

低温微生物修复石油烃类污染土壤研究进展*

王世杰^{1,2} 王翔¹ 卢桂兰² 汪群慧¹ 李发生² 郭观林^{2**}

(¹北京科技大学土木与环境工程学院,北京 100083; ²中国环境科学研究院土壤污染与控制研究室,北京 100012)

摘要 耐冷菌、嗜冷菌等低温微生物广泛存在于极地、高山以及高纬度等土壤环境中,是石油烃类污染物在低温条件下降解与转化的重要微生物资源.利用低温微生物的独特优势,石油污染土壤的低温生物修复技术的研究成为当前热点领域.本文系统综述了低温石油烃降解菌的分类及冷适机制,低温微生物对不同类型石油烃组分的降解特征和降解机理,低温环境中接种降解菌、添加营养物质和表面活性剂等强化技术在石油污染土壤中生物修复的应用,以及微生物分子生物学技术在低温微生物降解石油烃的研究现状,为拓展我国石油污染土壤生物修复技术提供参考.

关键词 土壤 低温微生物 石油烃污染 生物降解 生物修复

文章编号 1001-9332(2011)04-1082-07 **中图分类号** X52; X53 **文献标识码** A

Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils by cold-adapted microorganisms: Research advance. WANG Shi-jie^{1,2}, WANG Xiang¹, LU Gui-lan², WANG Qun-hui¹, LI Fa-sheng², GUO Guan-lin² (¹*Civil and Environmental Engineering Scholl, University of Science and Technology Beijing 100083, China*; ²*Department of Soil Pollution Control, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2011, **22**(2): 1082-1088.

Abstract: Cold-adapted microorganisms such as psychrotrophs and psychrophiles widely exist in the soils of sub-Arctic, Arctic, Antarctic, alpine, and high mountains, being the important microbial resources for the biodegradation of petroleum hydrocarbons at low temperature. Using the unique advantage of cold-adapted microorganisms to the bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils in low temperature region has become a research hotspot. This paper summarized the category and cold-adaptation mechanisms of the microorganisms able to degrade petroleum hydrocarbon at low temperature, biodegradation characteristics and mechanisms of different petroleum fractions under the action of cold-adapted microorganisms, bio-stimulation techniques for improving biodegradation efficiency, *e. g.*, inoculating petroleum-degrading microorganisms and adding nutrients or bio-surfactants, and the present status of applying molecular biotechnology in this research field, aimed to provide references to the development of bioremediation techniques for petroleum hydrocarbon-contaminated soils.

Key words: soil; cold-adapted microorganism; petroleum hydrocarbon contamination; biodegradation; bioremediation.

油轮泄漏、石油加工企业排污、输油管道破裂等石油烃类污染问题日益严峻,如何安全有效地对石油污染的水、土壤环境进行修复,降低生态风险,逐渐成为关注焦点.生物修复(bioremediation)是指利用生物特别是微生物的代谢潜能消除或减少污染地区有害物质浓度的技术.生物修复具有成本低、效果

好、对环境负面影响小、无二次污染等优点,越来越多地被应用于土壤和水体的石油污染修复治理.

在影响生物修复石油烃类污染土壤的诸多因素中,温度是限制石油烃类污染物的生物降解速率以及效率的重要因素之一.由于自然界中低温环境分布广泛,80%以上生物圈为常年低于5℃的永久低温地区,因而从北极、高山、南极的土壤,以及阿拉斯加的地下水、南极海水和海冰等低温环境获取石油烃降解微生物逐渐成为研究热点^[1-3].

* 国际科技合作项目(2008DFR90550)和全国土壤调查及污染防治专项(5120801)资助.

** 通讯作者. E-mail: guogl@cares.org.cn

2010-09-17 收稿,2011-01-20 接受.

