度。

Figure 3 Genetically engineered PAHs-degrading microbial consortia. A: Enhancement of key metabolic; B: Artificial MMS labor division; C: Increased bioavailability.

包括生物表面活性剂和合成表面活性剂。许多 研究直接添加各种合成表面活性剂以促进 PAHs 的降解, 与化学类表面活性剂相比, 生物 表面活性剂因其构造多样性、生物安全性、更 高的生物降解性、低成本性以及在较宽范围的 pH、温度和盐度范围内起到促降解作用的能力 而更受关注^[75]。Ibrar 等^[76]构建了含有赖氨酸芽 孢杆菌(Lysinibacillus sp.)、类芽孢杆菌 (Paenibacillus sp.)、戈登氏菌(Gordonia sp.)和贪 铜菌(Cupriavidus sp.)的人工混菌体系;该混菌 体系能够使用普通原料(橄榄油、石蜡油和甘油) 和 PAHs 污染物(萘和蒽)作为唯一碳源,同时生 产生物表面活性剂,并且该人工混菌体系在 PAHs 底物上生长良好, 10 d 内降解了 99.0%的 萘和 98.7%的菌。本课题组也构建了能够生产 鼠李糖脂的工程菌恶臭假单胞菌 KT-159、 KT-AB和KT-ABRI,并与前期构建的人工劳动 分工的混菌体系 E. coli M1、M2、M3 共培养,

表 3 混菌降解 PAHs 条件优化

构成 3 种人工四菌体系^[77](图 3C),混菌体系 7 d 内对 100 mg/L 菲的最高降解率从 61.15%提高 到了 73.86%。

除了上述提到的构建思路以外,还可以通过 构建能够表达促进细胞生长的小分子的基因工 程菌从而组成混菌体系促进降解细菌生长^[78-79]; 构建抗盐、抗极端 pH 的 PAHs 降解混菌体系等 方法构建基因工程混菌降解体系^[17,80]。目前关于构 建基因工程菌群来降解 PAHs 仍有待进一步研究。

3 混菌降解多环芳烃条件优化

在混菌体系降解 PAHs 过程中,除了菌株 自身外,还有许多因素会对降解效果造成影响, 如底物的种类与浓度、电子受体的种类与浓度、 环境条件、菌株接种比例、底物生物利用度、 细胞载体、共代谢底物的浓度等^[5,81]。通过优化 其中的一种或多种条件可以进一步加快环境修 复的速度(表 3)。

Strategies	Mixed cultures	Addition	PAH compound	Degradation efficiency (%)	Medium	Reference
Surfactant	Bacillus subtilis,	Tween-80	Pyrene	80.0	Liquid	[82]
	Burkholderia cepacia				(aerobic)	
	Basidioascus persicus	Rhamnolipid	Pyrene	68.7	Liquid	[44]
	EBL-C16, <i>Pseudomonas</i> putida ATCC 12633				(aerobic)	
Immobilization	Selenastrum capricornutum,	Alginate	Benzo(a)anthracene	92.0	Liquid	[38]
	Scenedesmus acutus		Benzo(a)pyrene	87.0	(aerobic)	
	Pseudomonas monteilii P26,	Calcium alginate	Pyrene	88.9	Liquid	[83]
	Gordonia sp. H19		Phenanthrene	60.6	(aerobic)	
			Naphthalene	20.8		
	Bacillus sp. SB02, Mucor sp. SF06	Vermiculite	Benzo(a)pyrene	95.3	Soil (aerobic)	[42]
Co-metabolism	Pseudomonas aeruginosa	Sodium citrate	Pyrene	74.6	Liquid	[84]
	PA06, Achromobacter sp. AC15				(aerobic)	
	Acidobacteria,	Lignin	Benzo(a)anthracene	8.7	Soil	[85]
	Alphaproteobacteria,				(aerobic)	
	Gammaproteobacteria					

Table 3 Optimization of conditions for PAHs degradation by mixed cultures

3.1 提高生物利用度

在混菌体系构建过程中, 菌株合成的生物 表面活性剂会影响 PAHs 底物的生物利用度。 而当最终的混菌体系中缺少表面活性剂时,通 过外源添加合成表面活性剂通常可以很好地促 进底物降解效率的提升^[86]。Chen 等^[82]评估了吐 温 80 对 PAHs 降解菌洋葱伯克霍尔德氏菌 (Burkholderia cepacia)降解芘的影响;结果显示 吐温 80 浓度为 500 mg/L 时, 伯克霍尔德菌在 50 h 内对 100 mg/L 芘的去除率达到了 80.0%, 显著改善了芘的生物降解。然而,在某些情况 下细菌的降解活性可能被化学表面活性剂的毒 性所抑制。Chen 等^[82]研究了 TX-100 和 β-环糊 精对菲生物利用度和生物降解效率的影响;在 奥斯陆莫拉氏菌(Moraxella osloensis) CFP312 降解菲的实验中,在低浓度条件下,2种表面 活性剂都能促进菲的降解,但在高浓度体积下, TX-100 影响了生物膜的结构从而降低了菲降 解率。

