

于淑婷, 万 群, 余向阳, 等. 邻苯二甲酸酯降解真菌的筛选及其降解特性和土壤修复作用[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(3): 660-666.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2021.03.014

邻苯二甲酸酯降解真菌的筛选及其降解特性和土壤修复作用

于淑婷¹, 万 群², 余向阳², 陈小龙², 方香玲¹

(1. 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020; 2. 江苏省农业科学院, 江苏 南京 210014)

摘要: 从多年地膜污染棉田土壤中分离纯化出邻苯二甲酸酯(PAEs)降解真菌, 筛选分离出对PAEs降解效果良好的3株非致病真菌PAE1、PAE6、PAE8, 经形态学特征及18S rDNA序列分析, 分别鉴定为菌核生枝顶孢霉(*Acremonium sclerotigenum*)、辐毛鬼伞(*Coprinellus radians*)、耐盐枝孢菌(*Cladosporium halotolerans*)。3株真菌在邻苯二甲酸二丁酯(DBP)起始质量分数为10 mg/kg时降解效率最高, PAE6降解率达68.4%。3株真菌均能降解多种PAEs, 推测出其降解生物代谢途径为: PAE→单酯→PA→PCA→CO₂+H₂O。将3株真菌接种到DBP及邻苯二甲酸二辛酯(DEHP)污染的土壤中, 接菌后21 d, DBP及DEHP降解率分别为47.2%~70.6%、54.1%~73.4%, 其中PAE6对DEHP的降解率最高, 达73.4%。表明3株真菌对土壤中DBP及DEHP污染具有良好的修复作用。

关键词: 邻苯二甲酸酯(PAEs); 降解真菌; 降解特性; 土壤修复

中图分类号: X592 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)03-0660-07

Isolation, degradation characterization of phthalate-degrading fungi and their application in phthalate-contaminated soil

YU Shu-ting¹, WAN Qun², YU Xiang-yang², CHEN Xiao-long², FANG Xiang-ling¹

(1. College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China; 2. Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Three non-pathogenic fungi PAE1, PAE6, PAE8 with good degradation effect on phthalate esters (PAEs) were isolated after the PAEs degradation fungi were separated and purified from the cotton field soil contaminated by plastic film for many years in Xinjiang. Fungi PAE1, PAE6 and PAE8 were identified as *Acremonium sclerotigenum*, *Coprinellus radians* and *Cladosporium halotolerans* respectively based on the morphological characteristics and 18S rDNA sequence analysis. Three fungi reached the maximum degradation efficiency when the initial mass fraction of dibutyl phthalate (DBP) was 10 mg/kg, and the degradation rate of PAEs was 68.4%. The three fungi could degrade a variety of PAEs, and it was speculated that their biodegradable metabolic pathway was PAE→monoester→PA→PCA→CO₂+H₂O. The three fungi were inoculated in the soil contaminated by DBP and dioctyl phthalate (DEHP), the degradation rate of DBP and DEHP were 47.2%–70.6% and 54.1%–73.4% respectively 21 days after inoculation, and the degradation rate of PAE6 against DEHP was 73.4%, and was the highest. The results indicated that three fungi showed good repairing effect in the soil contaminated by DBP and DEHP.

Key words: phthalic acid esters (PAEs); degrading fungi; degradation characteristics; soil repair

邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)主要

用于聚氯乙烯材料, 起到增塑剂的作用, 被普遍应用于化妆品、清洁产品、包装材料、医用材料及玩具等数百种产品中。由于其应用广泛及不科学的处理方式, PAEs在土壤、沉积物、水体、大气等环境中^[1-3]甚至生物体^[4]中均有不同程度的检出, 成为各类环境中常见有机污染物之一。PAEs污染不仅对农田土

收稿日期: 2020-09-29

作者简介: 于淑婷(1997-), 女, 山东滨州人, 硕士研究生, 主要从事环境污染修复研究。(E-mail) m18753186635@163.com

通讯作者: 余向阳, (E-mail) yu981190@hotmail.com; 万 群, (E-mail) 308861990@qq.com

壤质量和农业生产造成不利影响^[5-7],其在生物体内积累并干扰内分泌的毒性对人类健康也具有潜在风险^[8-9]。微生物降解修复是最快速有效的修复手段,也是目前研究的热点。