1 低温石油降解菌的分类及冷适机制

低温微生物是指在极端低温环境下能够生长的微生物,主要分为两类:一类是必须生活在低温条件下,即在 0 °C 下生长繁殖,最适温度不超过 15 °C,最高温度不超过 20 °C 的微生物,称为嗜冷菌(psychrophiles)^[3];另一类是能在低温条件下生长,在 0 °C ~ 5 °C 可生长繁殖,最高生长温度可达 20 °C 的微生物,称之为耐冷菌(psychrotrophs)^[3]. 研究表明,嗜冷菌、耐冷菌广泛分布在冰、雪、水、土壤及岩石等低温环境,主要包括真细菌、蓝细菌、酵母菌、真菌、放线菌及藻类^[4],其中细菌的种类和数量最多,其次是酵母菌和丝状真菌^[5-6]. 根据微生物生理生化以及分子生物学特性分类,低温石油降解菌主要包括诺卡氏菌属(*Nocardia*)^[7]、假单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)和科尔韦氏菌属(*Colwellia*)^[8]、球状节杆菌属(*Arthrobacter globiformis*)^[9]、恶臭假单胞菌属(*Pseudomonas putida*)^[10]、沙门氏菌属(*Salmonella*)^[11]、变形菌门(Proteobacteria)及海洋杆菌属(*Marinobacter*)^[12]、红球菌属(*Rhodococcus*)^[13]、鞘脂单胞菌属及鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)^[7, 14]等;根据降解底物不同,低温石油降解菌可分为直链烃降解菌^[15-17]、芳香烃降解菌^[18-21]以及氯酚类降解菌^[22-23]. Hughes 等^[24]发现南极土壤中真菌具有耐寒和石油降解的特性;王红旗等^[25]采用低温条件,从大港油田的石油污染土壤中筛选出耐低温高效菌株 D17 和 D24,对原油的解率分别为 47.6% 和 39.8%,经鉴定分别为红球菌属(*Rhodococcus*)和盐单胞菌属(*Natronococcus*).

自然界中大多数微生物为中温性微生物,其适宜的生长温度范围为 20 °C ~ 35 °C,温度小于 8 °C 或 10 °C 时微生物对烃类降解活性较低,其有效生物降解温度阈值在 0 °C 左右^[26]. 低温环境对微生物生长以及对污染物代谢的影响主要表现在:1) 温度降低会引起细胞膜流动性、酶催化活性的减弱,物质转运和代谢速率的降低,若温度低于细胞质冰点,还会使细胞形成冰晶体对细胞结构造成严重损坏^[27];2) 微生物通过调整编码代谢功能的基因表达以适应低温环境^[28],例如,低温环境能引起细胞内 tRNAs 修饰的氨基酸过多,导致细胞内相关代谢酶含量减少,影响细胞内扩散速率下降、分子构象改变,对底物吸附能力下降,最终影响生物降解能力^[29-31].

低温微生物对环境的冷适机制与其独特的细胞生理生化性质有关:1) 细胞膜脂类中含有更多不饱

和脂肪酸或短链脂肪酸,使细胞膜的流动性增强,有利于细胞内外的物质交换^[32];2) 冷激蛋白和冷适应蛋白(cold-acclimatization protein)的诱导表达,影响低温蛋白质合成的调节以及特异 mRNA 的翻译,使蛋白质在低温下能保持结构上的完整性和催化功能. 研究者在沙门氏菌和大肠杆菌等微生物体内发现了 *cspA* 冷适基因^[33-34],在低温直链烷烃降解菌诺卡氏菌属体内也发现该基因及其相关蛋白的表达^[15];3) 产生低温酶. 低温微生物能够产生不同类型的同工酶以响应温度的变化,这些低温酶具有特殊的分子适应机制和较高的催化活性,保证了生命活动在低温下能够正常进行^[35].

2 低温微生物对不同石油烃组分降解特征

石油烃组分的生物可降解性除了与微生物种类有关外,还与石油烃的组成、结构及理化性质密切相关. 在低温条件下,石油的一些物理化学性质发生改变:石油粘度增加,碳原子数大于 10 的长链烃呈不溶状或形成固体,短链石油烃蒸发缓慢,石油烃类溶解度和扩散能力显著下降,导致石油烃的生物降解速率显著下降^[36-37]. 此外,不同类型的石油烃类污染物,低温微生物对其降解特性不同. Atlas^[36]证实在 10 °C 条件下,轻质油的生物降解率(50% ~ 60%)比重质油(30% ~ 40%)高,但是低温条件下,轻质油不易挥发,所以轻质油的生物降解延滞期(30 d)比重质油(14 d)长. Michaud 等^[38]从南极海水中分离 2 株降解柴油的耐冷菌,20 °C 时能使 85% 烃类降解,而在 4 °C 时的生物降解率相对较低. Ferguson 等^[39]研究表明,在低温(0 °C、4 °C)环境中接种石油降解微生物,在试验开始阶段有 6 d 的停滞期,其生物降解动力学符合 Trefy-Franzmann 模型.

