

嗜盐微生物在环境修复中的研究进展*

赵百锁 王慧** 毛心慰

(清华大学环境科学与工程系 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室 北京 100084)

摘要 人类活动产生的污染物,使一些天然盐环境遭受不同程度的污染,或者使环境受到污染物与高盐的双重污染。在高盐条件下,非嗜盐微生物的代谢会受到抑制,其生物修复效率明显降低,甚至丧失修复能力。嗜盐微生物则能够在高盐环境中栖息繁殖,凸显其修复被污染高盐环境的生物学效率和广阔的应用前景。就嗜盐微生物降解石油烃、芳香烃衍生物和有机磷等污染物的研究进展进行了综述和讨论。

关键词 高盐环境,嗜盐微生物,生物修复

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)06-1209-04

The Recent Advances in Halophilic Microorganisms for Environmental Bioremediation*

ZHAO Bai-Suo WANG Hui** MAO Xin-Wei

(State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract As a result of various anthropogenic activities, natural saline environment polluted by contaminants and the environment polluted by both contaminants and salts frequently occur. In these saline environments, non-halophilic microorganisms have ineffective bioremediation, even lose the function of bioremediation. Halophilic microorganisms are able to thrive in high salt conditions. It is obvious that the halophilic degraders are more useful for the bioremediation of contaminated saline environments and may be potentially used in a wide of application. The objective of this review is to summarize the research progresses of halophiles in the biodegradation of petroleum hydrocarbons, aromatic hydrocarbon ramifications, and organophosphorous.

Key words Halophilic microorganisms, Hypersaline environments, Bioremediation

人类活动产生的污染物,使一些天然盐环境遭受不同程度的污染,或者使环境受到污染物与高盐的双重污染。例如,由于事故、泄露和排放等,每年数亿加仑石油及其工业废水(盐度 $>3.5\%$ W/V)污染江口、海滩和炼油厂附近等盐度较高的地区^[1,2]。生产杀虫剂和除草剂的制药厂等释放的工业废水,也含较高浓度的盐和有毒的污染物^[3,4]。此外,为提高生物修复效率而添加的氮和磷等营养盐,使得环境中的盐度升高^[1]。利用微生物降解环境中的污染物具有成本低、效率高、以及不易造成二次污染等优点,所以一直受到广泛关注。在高盐条件下,微生物既要忍受长期的高渗透压胁迫,又要承受短期的渗透冲击。当盐度 $>3\%$ 时,非嗜盐微生物的代谢会受到抑制,使其生物修复效率明显降低,甚至丧失修复

能力。盐度从 0.5% 升高至 2% 时,也会严重扰乱非嗜盐微生物的代谢活动。因此,传统的非嗜盐微生物并不适合对污染的高盐环境进行生物修复^[5,6]。

嗜盐微生物属于极端微生物范畴,主要包括嗜盐古菌和嗜盐细菌。在分类学上,嗜盐古菌主要属于盐杆菌科,嗜盐细菌则广泛分布于细菌域的多个分枝^[3]。由于嗜盐微生物能够在高盐环境中栖息繁殖,因此,利用嗜盐微生物修复污染的天然盐环境或处理排放的高盐度有机污染物废水,不需要通过稀释、反渗透、离子交换、或者电渗透等方法降低待处理样品的盐度,具有操作简单和成本低廉等诸多优点^[1,3,7]。所以,嗜盐微生物的环境修复机理与技术具有重要的理论研究价值和广阔的应用前景。

* 国家“973”计划项目(No. 2004 CB418506)国家自然科学基金项目(No. 30700023),中国博士后科学基金项目(No. 20060400069)。

** 通讯作者 Tel: 010-62772137, E-mail: wanghui@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期:2006-11-23,修回日期:2007-06-01