3.2 微生物固定化

微生物固定化技术可以促进降解体系中的 氧转移、维持体系微生物活性和固定营养物质, 已被广泛用于修复 PAHs 污染的地下水或土壤^[87]。 而不同的载体和不同的固定化方式也会直接影 响微生物的活性和功能^[88]。载体分为无机载体 (矿物、玻璃、金属纳米颗粒等)和有机载体(聚 合物、生物炭等),与无机载体相比,天然有机 载体含量丰富、经济可行性强、毒性低,并且 更容易吸附目标污染物从而提升体系对污染物 的去除能力^[89]。Garcia等^[80]将沙雷氏菌(Serratia sp.) AC-11 菌株固定在壳聚糖微球中,用于荧光 菌的生物降解;固定化细菌能够在1d内降解 56%的荧光蒽(100 mg/L), 降解率是自由活细胞 的2倍。Alessandrello等^[83]以聚氨酯泡沫块、 沙子和海藻酸钙珠制备固定化 PAHs 降解菌蒙 氏假单胞菌(Pseudomonas monteilii) P26 和戈登 氏菌(Gordonia sp.) H19; 形成的固定化混菌体 系在 12 d 内降解了 88.9%的花, 对萘和菲也能 很好地降解。

3.3 添加共代谢底物

共代谢为2种基质共存时,微生物利用生 长基质提高非生长基质转化效率的过程。由于 高分子量 PAHs 溶解度低, 难以被利用, 因此 微生物的生长速度一般相对较慢。而添加共代 谢底物可以为微生物的快速生长提供养分和能 量,从而保证能产生足够的酶活降解 PAHs^[90]。 许多简单的有机物,如有机酸(柠檬酸、草酸和 苹果酸)、低分子量 PAHs 和木质素等,都可能 被 PAHs 降解菌株用作共代谢底物^[91]。Li 等^[84] 以柠檬酸钠作为铜绿假单胞菌(P. aeruginosa) PA06 和无色小杆菌(Achromobacter sp.) AC15 混菌体系的共代谢碳源,在600 mg/L 芘与 1.4 g/L 柠檬酸钠的共代谢体系中, 芘的降解率达到了 74.6%; 柠檬酸钠的存在提高了儿茶酚 1,2-双加 氧酶和 2,3-双加氧酶的酶活性。Gu 等^[85]研究了 木质素改性土壤降解四环苯并(a)蒽过程中,微 观环境 PAHs 矿化与微生物群落演替的关系; 结果显示木质素改性促进了微生物群落对四环 苯并(a) 菌的降解,可能与木质素对真核抑制剂 环己亚胺和氧化还原介质 2,2'-联氮-双-3-乙基 苯并噻唑啉 -6- 磺酸 (2,2'-diazo-di-3ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid, ABTS)的反 应有关,也与真菌群落的变化有关。

4 混菌降解多环芳烃应用

在实际污染环境中,通常存在有多种污染物,使细菌无法发挥预期的降解功能,在将专门针对污染物的微生物引入生态系统后,其他污染物(重金属、长链烃、卤代烃等)和环境条件(温度、pH、氧浓度、营养条件等)可能会影响微生物发育和降解的速度和效率^[92]。目前相较于对 PAHs 污染物降解的实验室研究,针对实地降解的研究较少。Benjamin等^[92]对西班牙奥维耶多化工厂附近的受污染土壤进行了修复尝试;通过微生物的筛选驯化得到了 PAHs 降解微生物,并通过实验室微观环境和中试规模研

究分析了生物修复的可行性,同时进一步优化 处理条件;在对 900 m³污染土壤的生物修复处 理过程中,161 d 后 PAHs (94.4%)和萘(98.2%) 的含量显著降低。在意大利巴尼奥利的工业区 土壤中含有大量 PAHs 同系物,其浓度水平远 高于当地污染阈值限制。Guarino 等^[93]鉴定了污 染土壤中的微生物群落,目前正在尝试通过植 物-微生物联合修复的原位修复方式降低该地 区的 PAHs 浓度。

在实际运用混菌体系降解环境污染物时, 基因工程菌株可能会导致抗生素耐药性标记的 无意传递,以及无意转移或摄取受刺激基因转 移到其他微生物的重组基因组^[94]。因此目前主 要利用天然混菌体系作用于修复场所。国家重 点研发计划"合成生物学专项"鼓励开展基因工 程菌种在实际场地修复中的应用研究,但需考 虑生物安全问题,可以通过在相对封闭环境开 展实验和一定受控条件下杀灭基因工程菌的方 法实现,如目前正在开发含有自杀基因的基因 工程菌株,使菌株能够在降解完成后自动凋亡^[95], 将转基因微生物逃逸控制率降低到美国国立卫 生研究院(National Institutes of Health, NIH)建 议的安全释放标准 10⁻⁸ 以下^[96]。Liu 等^[97]构建了 一株含有污染物检测、污染物降解和自杀 3 个 模块的工程大肠杆菌菌株; 3 个模块会随时间 经过依次表达,并在目标污染物水杨酸被耗尽 后在没有外源诱导物的情况下表达有毒蛋白 CcdB 促进细胞自杀, 通过类似方法构建的基因 工程混菌体系有望在封闭体系中降解环境污染 物并避免生物安全相关的问题。