近年来,国内外学者针对烷烃、芳香烃类石油组分的低温微生物降解的研究取得很大进展. Deppe 等^[40]发现,北极的细菌共生体可以在 4 °C 降解晶体直链 C₂₄、C₃₄ 和萘. Whyte 等^[17]分离了 *Rhodococcus* spQ15 菌株,能在 0 °C 和 5 °C 条件下降解多种短链烷烃及十六烷、二十八烷、三十二烷等长链烃. Churchhill 等^[41]分离到一种能够降解三环、四环芳香烃和脂肪烃类化合物的耐冷分枝杆菌. Mohn 等^[42]研究发现,嗜冷多环芳烃(PAHs)降解菌在 7 °C 下对多环芳烃(PAHs)的去除率为 39%,而高于 20 °C 时去除率为 31%. Farrell 等^[43]也在南极筛选到能够降解甲苯的假单胞细菌. 研究表明,温度对不同结构组成的石油烃生物降解特征无显著影响,低

温与常温环境中一致;碳链较短的烷烃比长链烃容易降解,直链烷烃比支链烷烃容易降解,分子量较大的环烷烃和芳香烃较难被生物降解^[44-45],带有取代基的芳烃较难降解;Yakimov等^[12]证明低温微生物对环烷烃、烷基取代烃、直链烷烃的生物降解率依次增大,Siron等^[26]在对低温海水(-1.8℃~5.5℃)分散原油的降解研究中发现,菲降解的半衰期为1.5~1.7d,二甲基菲为2.4~7.5d.

3 低温微生物降解石油烃类污染物的机理

近年来,低温微生物降解石油烃类污染物的机理研究主要包括以下两方面:1)通过分子生物学手段对微生物降解基因的研究;2)针对不同结构的石油烃类污染,研究其降解途径及降解产物.通过对低温微生物石油烃降解质粒的序列分析,发现了辛烷质粒(OCT质粒)、甲苯-二甲苯质粒(TOL质粒)、萘质粒(NAH质粒)和控制甲苯、对位或间位二甲苯的XYL质粒^[46],由此证明低温微生物降解石油烃的功能基因主要存在于线粒体或质粒上. Whyte等^[47]从南极石油污染土壤中分离一株拥有*alk*代谢途径的耐冷假单胞菌B17,能够降解链烷烃,同时携带降解萘的NAH质粒使其能够降解甲苯和萘.许多研究结果发现,细菌能够通过转化、转导、接合方式,使携带降解基因的质粒在不同细菌间水平转移,尤其是存在于接合质粒上的降解基因向原位细菌群落中的传播具有更大的可能性^[48-49].

研究发现,低温微生物对石油烃类的降解途径与嗜温微生物相似,主要受到石油烃化学组成和结构的影响,通常分为烷烃和芳香烃两类进行研究.烷烃好氧生物降解一般由烷烃羟化酶基因(*alkB*)及其同源体编码的烷烃羟化酶启动,第一步反应通常是烷烃在加氧酶的催化下转化为相应的醇^[50-51].Luz等^[52]发现,南极和巴西土壤中土著微生物的烷烃单加氧酶基因Rh*alkB1*和Rh*alkB2*出现频率最高,而恶臭假单胞菌烷烃单加氧酶基因Pp*alkB*仅出现在南极.微生物降解芳香烃主要有两种方式:一是在酶作用下,直接将分子中环状结构打开,然后进一步分解,其中羟基化双加氧酶对苯环的羟基化,是影响多环芳烃降解的关键步骤;二是由微生物先除去芳香族化合物侧链上的基团,转变为儿茶酚酸或2,5-二羟基苯甲酸后进一步降解. Whyte等^[47]研究表明,萘降解途径通常有质粒编码和染色体编码两种,其降解基因组成3个操纵子,上游操纵子(*nah1*)编码的酶使萘氧化成水杨酸,下游操纵子(*nah2*)编码的

酶催化水杨酸间位裂解转化成TCA循环中间物丙酮酸和乙醛,第3部分编码调控蛋白NahR.上游、下游操纵子受位于中间的*nahR*所编码调控蛋白的正调控,NahR可由水杨酸诱导,并可调控Nah高水平表达.