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

1 嗜盐微生物对石油烃的降解

嗜盐微生物能够降解盐环境中的石油烃污染物。1992年,Kulichevskaya等首次从石油盐矿中分离得到1株被归类于盐杆菌属(*Halobacterium*)的极端嗜盐古菌。研究发现,在30% NaCl条件下,该菌仍然能够降解 $C_{10} \sim C_{30}$ 直链烷烃^[8]。中度嗜盐菌也可以降解十六烷、苯甲酸酯和芳烃类等^[3]。最近,Kleinstauber等以柴油为碳源,在15%~20% NaCl条件下,进行富集培养,获得了一些能够降解石油烃,分类学上属于盐单胞菌属(*Halomonas*)柄杆菌属(*Caulobacter*)和食碱菌属(*Alcanivorax*)的嗜盐微生物^[7]。Nicholson和Fathepure从俄克拉荷马州石油区盐土中,得到了以海杆菌(*Marinobacter*)为主的嗜盐微生物菌群。研究表明,在15% NaCl条件下,以苯为唯一碳源和能源,经4周培养,约46%的苯被完全转化为 CO_2 。当加入0.02%的酵母粉时,在3%~15% NaCl条件下,该菌群15d就能够全部降解苯。此外,该菌群还能降解甲苯、乙苯和二甲苯^[9]。此外,有报道未污染的高盐环境中存在降解苯、甲苯、乙苯和二甲苯等污染物的嗜盐微生物^[10]。由于石油中的多环芳烃(PAHs)属于难降解污染物,所以一直成为国内外的研究热点。然而,关于盐环境中PAHs污染物降解的文献报道还很少。Plotikova等^[11]分离得到15株被归类于红球菌属(*Rhodococcus*)节杆菌属(*Arthrobacter*)芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)的中度耐盐微生物。在5.8% NaCl条件下,这些菌株都能够以萘为唯一碳源和能源进行生长。其中4株假单胞菌(SN11、SN21、SN101和G51)、红球菌G10和节杆菌SN17均携带约85 Kb质粒。以假单胞菌SN11为供体菌株和恶臭假单胞菌BS394为受体菌株进行结合转座,获得的恶臭假单胞菌394-SN11-TC1和恶臭假单胞菌394-SN11-TC2两株结合菌不但能降解萘和菲,而且提高了其耐盐能力。由于石油中烃成份十分复杂,所以需要富集筛选能降解多种石油烃的嗜盐微生物菌株或菌群,以便能对突发性石油烃污染的海平面、海岸线和天然盐环境等进行快速、高效的微生物修复。

2 嗜盐微生物对芳香烃衍生物的降解

目前,有关嗜盐微生物对高盐环境中酚类物质

降解的研究报道不断增多。一个由嗜盐微生物组成的生物膜反应器,在15% NaCl条件下,酚以0.1g/L~0.13g/L速率流入和0.1mg/L速率流出时,能去除大约99%的酚。在5%、10%和15% NaCl条件下,该反应器去除酚类物质的效率均能维持在113mg($m^2 \cdot h$)~130mg($m^2 \cdot h$)之间^[5]。这表明,在不同盐度条件下,包含嗜盐微生物的酚处理系统均能保持相对恒稳的状态。另外,一些嗜盐微生物对酚类物质的裂解方式相继被报道。Alva和Peyton发现,在pH 8~11、0~15% NaCl条件下,中度嗜盐菌*Halomonas campisalis*通过 β -keto adipate代谢途径,生成儿茶酚、粘康酸盐和粘康酸内酯等代谢产物^[12]。Oie等发现该菌以邻位裂解方式降解苯甲酸钠和邻羟基苯甲酸^[13]。García等发现,中度嗜盐菌*Halomonas organivorans* G-16.1菌株适宜生长盐度为7.5%~10%,也通过 β -keto adipate代谢途径来降解酚。此外,该菌还能降解苯甲酸、邻羟基苯甲酸、丙烯酸、苯乙酸和苯基丙酸等污染物。通过设计兼并引物,以G-16.1菌株的总DNA为模板进行PCR扩增,分别获得了邻苯二酚1,2-双加氧酶基因和原儿茶酸3,4-双加氧酶基因^[14,15]。我国科学家从处理苯乙酸的活性污泥中,以苯乙酸为唯一碳源和能源,分离得到1株盐单胞菌BYS1。该菌降解苯乙酸的最适盐度为5.8%,在20h内,对浓度为1g/L苯乙酸的降解率在95%以上^[16]。