5 总结与展望

自然环境中各种来源的多环芳烃分布广、 危害大,已经对环境安全和人体健康产生了严 重影响,而高效、经济和生态环境友好的微生 物降解方法受到研究人员广泛关注。相较于研 究较为深入的单菌株降解 PAHs,混菌体系降解 PAHs 通常具有更高的降解效率、更强的适应能 力,目前针对 PAHs 降解微生物混菌体系的开发方法正在进一步研究中。

本文综述了混合微生物体系降解 PAHs 的 主要种类及其构建方法以及针对这些混合微生 物体系的优化手段。针对受 PAHs 污染的土壤 或污水,通过驯化筛选的方式可以获得各种天 然降解混菌体系,然而这些天然混菌体系存在 复杂程度高、可逆性差、效率低等缺点。为了 进一步提升混菌体系的降解能力与环境适应能 力,研究人员开发出了人工微生物混菌体系。

基于不同单个菌株的生长与降解特性,将 细菌、真菌、藻类等共培养可以得到功能互补 的混菌体系。由对 PAHs 降解特性和机理研究 较为深入的细菌组成的细菌-细菌体系较易于 培养,且更便于研究其降解路径与微生物互作 机制。真菌-真菌体系更容易让菌株接触在单菌 培养时可能缺少的化学信号,促进菌株分泌胞 外 PAHs 降解酶,从而促进体系对目标污染物 的降解。真菌与细菌共培养组成的细菌-真菌体 系依靠真菌对应激环境具有更高的耐受性,将 有毒污染物底物转化为可溶性中间体来提高生 物利用度或减少污染物对菌体的有害影响,从 而启动 PAHs 降解,而细菌负责将中间代谢产 物进一步矿化。在细菌-藻类体系中, 微藻可以 通过光合作用快速产生脂质和碳氢化合物,促 进细菌的生长从而启动 PAHs 降解。

随着系统代谢工程和合成生物学技术的发展,各种菌株对多种 PAHs 的代谢机理与关键 基因、关键酶已被逐渐阐明,研究人员得以开 发出降解 PAHs 的基因工程混菌体系。通过各 种方法从基因水平对关键基因进行改造与强 化,从而增强 PAHs 代谢途径,可以得到具有 降解能力更高的工程菌株,利用这些工程菌株 构建基因工程菌群即可进一步提高混菌体系对 PAHs 的降解效率。基于劳动分工的原理,构建 加强 PAHs 污染物中间代谢产物降解的工程菌 可以降低中间代谢产物对微生物的毒性,减轻 单菌的代谢负担,提升整体降解率。加入产生

表面活性剂的基因工程菌株可以提高混菌体系 对污染物底物的生物利用度。目前关于构建基 因工程菌群降解 PAHs 仍需要开发更多的构建 思路,并进一步分析各菌株之间的相互作用机 理。针对在混菌体系降解 PAHs 过程中的诸多 影响因素,通过加入表面活性剂、微生物固定 化、添加共代谢底物等方法可以进一步促进混 菌体系的生长与降解效率。在实际的 PAHs 污 染环境中,采用天然乃至人工混菌体系对实际 污染场地进行修复的工作也在开展中,由于多 种污染物和环境条件的影响以及生物安全性的 限制,混菌体系降解 PAHs 仍需进一步研究。

在混菌体系降解有机污染物的过程中,不 同微生物之间的协同互作起到了重要的作用, 然而目前对于复杂混菌体系内部基于代谢物 质、信号传导和能量交流等协作方式仍缺乏深 入研究。通过进一步了解混菌体系的内部协同 作用与其降解特性的关系,研究者可以开发更 多的高效混菌体系构建方案。在实际应用于污 染场地修复工作前,还需要对各种可能的生物 或者非生物影响因素进行优化和调整,提高修 复效率、控制治理成本,才能将研究成果成功 应用于实际环境中。将来,随着微生物工程和 合成生物学技术的不断发展,对采用天然和人 工混合微生物体系降解 PAHs 的机制与相互作 用关系的研究不断深入,微生物环境修复技术 将得到进一步完善和提高,为 PHAs 污染的治 理提供更加有效的解决方案。