4 分子生物学技术在低温石油降解微生物研究中的应用

目前,利用分子生物学技术对石油烃降解菌进行生态分析和基因测序,主要技术有:DNA杂交、PCR扩增、指示基因、16S和23S rDNA分子克隆技术、荧光原位杂交技术(FISH)、变性梯度电泳技术(DGGE)、温度梯度电泳技术(TGGE)、微生物呼吸醌分析技术、微电极探测等.针对不同类型的微生物,通过上述技术可以筛选出大量具有抗逆性、高降解能力的基因资源,以及难以降解芳香族化合物及衍生物的部分降解基因.

利用分子生物学技术对低温石油降解菌进行定性鉴定分析,研究微生物种群结构在不同环境中的变化趋势是揭示微生物修复机理的重要内容. Rubertoa和Vazquez^[53]对降解菌的16S rRNA测序以及系统发育树分析,证明在低温条件下,南极土壤土著细菌具有优先降解汽油的能力. Lucas等^[54]从南极土壤中筛选耐冷石油烃降解菌,通过16S rDNA鉴定分析,证明分别属于红球菌属(*Rhodococcus*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*).研究表明,在低温以及石油烃类污染共同胁迫下,土壤中的微生物种群发生变化. Eriksson等^[55]通过RISA分析揭示了低温环境和烃类污染对微生物的选择性,而Gerdes等^[56]通过DGGE和FISH技术研究发现,在1℃的低温石油污染环境微生物多样性显著下降,优势微生物种属为 γ -变形杆菌. Eriksson等^[55]研究还发现,低温环境下石油污染土壤的微生物除了数量、种群结构发生变化外,其石油烃降解生物活性也发生改变,在7℃和-5℃条件下,表征微生物代谢活性的RNA/DNA指标与烃类去除率、CO₂产生量显著相关.此外,应用分子生物学技术筛选石油烃组降解基因和质粒,是污染物微生物降解机理的重要研究内容. Mishra等^[57]将编码荧光酶的Lux基因的质粒导入*Acinetobacter baumannii* S30的石油烃降解微生物中,在-70℃温度条件下保存1年,对原油的生物降解率仍然很高,说明Lux基因重组后的菌株具有较强的低温存活能力和降解活性; Kolenc等^[58]将嗜温菌的质粒通过结合作用转移到耐冷菌中,使其

能够降解甲苯酸酯; Whyte 等^[51] 通过基因克隆分析, 确定两株红球菌中所含的直链烷烃加氧酶基因组, 并确定了其降解机理。

5 低温条件下生物强化技术修复石油污染

土壤中石油类污染物的迁移、转化等环境行为特征与石油密度、挥发性、溶解性和生物可降解性、土壤类型等因素密切相关, 其中影响石油污染土壤生物修复效果的主要因素包括: pH、含水率、温度、营养物、氧气含量、降解石油微生物的种类和数量等。在自然环境下, 依靠自然衰减以及土著微生物降解土壤中石油类污染物的效果较差, 通过生物强化措施能够显著提高石油类污染物的去除率, 达到修复目的。目前常用的生物强化技术包括以下几种:

1) 接种低温石油烃降解菌。土壤中石油烃类污染物的生物降解速率与土壤中微生物种类和数量有关。添加可降解污染物质的外源微生物可强化对污染物质的降解, 有助于达到理想的处理效果。Mohn 等^[42] 通过现场土壤修复试验证实, 添加耐冷混合菌刺激, 极地寒冷地区土壤中超过 80% 的石油烃被降解。

2) 添加营养物质。生物可以利用的营养盐是限制石油烃类污染土壤生物修复效果的重要因素之一。Coulon 等^[45] 研究发现, 通过施加含 N、P 的亲脂性肥料到次南极污染土壤中, 4 °C 和 10 °C 下总石油烃及萘、二苯噻吩、菲、芘的含量显著降低, 石油降解菌丰度显著提高。刘芳明等^[59] 研究发现, 希瓦氏菌 NJ49 生长和降解石油烃最佳条件分别为 pH 7.5, 温度 15 °C, 盐度 6%, 其中硝酸铵为最佳氮源, 磷酸二氢钾和磷酸氢二钾的混合物是最佳磷源。