由于氯化化合物具有持久毒性,所以一直受到科学家们的关注。目前,一株能降解氯化化合物的嗜盐甲基微菌(*Methylomicrobium*)已经被申请专利。在2%~6%盐度下,该菌能够氧化三氯乙烯^[7]。一株适宜生长条件为pH 9~9.4、1%~2.4% NaCl的轻度嗜盐的诺卡氏菌(*Nocardioideis*)能够以2,4-二氯酚、2,4,5-三氯酚、2,4,6-三氯酚等为唯一的碳源和能源进行生长^[17]。而盐单胞菌I-18菌株具有高活性的儿茶酚过氧化酶、粘康酸环异构酶和二烯内脂水解酶。该菌株适宜生长盐度为3.6%~6%,以2,4-二氯苯氧乙酸为底物,每天每升能够降解3g 2,4-二氯苯氧乙酸。在6%盐度条件下,该菌还能降解苯甲酸、3-氯苯甲酸和4-氯苯甲酸^[5]。另外,能降解氯化化合物的嗜盐古菌也被发现。例如,一些存在于嗜盐小盒菌属(*Haloarcula*)盐杆菌属(*Halobacterium*)和富盐菌属(*Haloferax*)中的菌株就

能够降解六氯苯和双对氯苯基三氯乙烷等氯代物^[18]。

3 嗜盐微生物对有机磷污染物的降解

在高盐环境中,一些有毒的、有机磷化合物能被嗜盐微生物分解。Hayes 等从北爱尔兰土壤中分离得到一株能降解有机磷、在系统发育上最接近于死海色盐杆菌(*Chromohalobacter marismortui*)的嗜盐菌。该菌生长盐度范围为 2.5% ~ 25%,最适生长盐度为 10%,能利用磷酸乙酸盐、2-氨基、3-氨基和 4-氨基磷酸盐等作为磷源^[19]。由嗜盐微生物产生的有机磷酸脱水酶在甲氟磷酸异丙酯曼、甲氟磷酸异己酯等化学毒剂的生物降解中也具有潜在的应用价值。从犹他州盐湖中分离的嗜盐交替单胞菌(*Alteromonas*)JD6.5 菌株具有高活性的有机磷酸脱水酶。以双异丙基氟磷酸盐为底物,该酶在 pH 8.5、50℃条件下活性最高。目前,该酶制剂已经被申请专利,用来净化盐环境中的有机磷化学毒剂^[3,20]。

4 嗜盐微生物对重金属污染物的转化

一些嗜盐微生物表现出了惊人的耐重金属能力,很多属于中度嗜盐的盐单胞菌都能耐受高浓度的汞、镉、铜、铬和锌等重金属。其中,一些菌株还能在多种较高浓度的重金属存在的环境中生长繁殖^[3],例如,在被硒污染的加利福尼亚圣华金河谷盐池中,很多盐单胞菌能耐受高达 2 mol/L 硒和 32.5% 的 NaCl,这些嗜盐微生物不仅能积累硒,而且能把硒转化为易挥发的、无毒的二甲基硒化物^[21]。此外,一株来源于新墨西哥州废弃实验工厂,具有反硝化能力的盐单胞菌可以把非水溶的 $UO_2(OH)_2$ 和 $K(UO_2)_3(PO_4)_3(OH)_2 \cdot nH_2O$ 转化为可溶的 $[UO_2(CO_3)]^-$ 化合物^[22]。因此,能抵抗高盐度和重金属离子的嗜盐微生物可用于硒、砷和铀等矿厂废水污染的环境修复。

5 嗜盐微生物对高盐有机废水中 COD 的去除

Kubo 等建立了一个在 15% 盐度条件下仍然能去除活性污泥中 70% ~ 90% 的 COD 微生物处理系统,并从该系统中分离得到 1 株葡萄球菌

(*Staphylococcus*)和 1 株蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)^[23]。Kargi 和 Uygur 研究发现,中度嗜盐菌在 4% 以上的盐度条件下去除 COD 的效率较高,而耐盐微生物在 1% ~ 2% 盐度条件下去除 COD 的效率较高^[24]。由于中度嗜盐菌不仅能处理高盐度和高浓度 COD 形成的高渗透压有机废液,还能处理处于渗透压波动很大的有机废液,所以利用中度嗜盐菌去除高盐度工业废水中的 COD 技术有良好的应用前景。

污染物的降解既能在好氧条件下进行,也能在厌氧条件下进行,这是由于许多嗜盐微生物能够利用硝酸盐和硫酸盐等作为电子受体。但是,关于厌氧条件下污染物降解的文献报道还比较少。最近, Sorokin 等从盐湖淤泥中,以硝酸盐和硫氰酸盐为电子受体,在 12% 盐度和厌氧条件下,富集得到属于 γ -变形菌门的嗜盐微生物菌群。从该集群中分离了 1 株化能自养的中度嗜盐菌 *Thiohalophilus thiocyanoxidans*, 该菌株在 12% ~ 24% 盐度条件下,通过羧基硫途径对硫氰酸盐进行降解^[25]。此外,在 12.5% 盐度下, *Halomonas campisalis* 菌株能够通过脱氮作用降解硝酸盐^[26]。