作者贡献声明

刘羿洋: 方案设计、实验操作、初稿写作、 稿件润色修改; 王璐: 方案设计、经费支持、 稿件润色修改;贾晓强:监督指导、稿件润色 修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告 工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] HOYER S, KROLL L, LIPPERT K, SEIDEL A. A long-term study on the content of polycyclic aromatic hydrocarbons in rubber from end-of-life tires of passenger cars and trucks[J]. Materials, 2022, 15(19): 7017.
- [2] LI YF, BAI XR, REN YQ, GAO R, JI YY, WANG YF, LI H. PAHs and nitro-PAHs in urban Beijing from 2017 to 2018: characteristics, sources, transformation mechanism and risk assessment[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 436: 129143.
- [3] CHAN CWH, YEUNG EA, LAW BMH. Effectiveness of physical activity interventions on pregnancy-related outcomes among pregnant women: a systematic review[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2019, 16(10): 1840.
- [4] KUMAR A, SHARMA MP. Assessment of risk of GHG emissions from Tehri hydropower reservoir, India[J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2016, 22(1): 71-85.
- [5] THACHARODI A, HASSAN S, SINGH T, MANDAL R, CHINNADURAI J, KHAN HA, HUSSAIN MA, PUGAZHENDHI BRINDHADEVI Κ, A. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: an updated microbiological review[J]. Chemosphere, 2023, 328: 138498.
- [6] TONG RP, YANG XY, SU HR, PAN Y, ZHANG QZ, WANG J, LONG MC. Levels, sources and probabilistic health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in the agricultural soils from sites neighboring suburban industries in Shanghai[J]. Science of the Total Environment, 2018, 616: 1365-1373.
- [7] RAJPARA RK, DUDHAGARA DR, BHATT JK, GOSAI HB, DAVE BP. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at the Gulf of Kutch, Gujarat, India: occurrence, source apportionment, and toxicity of PAHs as an emerging issue[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 119(2): 231-238.
- [8] HOLME JA, BRINCHMANN BC, REFSNES M, LÅG M, ØVREVIK J. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons as mediators of cardiovascular effects from combustion particles[J]. Environmental Health, 2019, 18(1): 74.
- [9] GHOSAL D, GHOSH S, DUTTA TK, AHN Y. Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1369.
- [10] DAI CM, HAN YM, DUAN YP, LAI XY, FU RB, LIU SG, LEONG KH, TU Y, ZHOU L. Review on the contamination and remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal soil and sediments[J]. Environmental Research, 2022, 205: 112423.
- [11] ISMAIL NA, KASMURI N, HAMZAH N. Microbial bioremediation techniques for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs): a review[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2022, 233(4): 124.
- [12] ALI M, SONG X, DING D, WANG Q, ZHANG ZX, TANG ZW. Bioremediation of PAHs and heavy metals co-contaminated soils: challenges and enhancement strategies[J]. Environmental Pollution, 2022, 295: 118686.
- [13] KARIGAR CS, RAO SS. Role of microbial enzymes in

the bioremediation of pollutants: a review[J]. Enzyme Research, 2011, 2011: 805187.

- [14] GOSAI HB, PANSERIYA HZ, PATEL PG, PATEL AC, SHANKAR A, VARJANI S, DAVE BP. Exploring bacterial communities through metagenomics during bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated sediments[J]. Science of the Total Environment, 2022, 842: 156794.
- [15] LONG XX, YU ZN, LIU SW, GAO T, QIU RL. A systematic review of biochar aging and the potential eco-environmental risk in heavy metal contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 472: 134345.
- [16] ALMUTAIRI HH. Microbial communities in petroleum refinery effluents and their complex functions[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2024, 31(7): 104008.
- [17] CUI JQ, HE ZQ, NTAKIRUTIMANA S, LIU ZH, LI BZ, YUAN YJ. Artificial mixed microbial system for polycyclic aromatic hydrocarbons degradation[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1207196.
- [18] KUMARI S, REGAR RK, MANICKAM N. Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria[J]. Bioresource Technology, 2018, 254: 174-179.
- [19] SINGH P, TIWARY BN. Optimization of conditions for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation by *Pseudomonas stutzeri* P2 isolated from Chirimiri coal mines[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017, 10: 20-29.
- [20] IMAM A, KUMAR SUMAN S, KANAUJIA PK, RAY A. Biological machinery for polycyclic aromatic hydrocarbons degradation: a review[J]. Bioresource Technology, 2022, 343: 126121.
- [21] ROMERO MC, CAZAU MC, GIORGIERI S, ARAMBARRI AM. Phenanthrene degradation by microorganisms isolated from a contaminated stream[J]. Environmental Pollution, 1998, 101(3): 355-359.
- [22] HU GJ, TAI PD, GONG ZQ, LIANG CH, JU JL, DONG DB, LI PJ. Screening of immobilized microorganism strains capable of degrading polyaromatic hydrocarbons (PAHs)[J]. Journal of Soil Science, 2010, 41(2): 331-336.
- [23] MA J, ZHANG SL, QU JF, YAN AH, CHEN F. Development of bacterial consortia and biodegradation ability under different PAH stresses[J]. Advanced Materials Research, 2014, 1073/1074/1075/1076: 176-182.
- [24] ZHANG LG, QIU XY, HUANG L, XU JJ, WANG WW, LI Z, XU P, TANG HZ. Microbial degradation of multiple PAHs by a microbial consortium and its application on contaminated wastewater[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 419: 126524.
- [25] XU T, LIU T, JIANG DW, YUAN ZY, JIA XQ. Attainment and characterization of a microbial consortium that efficiently degrades biphenyl and related substances[J]. Biochemical Engineering Journal, 2021, 173: 108073.
- [26] CHEN R, ZHAO ZH, XU T, JIA XQ. Microbial consortium HJ-SH with very high degradation efficiency of phenanthrene[J]. Microorganisms, 2023, 11(10): 2383.
- [27] LI ZH, WANG XN, ZHANG HR. Balancing the