3) 添加表面活性剂。研究表明, 土壤中石油污染物的固液两相传质过程是生物降解的限速步骤^[60]。Devare 和 Alexander^[61] 研究发现, 污染土壤中石油烃类污染物与土壤矿质、有机质等紧密吸附结合, 或渗入土壤孔隙中, 影响石油烃类污染物以及微生物在土壤中的运移。南极耐冷降解菌 ANT23b 在十六烷上生长时产乳化糖脂表面活性剂^[62-63], 有利于石油烃类从土壤颗粒上解吸附, 增加污染物的溶解度以及与微生物接触的机会, 提高对烃的利用性。Yakimov 等^[64] 从南极罗斯海 (Ross Sea) 分离到 2 株产生物表面活性剂的降解菌, 以烷烃为唯一碳源进行培养时, 能够分泌胞外和胞内海藻糖脂混合物, 将水的表面张力从 72 mN · m⁻¹ 降到 32 mN · m⁻¹, 提高了石油烃的溶解度。Margesin 和 Schinner^[65-66]

对高山柴油污染土壤研究发现, 在温度为 10 °C 时连续培养 32 d, 50 ~ 100 mg L⁻¹ 的十二烷基磺酸钠能够刺激耐冷微生物对柴油的降解, 并且添加无机营养物与接种耐冷微生物能显著提高石油烃降解率。

4) 添加电子受体。土壤、地下水环境中往往是缺氧的, 石油烃能够在厌氧环境下降解, 但是通过添加 O₂、NO₃⁻、SO₄²⁻、Fe³⁺ 等电子受体, 可以加大微生物降解烃类污染物的速度。通常自然界中饱和烃和芳香烃类石油污染物主要通过好氧生物降解, 其生物代谢的第一步是加氧酶对底物的氧化, 每氧化 3.5 g 石油需要消耗 1.4 L 氧气。Paudyn 等^[67] 对北极地区柴油污染土壤进行处理, 通过土耕法增加氧气含量, 经过 3 年修复, 80% 以上的石油烃类污染物被去除。

6 低温微生物修复石油烃类污染应用前景

随着低温环境下土壤石油污染的日益严重, 以及国内外对低温石油降解菌研究的逐渐深入, 低温微生物修复石油污染土壤成为研究热点, 主要表现在以下几个方面: 1) 由于土壤理化性质以及环境因素等方面的差异, 土壤中石油烃降解微生物的种类不同, 具有耐冷或嗜冷特性的微生物数量相对较少, 因而筛选低温条件下土壤石油降解微生物仍然是今后研究的热点; 2) 不同微生物适应低温环境和降解石油烃的机理各不相同, 因而通过质粒转移、基因融合等分子生物学技术构建工程菌, 能够显著提高微生物对环境的适应能力以及对不同石油烃组分的降解能力; 3) 通过不同的强化技术能够显著提高低温条件下土壤中石油烃的降解率, 为实际工程应用提供理论基础和技术支持。在寒冷及低温环境条件下, 应用低温微生物对石油污染土壤进行修复具有非常大的应用前景。Margesin 等^[1] 对高山冰川区域长期受柴油污染土壤的生物修复可能性研究发现, 施肥后土壤中柴油含量大幅度降低。Eriksson 等^[55] 对石油烃污染的极地和高山冻原土壤进行小规模生物降解实验, 证明寒冷条件下烃污染土壤的生物修复是可行的。我国土壤石油污染情况非常严重, 截至 2003 年底, 我国落地原油、油砂、岩屑、泥浆等固体废物累计堆存量 18.845 × 10⁶ t, 占地面积 1.81 × 10⁶ 万 m²^[68], 而我国大部分的油田开采区 10 月至次年 2、3 月的平均气温低于 15 °C, 冬季冰期较长, 冻土深度较大, 生物修复效率受温度影响较大。因此, 筛选石油污染土壤中耐低温高效降解菌种, 开展低温下微生物修复污染土壤的研究具有重要的理论