近年来对 PAEs 降解菌的研究主要为细菌方向,大量高效降解菌株已经从各类环境中分离得到。韩永和等^[10]发现,*Sphingomonas*、*Comamonas*、*Pseudomonas*、*Arthobacter* 和 *Rhodococcus* 等属的细菌具备降解 PAEs 能力,李方方等^[11]的报道表明对邻苯二甲酸二辛酯 (Diocetyl phthalate, DEHP) 有良好降解效果的细菌集中在戈登氏菌 (*Gordonia* sp.)、红球菌 (*Rhodococcus* sp.)、芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.)、不动杆菌 (*Acinetobacter* sp.) 等属。而对真菌降解 PAEs 的研究相对较少^[11]。PAEs 降解真菌的最早研究报道于 1991 年,Sivamurthy 等^[12]发现齐整小核菌 (*Sclerotium rolfsii*) 将苯二甲酸二甲酯 (DMT) 转化为对苯二甲酸单甲酯 (MMT),最终水解转化为对苯二甲酸。Chai 等^[13]筛选出 14 株可以降解 DEHP 的真菌。另外,黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*)^[14]、胶红酵母 (*R. miicilaginosa*)^[15]、棒束梗霉属 (*Isaria* sp.) 真菌^[16]与尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)^[16-17]等真菌对 PAEs 也有一定降解效果。

有研究结果表明,污染土壤中添加 PAEs 降解菌可大幅提高土壤中 PAEs 的降解速率。郭杨^[16]发现束梗霉属 (*Isaria* sp.) 真菌 30 d 内将灭菌土壤中 300 mg/kg PAEs 降解 69.02%。韩蕊等^[18]发现爪哇正青霉 (*Eupenicillium javanicum*)^[10]30 d 内可将灭菌土壤中 300 mg/kg 复合 PAEs 降解 65.2%。Lv 等^[17]筛选出的尖孢镰刀菌 PO-Yi (*Fusarium oxysporum*) 可以将种植辣椒和茄子的土壤中总量 60 mg/kg PAEs 分别降解 76.8% 和 63.1%。本研究从多年地膜污染棉田土壤中分离纯化 PAEs 降解真菌,研究其降解特性,并将其应用到 PAEs 污染土壤中研究其对土壤中 PAEs 的去除效果,以期揭示该菌株对 PAEs 降解的基本规律,为 PAEs 污染的生物修复技术提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试地膜污染土壤取自多年 PAEs 污染棉田,于密封袋中 4 °C 条件下保存。PAEs 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。取 PAEs 试剂溶于乙

腈,制成 10 g/kg 的标准液,于 4 °C 保存待用。无机盐培养基 (MSM): KH_2PO_4 3.00 g/L, NH_4NO_3 2.00 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.10 g/L, CaCl_2 0.01 g/L, 乙二胺四乙酸二钠 ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$) 0.01 g/L, pH 7.5。

1.2 试验仪器

主要仪器有上海知楚 ZQZY-90F 振荡培养箱、上海奥析科学 A-1506 紫外可见分光光度计、Eppendorf Centrifuge 5804R 高速离心机、苏州净化设备 SW-CJ-1D 单人净化工作台、Talboys 多管式旋涡混合器、安捷伦 6890N 气相色谱仪。

1.3 降解邻苯二甲酸酯真菌的分离和鉴定

1.3.1 菌种分离纯化 称取地膜污染棉田土壤 5 g,加入含有 50 ml 无菌水的锥形瓶中,28 °C、180 r/min 避光振荡 20 min,静置 30 min 后取 5 ml 上清液,分别加入含邻苯二甲酸二丁酯 (Dibutyl phthalate, DBP)、邻苯二甲酸二辛酯 (Diocetyl phthalate, DEHP) 的 45 ml 无机盐培养基中进行 3 次梯度驯化。每次取 5 ml 菌液加入 45 ml 培养基中,28 °C、150 r/min 避光培养 7 d,DBP、DEHP 质量分数梯度均为 5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg。取扩增培养后的菌液稀释 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 倍,然后取 100 μl 菌液分别在含 10 mg/kg DBP、DEHP 的 MSM 固体培养基平板上涂布,28 °C 下培养 7 d,将不同形态的菌落进一步于 MSM 固体培养基上进行划线培养得到单菌落,于试管斜面培养基 4 °C 保存。