non-linear rosmarinic acid biosynthetic pathway by modular co-culture engineering[J]. Metabolic Engineering, 2019, 54: 1-11.

- [28] CHEN BW, HUANG JY, YUAN K, LIN L, WANG XW, YANG LH, LUAN TG. Direct evidences on bacterial growth pattern regulating pyrene degradation pathway and genotypic dioxygenase expression[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 105(1): 73-80.
- [29] ZHONG Y, LUAN TG, LIN L, LIU H, TAM NFY. Production of metabolites in the biodegradation of phenanthrene, fluoranthene and pyrene by the mixed culture of *Mycobacterium* sp. and *Sphingomonas* sp.[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 2965-2972.
- [30] VAIDYA S, JAIN K, MADAMWAR D. Metabolism of pyrene through phthalic acid pathway by enriched bacterial consortium composed of *Pseudomonas*, *Burkholderia*, and *Rhodococcus* (PBR)[J]. 3 Biotech, 2017, 7(1): 29.
- [31] AMODU OS, NTWAMPE SK, OJUMU TV. Improving biodegradation of benzo(ghi)perylene in soil: effects of bacterial co-culture, agrowaste and biosurfactant supplementation[J]. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences, 2018, 14(1): 191-198.
- [32] ZHANG ZT, SUN J, GONG XQ, WANG CY, WANG H. Novel synergistic metabolic processes for phenanthrene biodegradation by a nitrate-reducing phenanthrene-degrading culture and an anammox culture[J]. Water Research, 2023, 230: 119593.
- [33] WANAPAISAN P, LAOTHAMTEEP N, VEJARANO F, CHAKRABORTY J, SHINTANI M, MUANGCHINDA C, MORITA T, SUZUKI-MINAKUCHI C, INOUE K, NOJIRI H, PINYAKONG O. Synergistic degradation of pyrene by five culturable bacteria in a mangrove sediment-derived bacterial consortium[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 342: 561-570.
- [34] BANKOLE PO, TAGHOGHOR OMONI V, MULLA SI, ADEBAJO SO, ADEKUNLE AA. Co-biomass degradation of fluoranthene by marine-derived fungi; *Aspergillus aculeatus* and *Mucor irregularis*: Comprehensive process optimization, enzyme induction and metabolic analyses[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2022, 15(9): 104036.
- [35] VIPOTNIK Z, MICHELIN M, TAVARES T. Ligninolytic enzymes production during polycyclic aromatic hydrocarbons degradation: effect of soil pH, soil amendments and fungal co-cultivation[J]. Biodegradation, 2021, 32(2): 193-215.
- [36] BHATTACHARYA S, DAS A, PALANISWAMY M, ANGAYARKANNI J. Degradation of benzo[a]pyrene by *Pleurotus ostreatus* PO-3 in the presence of defined fungal and bacterial co-cultures[J]. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(2): 95-103.
- [37] ABINANDAN S, SUBASHCHANDRABOSE SR, PANNEERSELVAN L, VENKATESWARLU K, MEGHARAJ M. Potential of acid-tolerant microalgae, *Desmodesmus* sp. MAS1 and *Heterochlorella* sp. MAS3, in heavy metal removal and biodiesel production at acidic pH[J]. Bioresource Technology, 2019, 278: 9-16.
- [38] GARCÍA de LLASERA MP, LEÓN SANTIAGO M, LOERA FLORES EJ, BERNAL TORIS DN, COVARRUBIAS HERRERA MR. Mini-bioreactors

with immobilized microalgae for the removal of benzo(a)anthracene and benzo(a)pyrene from water[J]. Ecological Engineering, 2018, 121: 89-98.