和现实意义,也将为解决环境问题提供一个全新的视角和方法。

参考文献

- [1] Margesin R, Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel oil contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**: 3127-3133
- [2] Margesin R, Schinner F. Biological decontamination of oil spills in cold environments. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1999, **74**: 381-389
- [3] Atlas RM. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective. *Microbiological Reviews*, 1981, **45**: 180-209
- [4] Margesin R, Feller G, Gerday C, *et al.* Cold-adapted microorganisms: Adaptation strategies and biotechnological potential// Bitton G, ed. *The Encyclopedia of Environmental Microbiology*. New York: Johnley & Sons, 2002
- [5] Gounot AM. Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. *Experientia*, 1986, **42**: 1192-1197
- [6] Danovaro R, Serresi M. Viral density and virus-to-bacterium ratio in deep sea sediment of the eastern Mediterranean. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 1857-1861
- [7] Aislabie J, Saul DJ, Foght JM. Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, 2006, **10**: 171-179
- [8] Zheng Z (郑洲), Liu F-M (刘芳明), Zhang B-T (张波涛), *et al.* Study on screening of Antarctic psychrophilic bacteria for petroleum hydrocarbon degradation and their degrading characteristics. *Advances in Marine Science* (海洋科学进展), 2007, **25**(3): 311-316(in Chinese)
- [9] Berger F, Morellet N, Menu F, *et al.* Cold shock and cold adaptation proteins in the psychrotrophic bacterium *Arthrobacter globiformis* S155. *Journal of Bacteriology*, 1996, **178**: 2999-3007
- [10] Gumley AW, Inness WE. Cold shock and cold acclimation protein in the psychrotrophic bacterium *Pseudomonas putida* Q5 and its transconjugants. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, **42**: 798-803
- [11] Jeffreys AJ, Hak KM, Steffan RJ, *et al.* Growth, survival and characterization of *cspA* in *Salmonella enteritidis* following cold shock. *Current Microbiology*, 1998, **36**: 29-36
- [12] Yakimov MM, Gentile G, Bruni V, *et al.* Crude oil induced structural shift of coastal bacterial communities of rod bay (Terra Nova Bay, Ross Sea, Antarctica) and characterization of cultured cold adapted hydrocarbonoclastic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**: 419-432
- [13] Huang L (黄磊), Li D (李丹), Xie Y-J (谢玉娟), *et al.* Identification and optimization of culture conditions for a low-temperature hydrocarbons-degrading strain treating pollution of sea water. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis* (南开大学学报·自然科学版), 2007, **40**(1): 99-104 (in Chinese)
- [14] Sokolovská I, Wattiau P, Gerin P, *et al.* Biodegradation of fluorene at low temperature by a psychrotrophic *Sphingomonas* sp. L-138*. *Chemical Papers*, 2002, **56**: 36-40
- [15] Bej A, Saul D, Aislabie J. Cold-tolerant alkane-degrading *Rhodococcus* species from Antarctica. *Polar Biology*, 2000, **23**: 100-105
- [16] Ruberto LAM, Vazquez S, Lobalbo A, *et al.* Psychrotolerant hydrocarbon-degrading *Rhodococcus* strains isolated from polluted Antarctic soils. *Antarctic Science*, 2005, **17**: 47-56
- [17] Whyte L, Hawari J, Zhou E, *et al.* Biodegradation of variable-chain-length alkanes at low temperatures by a psychrotrophic *Rhodococcus* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**: 2578-2584
- [18] Aislabie J, Foght JM, Saul D. Aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from soil near Scott Base, Antarctica. *Polar Biology*, 1999, **23**: 183-188
- [19] Baraniecki CA, Aislabie J, Foght JM. Characterization of *Sphingomonas* sp. Ant 17, an aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from Antarctic soil. *Microbial Ecology*, 2002, **43**: 44-54
- [20] Grishchenkov VG, Shishmakov DA, Kosheleva IA. Growth of bacteria degrading naphthalene and salicylate at low temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **39**: 282-288
- [21] Margesin R, Fonteyne PA, Redl B. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. *Research in Microbiology*, 2005, **156**: 68-75
- [22] Tirola MA, Männistö MK, Puhakka JA, *et al.* Isolation and characterization of *Novosphingobium* sp strain MT1, a dominant polychlorophenol degrading strain in a groundwater bioremediation system. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**: 173-180
- [23] Männistö MK, Tirola MA, Puhakka JA. Degradation of 2,3,4,6-tetrachlorophenol at low temperature and low dioxygen concentrations by phylogenetically different groundwater and bioreactor bacteria. *Biodegradation*, 2001, **12**: 291-301
- [24] Hughes KA, Bridge P, Clark MS. Tolerance of Antarc-