1.3.2 菌种筛选鉴定 用打孔器打取菌饼,分别接种到含有 100 ml PDB 培养基的锥形瓶中,150 r/min、28 °C 避光培养 72 h 诱导菌丝体生长。紫外分光光度计测定菌液 660 nm 下 OD 值,用无菌水适当稀释控制菌液中含菌量一致。将 5 ml 菌液分别加入 45 ml 无机盐液体培养基 (DBP、DEHP 质量分数均为 10 mg/kg),以加入等量无菌水为对照。28 °C、150 r/min 避光培养 3 d,检测培养基中 PAEs 含量。选出对 PAEs 降解效果良好的真菌,按照瑞源生物 Yeast Colony Rapid Detection Kit 试剂盒方法提取 DNA,用通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增,扩增产物送至南京擎科生物科技有限公司进行基因测序。

1.3.3 检测方法 培养基中的 DBP 及 DEHP 含量采用高效气相测谱仪 (GC) 检测。DBP 检测方法:样品中 DBP 用二氯甲烷萃取。待测培养基中加入等量二氯甲烷,150 r/min 振荡 15 min,静置 20 min 使其分层,收集下层有机相液体。DEHP 检测方法:

样品中 DEHP 用正己烷萃取。待测培养基中加入等量正己烷,多管式旋涡混合器涡旋 2 min,4 500 r/min 离心 2 min 使其分层,收集上层有机相液体。有机相液体过 0.22 μm 滤膜,GC 检测。

1.4 真菌降解特性研究

1.4.1 真菌对不同质量分数 DBP 及 DEHP 的降解

参照方法 1.3.2 及 1.3.3,将 5 ml 菌液分别加入 45 ml 无机盐培养基(DBP、DEHP 质量分数梯度均为 5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg),以加入等量无菌水为对照,28 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 避光培养 5 d,检测培养基中 PAEs 含量。

1.4.2 真菌降解 PAEs 广谱性测定 测定真菌对 10 种 PAEs 和 3 种降解中间产物的降解能力,10 种 PAEs 为邻苯二甲酸二烯丙酯(Diallyl phthalate, DAP)、邻苯二甲酸二正辛酯(Dioctyl phthalate, DNOP)、邻苯二甲酸双(2-甲氧基乙酯)(Bis(methylglycol) phthalate, BMEP)、邻苯二甲酸二甲酯(Dimethyl phthalate, DMP)、邻苯二甲酸丁酯苯甲酯(Butyl benzyl phthalate, BBP)、邻苯二甲酸二环己酯(Dicyclohexyl phthalate, DCHP)、邻苯二甲酸二异丙酯(Diisopropyl phthalate, DIPrP)、邻苯二甲酸二正戊酯(Dipentyl phthalate, DPP)、邻苯二甲酸二乙酯(Diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二丙酯(Dipropyl phthalate, DPrP),3 种降解中间产物为邻苯二甲酸单丁酯(Monobutyl phthalate, MBP)、邻苯二甲酸(Phthalic acid, PA)、原儿茶酸(protocatechuic acid, PCA)。

3 株真菌分别接种于 PDA 培养基,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 5 d,用打孔器打取直径为 5 mm 的菌饼,分别接种于含不同 PAEs 的无机盐固体培养基(PAEs 质量分数为 10 mg/kg),28 $^{\circ}\text{C}$ 避光培养 7 d,观察真菌生长情况和菌落形态。以菌落生长直径小于 1 mm 为不生长(-),大于 1 mm 小于 5 mm 为生长(+),超过 5 mm 为生长旺盛(++).

1.4.3 真菌对土壤中邻苯二甲酸酯的降解能力 试验所用清洁农田土壤取自江苏省农业科学院试验基地,土壤风干磨碎过 2 mm 筛,分别加入 DBP、DEHP 丙酮溶液,配制 PAEs 质量分数为 80 mg/kg 的人工污染土壤,各称取 50 g 加入洁净的玻璃培养皿中,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下老化 28 d。将用 PDB 培养基在 150 r/min、28 $^{\circ}\text{C}$ 富集培养的菌液离心,适当稀释控制菌液中含菌量一致,将菌液分别接种至老化