- [39] LUO LJ, WANG P, LIN L, LUAN TG, KE L, TAM NFY. Removal and transformation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water by live and dead microalgae[J]. Process Biochemistry, 2014, 49(10): 1723-1732.
- [40] CHÁVEZ-GÓMEZ В, QUINTERO R. F, MESTA-HOWARD ESPARZA-GARCÍA AM, ZAVALA DíAZ deLa SERNA FJ, HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ CH. GILLÉN Τ. POGGI-VARALDO HM, BARRERA-CORTÉS J, RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ R. Removal of phenanthrene from soil by co-cultures of bacteria and fungi pregrown on sugarcane bagasse pith[J]. Bioresource Technology, 2003, 89(2): 177-183.
- [41] HARRY-ASOBARA JL, KAMEI I. Growth management of white-rot fungus *Phlebia brevispora* improved degradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. 3 Biotech, 2019, 9(11): 403.
- [42] SU D, LI PJ, FRANK S, XIONG XZ. Biodegradation of benzo[a]pyrene in soil by *Mucor* sp. SF06 and *Bacillus* sp. SB02 co-immobilized on vermiculite[J]. Journal of Environmental Sciences (China), 2006, 18(6): 1204-1209.
- [43] MACHÍN-RAMÍREZ C, MORALES D, MARTÍNEZ-MORALES F, OKOH AI, TREJO-HERNÁNDEZ MR. Benzo[a]pyrene removal by axenic- and co-cultures of some bacterial and fungal strains[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2010, 64(7): 538-544.
- [44] KAMYABI A, NOURI H, MOGHIMI H. Characterization of pyrene degradation and metabolite identification by *Basidioascus persicus* and mineralization enhancement with bacterial-yeast co-culture[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 163: 471-477.
- [45] SUBASHCHANDRABOSE SR, VENKATESWARLU K, VENKIDUSAMY K, PALANISAMI T, NAIDU R, MEGHARAJ M. Bioremediation of soil long-term contaminated with PAHs by algal-bacterial synergy of *Chlorella* sp. MM3 and *Rhodococcus wratislaviensis* strain 9 in slurry phase[J]. Science of the Total Environment, 2019, 659: 724-731.
- [46] MORALES P, CÁCERES M, SCOTT F, DÍAZ-ROBLES L, AROCA G, VERGARA-FERNÁNDEZ A. Biodegradation of benzo[α]pyrene, toluene, and formaldehyde from the gas phase by a consortium of *Rhodococcus erythropolis* and *Fusarium solani*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(17): 6765-6777.
- [47] TANG X, HE LY, TAO XQ, DANG Z, GUO CL, LU GN, YI XY. Construction of an artificial microalgal-bacterial consortium that efficiently degrades crude oil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 181(1/2/3): 1158-1162.
- [48] SAKSHI, SINGH SK, HARITASH AK. Polycyclic aromatic hydrocarbons: soil pollution and remediation[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2019, 16(10): 6489-6512.
- [49] BOKADE P, BAJAJ A. Molecular advances in

mycoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: exploring fungal bacterial interactions[J]. Journal of Basic Microbiology, 2023, 63(3/4): 239-256.

- [50] RUTLEDGE PJ, CHALLIS GL. Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(8): 509-523.
- [51] ESPINOSA-ORTIZ EJ, RENE ER, GERLACH R. Potential use of fungal-bacterial co-cultures for the removal of organic pollutants[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2022, 42(3): 361-383.
- [52] FURUNO S, FOSS S, WILD E, JONES KC, SEMPLE KT, HARMS H, WICK LY. Mycelia promote active transport and spatial dispersion of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(10): 5463-5470.
- [53] FREY-KLETT P, BURLINSON P, DEVEAU A, BARRET M, TARKKA M, SARNIGUET A. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, 75(4): 583-609.
- [54] SIVAKUMAR G, XU JF, THOMPSON RW, YANG Y, RANDOL-SMITH P, WEATHERS PJ. Integrated green algal technology for bioremediation and biofuel[J]. Bioresource Technology, 2012, 107: 1-9.
- [55] LEONG WH, AZELLA ZAINE SN, HO YC, UEMURA Y, LAM MK, KHOO KS, KIATKITTIPONG W, CHENG CK, SHOW PL, LIM JW. Impact of various microalgal-bacterial populations on municipal wastewater bioremediation and its energy feasibility for lipid-based biofuel production[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 249: 109384.
- [56] LI XJ, CAI FS, LUAN TG, LIN L, CHEN BW. Pyrene metabolites by bacterium enhancing cell division of green alga *Selenastrum capricornutum*[J]. Science of the Total Environment, 2019, 689: 287-294.
- [57] PATEL JG, NIRMAL KUMAR JI, KUMAR RN, KHAN SR. Enhancement of pyrene degradation efficacy of *Synechocystis* sp., by construction of an artificial microalgal-bacterial consortium[J]. Cogent Chemistry, 2015, 1(1): 1064193.
- [58] MISHRA S, ZHANG WP, LIN ZQ, PANG SM, HUANG YH, BHATT P, CHEN SH. Carbofuran toxicity and its microbial degradation in contaminated environments[J]. Chemosphere, 2020, 259: 127419.
- [59] VARNER PM, ALLEMANN MN, MICHENER JK, GUNSCH CK. The effect of bacterial growth strategies on plasmid transfer and naphthalene degradation for bioremediation[J]. Environmental Technology & Innovation, 2022, 28: 102910.
- [60] KE ZJ, ZHU Q, GAO SY, ZHANG ML, JIANG ML, REN YJ, LIU YL, ZHOU YD, QIU JG, HONG Q. Two LysR family transcriptional regulators, McbH and McbN, activate the operons responsible for the midstream and downstream pathways, respectively, of carbaryl degradation in *Pseudomonas* sp. strain XWY-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(4): e0206021.
- [61] VANDERA E, SAMIOTAKI M, PARAPOULI M, PANAYOTOU G, KOUKKOU AI. Comparative proteomic analysis of *Arthrobacter phenanthrenivorans*