- tic soil fungi to hydrocarbons. *Science of the Total Environment*, 2007, **372**: 539–548
- [25] Wang H-Q (王红旗), Hao X-G (郝旭光), Sun Y-J (孙寓姣), *et al.* Selection, identification and degradation characteristics of cold resistant petroleum degrading strains in soil. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science)* (北京师范大学学报·自然科学版), 2009, **45**(5/6): 509–514 (in Chinese)
- [26] Siron R, Pelletier É, Brochu C. Environmental factors influencing the biodegradation of petroleum hydrocarbons in cold seawater. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1995, **28**: 406–416
- [27] Ray MK, Seshu KG, Shivaji S. Phosphorylation of membrane proteins in response to temperature in an Antarctic *Pseudomonas syringae*. *Microbiology*, 1994, **140**: 3217–3223
- [28] Weber MHW, Marahiel MA. Bacterial cold shock responses. *Science Progress*, 2003, **86**: 9–15
- [29] Yonezawa Y. Developmental changes of glutamate dehydrogenase activity in rat liver mitochondria and its enhancement by branched-chain amino acids. *Biology of the Neonate*, 1992, **62**: 83–88
- [30] Reay DS, Nedwell DB, Priddle J, *et al.* Temperature dependence of inorganic nitrogen uptake; Reduced affinity for nitrate at suboptimal temperatures in both algae and bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**: 2577–2584
- [31] Dammel CS, Noller HF. Suppression of a cold-sensitive mutation in 16S rRNA by overexpression of a novel ribosome-binding factor, RbfA. *Genes and Development*, 1995, **9**: 626–637
- [32] Simayi S-Y-M (司马义·萨依木). Microorganisms in extreme low temperature environment and their application. *Bulletin of Biology (生物学通报)*, 2002, **37**(8): 15–17 (in Chinese)
- [33] Goldstein J, Pollit NS, Inouye M. Major cold shock protein of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, **87**: 283–287
- [34] Jeffreys AJ, Steffan RJ, Foster JW, *et al.* Growth, survival and characterization of *cspA* in *Salmonella enteritidis* following cold shock. *Current Microbiology*, 1998, **36**: 29–36
- [35] Xin M-X (辛明秀), Zhou P-J (周培谨). Advance of research for microbial life in low temperature environments. *Acta Microbiologica Sinica (微生物学报)*, 1998, **38**(5): 400–403 (in Chinese)
- [36] Atlas RM. Effects of temperature and crude oil composition on petroleum biodegradation. *Journal of Applied Microbiology*, 1975, **30**: 396–403
- [37] Foght JM, Westlake D, Johnson WM, *et al.* Environmental gasoline utilizing isolates and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* are taxonomically indistinguishable by chemotaxonomic and molecular techniques. *Microbiology*, 1996, **142**: 1333–1340
- [38] Michaud L, Lo Giudice A, Saitta M, *et al.* The biodegradation efficiency on diesel oil by two psychrotrophic Antarctic marine bacteria during a two month long experiment. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, **49**: 405–409
- [39] Ferguson SH, Franzman PD, Snape I, *et al.* Effects of temperature on mineralisation of petroleum in contaminated Antarctic terrestrial sediments. *Chemosphere*, 2003, **52**: 975–987
- [40] Deppe U, Richnow HH, Michaelis W, *et al.* Degradation of crude oil by an Arctic microbial consortium. *Extremophiles*, 2005, **9**: 461–470
- [41] Churchill SA, Harper JP, Churchill PF. Isolation and characterization of a mycobacterium species capable of degrading three and four ring aromatic and aliphatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**: 549–552
- [42] Mohn WW, Radziminski CZ, Fortin MC, *et al.* On site bioremediation of hydrocarbon-contaminated Arctic tundra soil in inoculated biopiles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, **57**: 242–247
- [43] Farrell RL, Rhodes PL, Aislabie J. Toluene degrading Antarctic *Pseudomonas* strains from fuel contaminated soil. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, **312**: 235–240
- [44] van Beilen JB, Wubbolts MG, Witholt B. Genetics of alkane oxidation by *Pseudomonas oleovorans*. *Biodegradation*, 1994, **5**: 161–174
- [45] Coulon F, Pelletier E, Gourhant L, *et al.* Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil. *Chemosphere*, 2005, **58**: 1439–1448
- [46] Chi Z-M (池振明). *Modern Microbial Ecology*. Beijing: Science Press, 2005 (in Chinese)
- [47] Whyte LG, Bourbonnière L, Greer CW. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic *Pseudomonas* strains possessing both alkane (alk) and naphthalene (nah) catabolic pathways. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**: 3719–3723
- [48] Ní Chadhain SM, Sean NR, Pesce KV, *et al.* Microbial dioxygenase gene population shifts during polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**: 4078–4087
- [49] Geisenberger O, Ammendola A, Christensen BB, *et al.* Monitoring the conjugal transfer of plasmid RP4 in activated sludge and *in situ* identification of the transconju-