6 结束语

目前,一般对嗜盐微生物在盐环境中生物修复功能的研究集中于嗜盐微生物菌株(或菌群)的分离和污染物降解过程。由于被污染环境中的盐度和污染物种类以及污染程度不一,所以需要挖掘更多的可降解污染物的嗜盐微生物资源。此外,由于缺乏对嗜盐微生物遗传背景的了解,加之缺乏有效的遗传转化技术,为研究嗜盐微生物的生物修复机制带来困难。同时,探索存在于污染物和盐双重胁迫下的生命现象也具有重要的理论意义和潜在的应用价值。

参考文献

- [1] Diaz M P, Boyd K G, Grigon S J, et al. *Biotechnol Bioeng.* 2002, **79**: 145 ~ 153.
- [2] Kleinstaub S R, Fetzer V, Harns I, et al. *Appl Environ Microbiol.* 2006, **72**: 3531 ~ 3542.
- [3] Oren A. *Halophilic Microorganisms and Their Environments.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002, pp. 368 ~ 369.
- [4] 任培根, 周培瑾. *微生物学报.* 2003, **43**(3): 427 ~ 430.

- 663.
- [6] Asad S ,Amoozegar M A ,Pourbabaee A A ,*et al.* *Bioresour Technol.* 2006 ,doi :10.1016/j.biortech.2006.08.020.
- [7] Margesin R ,Schinner F. *Extremophiles* 2001 **5** : 73 ~ 83.
- [8] Kulichevskaya I S ,Milekhina E I ,Borzenkov I A ,*et al.* *Microbiology* , 1992 **60** : 596 ~ 601.
- [9] Nicholson C A ,Fathepure B Z. *Appl Environ Microbiol* ,2004 **70** : 1222 ~ 1225.
- [10] Nicholson C A ,Fathepure B Z. *FEMS Microbiol Lett* 2005 **245** : 257 ~ 262.
- [11] Plotnikova E G ,Alyntseva O V ,Kosheleva I A ,*et al.* *Microbiology* , 2001 **70**(1) : 51 ~ 58.
- [12] Alva V A ,Peyton B M. *Environ Sci Technol* ,2003 **37**(19) : 4397 ~ 4402.
- [13] Oie C S ,Albaugh C E ,Peyton B M. *Water Res* 2007 **41**(6) : 1235 ~ 1242.
- [14] García M T ,Mellado E ,Ostos J C ,*et al.* *Int J Syst Evol Microbiol* , 2004 **54** : 1723 ~ 1728.
- [15] García M T ,Ventosa A ,E Mellado. *FEMS Microbiol Ecol* ,2005 **54** (1) : 97 ~ 109.
- [16] 洪青,何健,刘智,等. *南京农业大学学报* ,2003 **26**(2) : 55 ~ 58.
- [17] Maltseva O ,Oriol P. *Appl Environ Microbiol* ,1997 **63** : 4145 ~ 4149.
- [18] Joo W A ,Kim C W. *J Chromatogr B Anlyt Technol Biomed Life Sci* , 2005 **815** : 237 ~ 250.
- [19] Hayes V E A ,Ternan N G. *FEMS Microbiol Lett* ,2000 **186** : 171 ~ 175.
- [20] Cheng T C ,Defrank J J. *Enzymatic detoxification of organophosphorus compounds*. Patent US6080566. 2000 June 27.
- [21] Souza M P ,Amini A ,Dojka M A ,*et al.* *Appl Environ Microbiol* 2001 , **67**(9) 3785 ~ 3794.
- [22] Francis A J ,Dodge C J ,Gillow J B ,*et al.* *Environ Sci Technol* 2000 , **34**(11) : 2311 ~ 2317.
- [23] Kubo M ,Hiroe J ,Murakami M ,*et al.* *J Biosci Bioeng* 2001 **91**(2) : 222 ~ 224.
- [24] Kargi F ,Uygun A. *Environ Technol* ,1996 **17** : 325 ~ 330.
- [25] Sorokin D Y ,Tourova T P ,Bezoudnova E Y ,*et al.* 2006 ,doi :10.1007/s00203-006-0208-3
- [26] Peyton ,BM ,Mormile M R ,Petersen J N. *Water Res* ,2001 **35**(17) : 4237 ~ 4242.