Sphe3 on phenanthrene, phthalate and glucose[J]. Journal of Proteomics, 2015, 113: 73-89.

- [62] SAKSHI, HARITASH AK. A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation[J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(8): 2033-2058.
- [63] FOGHT J. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: pathways and prospects[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2008, 15(2/3): 93-120.
- [64] CARMONA M, ZAMARRO MT, BLÁZQUEZ B, DURANTE-RODRÍGUEZ G, JUÁREZ JF, VALDERRAMA JA, BARRAGÁN MJL, GARCÍA JL, DÍAZ E. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: a genetic and genomic view[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2009, 73(1): 71-133.
- [65] HADIBARATA T, KRISTANTI RA. Fate and cometabolic degradation of benzo[a]pyrene by white-rot fungus Armillaria sp. F022[J]. Bioresource Technology, 2012, 107: 314-318.
- [66] GUPTA S, PATHAK B. Mycoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons[M]//Abatement of Environmental Pollutants. Amsterdam: Elsevier, 2020: 127-149.
- [67] SAITO A, IWABUCHI T, HARAYAMA S. A novel phenanthrene dioxygenase from *Nocardioides* sp. strain KP7: expression in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(8): 2134-2141.
- [68] MARDANI G, MAHVI AH, HASHEMZADEH-CHALESHTORI M, NASERI S, DEHGHANI MH, GHASEMI-DEHKORDI P. Application of genetically engineered dioxygenase producing *Pseudomonas putida* on decomposition of oil from spiked soil[J]. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 2017, 12(3): e64313.
- [69] MAXEL S, KING E, ZHANG YL, LUO R, LI H. Leveraging oxidative stress to regulate redox balance-based, *in vivo* growth selections for oxygenase engineering[J]. ACS Synthetic Biology, 2020, 9(11): 3124-3133.
- [70] LIU YQ, TU XH, XU Q, BAI CX, KONG CX, LIU Q, YU JH, PENG QQ, ZHOU XS, ZHANG YX, CAI MH. Engineered monoculture and co-culture of methylotrophic yeast for *de novo* production of monacolin J and lovastatin from methanol[J]. Metabolic Engineering, 2018, 45: 189-199.
- [71] YAN DZ, MAO LQ, LI CZ, LIU J. Biodegradation of hexachlorobenzene by a constructed microbial consortium[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(2): 371-377.
- [72] JIA XQ, HE Y, JIANG DW, LIU C, LU WY. Construction and analysis of an engineered *Escherichia coli-Pseudomonas aeruginosa* co-culture consortium for phenanthrene bioremoval[J]. Biochemical Engineering Journal, 2019, 148: 214-223.
- [73] ZHANG GB, YANG XH, ZHAO ZH, XU T, JIA XQ. Artificial consortium of three *E. coli* BL21 strains with synergistic functional modules for complete phenanthrene degradation[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(1): 162-175.
- [74] UKIWE LN, EGEREONU UU, NJOKU PC, NWOKO CIA, ALLINOR JI. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation techniques: a review[J]. International Journal of Chemistry, 2013, 5 (4): 43-55.