后的土壤中,以加入等量无菌水为对照。定期浇去离子水使土壤含水量保持在 20% 左右,将培养皿于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱避光培养 21 d,取样测定土壤中 PAEs 含量,计算降解率。降解率=(对照样品残留量-处理样品残留量)/对照样品残留量 $\times 100\%$ 。土壤中 PAEs 含量检测参考刘彦爱^[19]的方法:准确称取 2.0 g 土壤,加入 2 ml 超纯水剧烈涡旋 1 min,加入 5 ml 色谱乙腈,于多管式旋涡混合器上涡旋振荡 10 min,加入 0.5 g NaCl 和 2.0 g 无水 MgSO_4 ,立即涡旋 1 min,3 500 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜,GC 检测。

2 结果与分析

2.1 PAEs 降解真菌的分离筛选

通过分离得到 11 株对 DBP 及 DEHP 降解效果较好的真菌,分别命名为 PAE1~PAE11,降解效果见表 1。根据 18S rRNA 测序结果序列比对,对 11 株菌进行了初步鉴定,鉴定结果见表 1。菌株 PAE1、PAE6、PAE8 均对 DBP 及 DEHP 有很好的降解效果且为非致病菌。综合考虑降解效果及致病因素,选取 3 株真菌 PAE1、PAE6、PAE8 进行后续试验。

表 1 11 株 PAEs 降解真菌的初步鉴定结果

Table 1 Identification of 11 phthalate esters (PAEs) degrading fungi strains

菌株名称	种名	DBP 降解率 (%)	DEHP 降解率 (%)	是否为致病菌
PAE1	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	40.1	32.8	否
PAE2	<i>Ochroconis tshawytschae</i>	35.5	43.7	是
PAE3	<i>Paramyothecium roridum</i>	18.4	7.7	是
PAE4	<i>Cadophora malorum</i>	39.3	55.4	是
PAE5	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	19.4	10.3	否
PAE6	<i>Coprinellus radians</i>	53.1	36.9	否
PAE7	<i>Mucor hiemalis</i>	29.1	12.5	是
PAE8	<i>Cladosporium halotolerans</i>	50.4	40.6	否
PAE9	<i>Alternaria alternata</i>	39.7	42.9	是
PAE10	<i>Alternaria alternata</i>	44.3	29.7	是
PAE11	<i>Alternaria alternata</i>	60.1	54.6	是

2.2 菌株 PAE1、PAE6、PAE8 的进一步鉴定

菌株 PAE1、PAE6、PAE8 分别接种于 MSM 培养基,28 $^{\circ}\text{C}$ 下避光培养 7 d,肉眼观察菌落形态(图 1)。经比对,菌株 PAE1 的 18S rRNA 序列与菌核生

枝顶孢霉 (*Acremonium sclerotigenum*) 的同源性达 99.06%, 菌株 PAE6 的 18 S rRNA 序列与辐毛鬼伞 (*Coprinellus radians*) 的同源性达 99.53%, 菌株 PAE8 的 18 S rRNA 序列与耐盐枝孢菌 (*Cladosporium halotolerans*) 的同源性达 99.03%。结合系统发育树(图 2)与菌株形态特征, 将菌株 PAE1 鉴定为菌核生枝顶孢霉, 将菌株 PAE6 鉴定为辐毛鬼伞, 将菌株 PAE8 鉴定为耐盐枝孢菌。

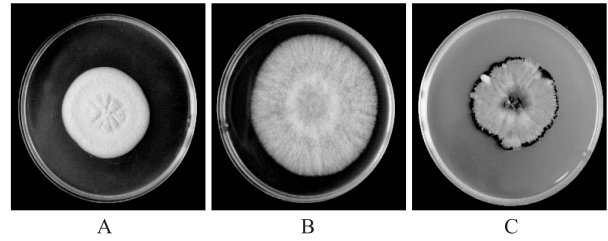


图 1 菌株 PAE1 (A)、PAE6 (B)、PAE8 (C) 在 MSM 培养基上菌落形态特征

Fig.1 Morphological properties of PAE1 (A), PAE6 (B) and PAE8 (C) colonies on MSM medium