- gants. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, **174**: 9–17
- [50] Kok M, Oldenhuis R, van der Linden MPG, *et al.* The *Pseudomonas oleovorans* alkane hydroxylase gene sequence and expression. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, **264**: 5435–5441
- [51] Whyte LG, Smits THM, Labbe D, *et al.* Gene cloning and characterization of multiple alkane hydroxylase systems in *Rhodococcus* strains Q15 and NRRL B216531. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**: 5933–5942
- [52] Luz AP, Pellizari VH, Whyte LG, *et al.* A survey of indigenous microbial hydrocarbon degradation genes in soils from Antarctica and Brazil. *Canadian Journal of Microbiology*, 2004, **50**: 323–333
- [53] Ruberto L, Vazquez SC. Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2003, **52**: 115–125
- [54] Lucas AM, Ruberto S, Vazquez A, *et al.* Psychrotolerant hydrocarbon-degrading *Rhodococcus* strains isolated from polluted Antarctic soils. *Antarctic Science*, 2005, **17**: 47–56
- [55] Eriksson M, Ka JO, Mohn WM. Effects of low temperature and freeze thaw cycles on hydrocarbon biodegradation in Arctic tundra soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**: 5107–5112
- [56] Gerdes B, Brinkmeyer R, Dieckmann G, *et al.* Influence of crude oil on changes of bacterial communities in Arctic sea-ice. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **53**: 129–139
- [57] Mishra S, Sarma PM, Lai B. Crude oil degradation efficiency of a recombinant *Acinetobacter baumannii* strain and its survival in crude oil contaminated soil. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, **235**: 323–331
- [58] Kolenc RJ, Inmiss WE, Glick BR, *et al.* Transfer and expression of mesophilic plasmid-mediated degradative capacity in a psychrotrophic bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, **54**: 638–641
- [59] Liu F-M (刘芳明), Miao J-L (缪锦来), Zang J-Y (臧家业), *et al.* Influence of environmental factors on the growth and degradation efficiency of cold adapted petroleum hydrocarbon degrading *Shewanella* sp. bacteria isolated from Antarctic sea. *Chinese Journal of Polar Research* (极地研究), 2009, **21**(2): 81–89 (in Chinese)
- [60] Barathi S, Vasudevan N. Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* isolated from petroleum contaminated soil. *Environment International*, 2001, **26**: 413–416
- [61] Devare M, Alexander M. Bacterial transport and phenanthrene biodegradation in soil and aquifer sand. *Soil Science Society of America Journal*, 1995, **59**: 1316–1320
- [62] Pepi M, Cesàro A, Liut G, *et al.* An Antarctic psychrotrophic bacterium *Halomonas* sp. ANT23b, growing on n-hexadecane, produces a new emulsifying glycolipid. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **53**: 157–166
- [63] Pini F, Grossi C, Nereo S, *et al.* Molecular and physiological characterization of psychrotrophic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Terra Nova Bay (Antarctica). *European Journal of Soil Biology*, 2007, **43**: 368–379
- [64] Yakimov MM, Giuliano L, Bruni V, *et al.* Characterization of Antarctic hydrocarbon degrading bacteria capable of producing bioemulsifiers. *New Microbiologica*, 1999, **22**: 249–256
- [65] Margesin R, Schinner F. Biodegradation of diesel oil by cold-adapted microorganisms in presence of sodium dodecyl sulfate. *Chemosphere*, 1999, **38**: 3463–3472
- [66] Margesin R, Schinner F. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in alpine soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1997, **63**: 2660–2664
- [67] Paudyn K, Rutter AR, Rowe K, *et al.* Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian Arctic by landfarming. *Cold Regions Science and Technology*, 2008, **53**: 102–114
- [68] Li B-M (李宝明). Microbial Remediation of Contaminated Soil. PhD Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007 (in Chinese)

作者简介 王世杰,男,1978年生,博士研究生.主要从事石油污染土壤的环境化学特征以及生物修复石油污染土壤的机理研究. E-mail: w2376@sohu.com

责任编辑 肖红