- [75] SOTIROVA AV, SPASOVA DI, GALABOVA DN, KARPENKO E, SHULGA A. Rhamnolipid-biosurfactant permeabilizing effects on Gram-positive and Gram-negative bacterial strains[J]. Current Microbiology, 2008, 56(6): 639-644.
- [76] IBRAR M, ZHANG HJ. Construction of a hydrocarbon-degrading consortium and characterization of two new lipopeptides biosurfactants[J]. Science of the Total Environment, 2020, 714: 136400.
- [77] QIN RL, XU T, JIA XQ. Engineering *Pseudomonas putida* to produce rhamnolipid biosurfactants for promoting phenanthrene biodegradation by a two-species microbial consortium[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e0091022.
- [78] PANT G, GARLAPATI D, AGRAWAL U, PRASUNA RG, MATHIMANI T, PUGAZHENDHI A. Biological approaches practised using genetically engineered microbes for a sustainable environment: a review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 405: 124631.
- [79] KAUR R, GUPTA S, TRIPATHI V, CHAUHAN A, PARASHAR D, SHANKAR P, KASHYAP V. Microbiome based approaches for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a current perception[J]. Chemosphere, 2023, 341: 139951.
- [80] GARCIA ACFS, ARAÚJO BR, BIROLLI WG, MARQUES CG, DINIZ LEC, BARBOSA AM Jr, PORTO ALM, ROMÃO LPC. Fluoranthene biodegradation by Serratia sp. AC-11 immobilized into chitosan beads[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2019, 188(4): 1168-1184.
- [81] WANG A, FU WX, FENG Y, LIU ZM, SONG DH. Synergetic effects of microbial-phytoremediation reshape microbial communities and improve degradation of petroleum contaminants[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 429: 128396.
- [82] CHEN K, ZHU Q, QIAN YG, SONG Y, YAO J, CHOI MMF. Microcalorimetric investigation of the effect of non-ionic surfactant on biodegradation of pyrene by PAH-degrading bacteria *Burkholderia cepacia*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 98: 361-367.
- [83] ALESSANDRELLO MJ, JUÁREZ TOMÁS MS, ISAAC P, VULLO DL, FERRERO MA. PAH removal by immobilized bacterial cells-support systems using low-cost culture media for biomass production[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 120: 6-14.
- [84] LI J, CHEN WX, ZHOU W, WANG Y, DENG MC, ZHOU SQ. Synergistic degradation of pyrene by *Pseudomonas aeruginosa* PA06 and *Achromobacter* sp. AC15 with sodium citrate as the co-metabolic carbon source[J]. Ecotoxicology, 2021, 30(7): 1487-1498.
- [85] GU DC, XIANG XJ, WU YC, ZENG J, LIN XG. Synergy between fungi and bacteria promotes polycyclic aromatic hydrocarbon cometabolism in lignin-amended soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 425: 127958.
- [86] ALWADANI N, FATEHI P. Synthetic and lignin-based surfactants: challenges and opportunities[J]. Carbon Resources Conversion, 2018, 1(2): 126-138.
- [87] OMONI VT, IBETO CN, LAG-BROTONS AJ, BANKOLE PO, SEMPLE KT. Impact of

圖: 010-64807509

lignocellulosic waste-immobilised white-rot fungi on enhancing the development of 14C-phenanthrene catabolism in soil[J]. Science of the Total Environment, 2022, 811: 152243.

- [88] GONG YZ, NIU QY, LIU YG, DONG J, XIA MM. Development of multifarious carrier materials and impact conditions of immobilised microbial technology for environmental remediation: a review[J]. Environmental Pollution, 2022, 314: 120232.
- [89] DASH M, CHIELLINI F, OTTENBRITE RM, CHIELLINI E. Chitosan: a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications[J]. Progress in Polymer Science, 2011, 36(8): 981-1014.
- [90] LIU TZ, ZHANG Z, DONG WY, WU XJ, WANG HJ. Bioremediation of PAHs contaminated river sediment by an integrated approach with sequential injection of co-substrate and electron acceptor: lab-scale study[J]. Environmental Pollution, 2017, 230: 413-421.
- [91] ZHU QH, WU YC, ZENG J, ZHANG TL, LIN XG. Influence of organic amendments used for benz[a]anthracene remediation in a farmland soil: pollutant distribution and bacterial changes[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20(1): 32-41.
- [92] BENJAMIN SR, de LIMA F, RATHOURE AK. Genetically Engineered Microorganisms for Bioremediation Processes: GEMs for Bioremediation[M]// Toxicity and Waste Management Using Bioremediation.

Dhatwalia: IGI Global, 2016: 113-140.

- [93] GUARINO C, ZUZOLO D, MARZIANO M, CONTE B, BAIAMONTE G, MORRA L, BENOTTI D, GRESIA D, STACUL ER, CICCHELLA D, SCIARRILLO R. Investigation and assessment for an effective approach to the reclamation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) contaminated site: SIN Bagnoli, Italy[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 11522.
- [94] GONG T, LIÙ RH, ZUO ZQ, CHE Y, YU HL, SONG CJ, YANG C. Metabolic engineering of *Pseudomonas putida* KT2440 for complete mineralization of methyl parathion and γ-hexachlorocyclohexane[J]. ACS Synthetic Biology, 2016, 5(5): 434-442.
- [95] CHAN CTY, LEE JW, CAMERON DE, BASHOR CJ, COLLINS JJ. 'Deadman' and 'Passcode' microbial kill switches for bacterial containment[J]. Nature Chemical Biology, 2016, 12(2): 82-86.
- [96] XUE YB, DU P, IBRAHIM SHENDI AA, YU B. Mercury bioremediation in aquatic environment by genetically modified bacteria with self-controlled biosecurity circuit[J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 337: 130524.
- [97] LIU H, ZHANG LG, WANG WW, HU HY, OUYANG XY, XU P, TANG HZ. An intelligent synthetic bacterium for chronological toxicant detection, biodegradation, and its subsequent suicide[J]. Advanced Science, 2023, 10(31): e2304318.