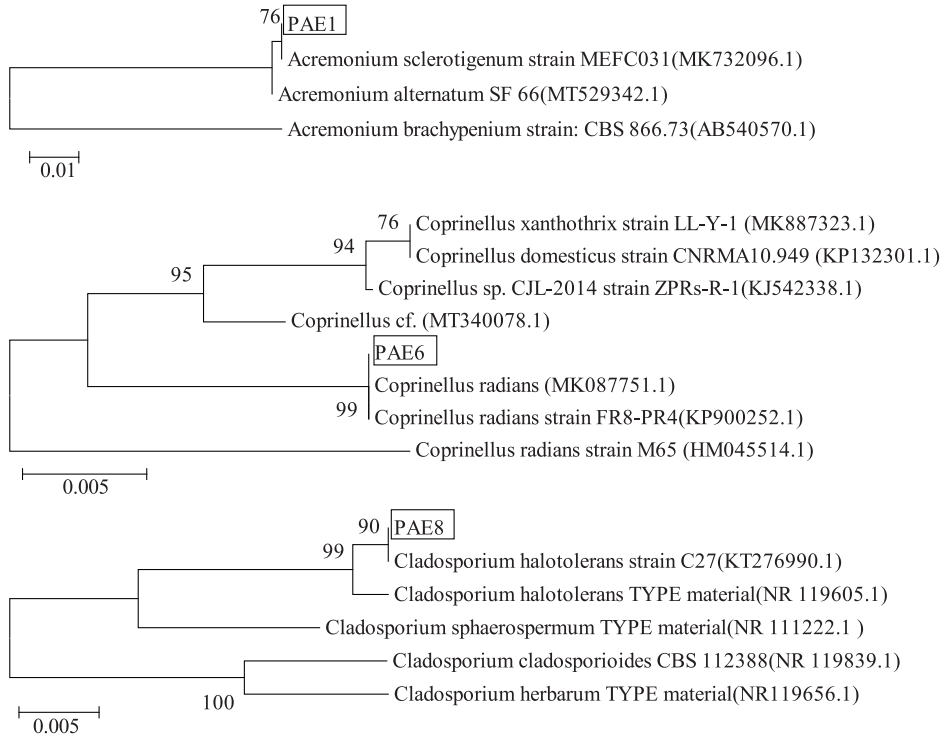


图 2 菌株 PAE1、PAE6、PAE8 及相关菌株 18S rRNA 构建的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree based on the 18S rRNA sequences of PAE1, PAE6, PAE8 and related strains

2.3 3 株真菌对不同质量分数 DBP 及 DEHP 的降解特性

在 DBP 和 DEHP 起始质量分数分别为 5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg 时, 培养 5 d 后测定不同菌株对 MSM 液体培养基中 PAEs 的降解率, 结果(图 3)显示菌株 PAE1 对不同质量分数 DBP 降解率分别为 42.3%、53.2%、41.5%, 对不同质量分数 DEHP 降解率分别为 26.2%、30.4%、39.4%; 菌株 PAE6 对不同质量分数 DBP 降解率分别为 54.2%、68.4%、45.8%, 对不同质量分数 DEHP 降解率分别为 28.2%、26.9%、32.4%; 菌株 PAE8 对不同质量分数 DBP 降解率分别为 49.3%、59.3%、39.4%, 对

不同质量分数 DEHP 降解率分别为 22.3%、31.3%、26.9%。3 株真菌对 DBP 降解率均在起始质量分数为 10 mg/kg 时最高, 5 mg/kg 次之, 20 mg/kg 最低。菌株 PAE8 对 DEHP 的降解效率也在起始质量分数为 10 mg/kg 时最高。可能是由于高质量分数的 PAEs 抑制了微生物活性而降低 PAEs 降解率。高质量分数(50 mg/kg)污染处理的 DBP 及 DEHP 对微生物生长、土壤酶活性以及土壤基础呼吸^[20]有明显的抑制作用, 并且抑制作用随着污染物质量分数升高而增强^[21]。说明当 PAEs 对微生物产生毒害作用时, 微生物会通过降低生理活动来抵御污染物的胁迫^[22]。

3 株真菌对 DBP 的降解率(41.5%~68.40%)均高于对 DEHP 的降解率(22.3%~39.4%),可能是由于与 DBP 相比,DEHP 侧链较长,更难以降解。据文献报道,微生物对 PAEs 降解效率受其分子结构的影响,烷基链短、支链小更有利于微生物的降解^[23]。

在起始质量分数为 20 mg/kg 时,菌株 PAE1、

PAE6 对 DEHP 的降解效率最高,可能是因为 2 株真菌可耐受 20 mg/kg 的 DEHP。有研究者发现,有机污染物会促进功能微生物生长^[24],当功能微生物受到有机污染物胁迫时,因经过前期的适应,其生长速率明显提高^[25]。由此可见,微生物在可耐受的胁迫下能通过提高自身生理活动来抵御胁迫^[26-29]。

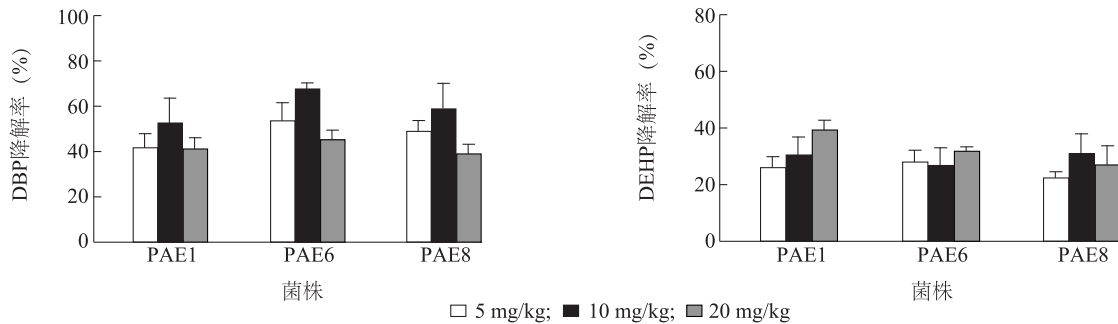


图 3 不同初始质量分数 DBP 及 DEHP 对菌株 PAE1、PAE6、PAE8 降解 PAEs 的影响

Fig.3 Effect of initial mass fraction of DBP and DEHP on the degradation of PAEs by strains PAE1, PAE6 and PAE8

2.4 菌株 PAE1、PAE6 和 PAE8 降解 PAEs 的广谱性

3 株真菌均能在含有不同 PAEs MSM 固体培养基上生长(表 2),PAE6 生长最旺盛,PAE1 次之,PAE8 生长较缓慢。说明 3 株真菌能降解多种 PAEs,对常见的 PAEs 均有降解能力。3 株真菌对支链碳数为 1~8 的不同 PAEs 均有降解能力。根据文献报道,已筛选到的 PAEs 降解真菌对多种不同支链长度的 PAEs 有降解效果。韩蕊等^[18]研究结果表明爪哇正青霉(*Eupenicillium javanicum*)菌株对土壤中复合 PAEs(DMP、DEP 和 DOP)有较好的降解效果。谢清如等^[14]发现黄孢原毛平革菌在最佳条件下对 DEP 去除率达到 94.6%。

2.5 菌株 PAE1、PAE6 和 PAE8 降解途径推测

为推测 3 株真菌对 PAEs 的代谢途径,将 3 株真菌接种在添加 MBP、PA、PCA 的无机盐固体培养基上观察生长情况,发现 3 株菌株均能以 3 种代谢中间产物为底物(表 2)。根据试验结果与相关文献^[10,30-31],推测 3 株真菌作用下 PAEs 的生物降解过程为:PAEs 通过脱脂化作用降解为单酯,再进一步水解为 PA,最终 PA 降解形成 PCA 并进入下一步代谢。此路径与目前报道的多数微生物降解 PAEs 的主要路径一致。

2.6 菌株 PAE1、PAE6、PAE8 对土壤中邻苯二甲酸酯的降解能力

用 80 mg/kg DBP 和 DEHP 污染土壤且老化 28 d

表 2 菌株 PAE1、PAE6、PAE8 在含有不同 PAEs MSM 培养基上生长情况

Table 2 Growth of strains PAE1, PAE6 and PAE8 on MSM medium containing different phthalic acid esters (PAEs)

PAEs	侧链碳数	PAE1	PAE6	PAE8
DAP	3	+	++	+
DNOP	8	+	++	+
BMEP	3	+	++	+
DMP	1	+	++	+
BBP	4	+	++	+
DCHP	6	+	+	+
DIPrP	3	+	++	+
DPP	5	++	++	+
DEP	2	++	++	+
DPrP	3	+	+	+
MBP *	/	++	++	+
PA *	/	++	++	+
PCA *	/	++	++	+

* 为微生物代谢 PAEs 的中间产物。菌落直径<1 mm 为不生长(-), 1~5 mm 为生长(+), >5 mm 为旺盛生长(++)。

后,分别测定土壤中 DBP 和 DEHP 的含量,结果显示 DBP 含量为 1.2 mg/kg, DEHP 含量为 4.4 mg/kg,且含量保持稳定不再下降。接菌后 21 d 发现,菌株 PAE1、PAE6、PAE8 均对土壤中 DBP 及 DEHP 有不同程度的降解(图 4)。3 株真菌 21 d 内

对 1.2 mg/kg DBP 的降解率为 47.2%~70.6%,对 4.4 mg/kg DEHP 降解率为 54.1%~73.4%。PAE6 对土壤中 PAEs 的降解率最高,达 70.6%~73.4%。与无机盐培养基相比,3 株真菌对土壤中 PAEs 尤其是对 DEHP 的降解率高。这可能是由于在自然环境中与在室内培养基试验条件下的差异造成的,也可能是由于试验时间延长使降解率升高。

目前对真菌修复土壤中 PAEs 的研究大多是在灭菌土壤及高质量分数 PAEs 污染条件下进行^[18,16-17]。而文献报道表明,中国农业土壤中 PAEs 大多处于微量水平^[2],土壤中优先控制的 6 种 PAEs 在山东省寿光市蔬菜大棚中总量范围为 0.453~1.615 mg/kg 且以 DBP 与 DEHP 为主^[4],广东省典型区域 92.8% 的农业表层土壤中 6 种 PAEs 总含量 ≤ 1 mg/kg^[32]。本试验结果表明,筛选的 3 株真菌对土壤中较低质量分数的 PAEs 有良好的降解效果,说明其在自然环境条件下对土壤中 PAEs 污染具有良好的修复作用。枝孢菌属(*Cladosporium*)真菌可参与修复 PAEs 污染土壤已有相关报道^[33],但本研究首次发现枝顶孢霉属(*Acremonium*)真菌及鬼伞属(*Coprinellus*)真菌具有修复有机污染物污染土壤的功能。

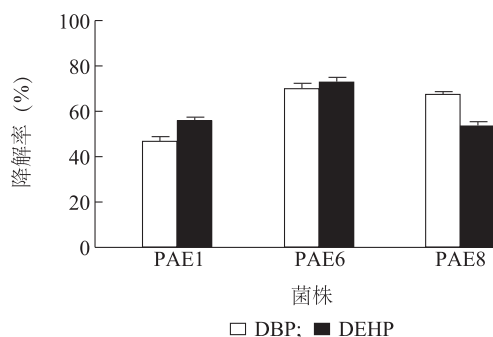


图4 菌株 PAE1、PAE6、PAE8 对土壤中 PAEs 的降解率

Fig.4 Degradation of strains PAE1, PAE6, PAE8 on phthalic acid esters (PAEs) in the soil

3 结论

从 PAEs 污染的棉田土壤中筛选出 3 株可同时降解多种 PAEs 的高效降解真菌 PAE1、PAE6、PAE8,分别鉴定为菌核生枝顶孢霉(*Acremonium sclerotigenum*)、辐毛鬼伞(*Coprinellus radians*)、耐盐枝孢菌(*Cladosporium halotolerans*)。3 株真菌对无

机盐培养基中不同质量分数 DBP 及 DEHP 具有良好的降解效果,对 DBP 的降解率为 39.4%~68.4%,对 DEHP 降解率为 22.3%~39.4%,其中 3 株真菌在 DBP 起始质量分数为 10 mg/kg 时降解率最高,PAE6 降解率达 68.4%。

3 株真菌均能降解多种 PAEs,并推测其生物降解途径为:PAEs→单酯→PA→PCA→CO₂+H₂O。3 株真菌对 DBP 及 DEHP 污染土壤具有良好的修复作用,21 d 内对 1.2 mg/kg DBP 的降解率为 47.2%~70.6%,对 4.4 mg/kg DEHP 的降解率为 54.1%~73.4%,其中 PAE6 对土壤中 DEHP 的降解率最高,达 73.4%。

参考文献:

- [1] 曹 龙,张朝升,陈秋丽,等.邻苯二甲酸酯的环境污染和生态行为及毒理效应研究进展[J].生态毒理学报,2018,13(2): 37-49.
- [2] 王凯荣,崔明明,史衍玺.农业土壤中邻苯二甲酸酯污染研究进展[J].应用生态学报,2013,24(9): 2699-2708.
- [3] 王晓南,张 瑜,王婉华,等.邻苯二甲酸二乙基己酯 DEHP 污染及其毒性研究进展[J].生态毒理学报,2017,12(2): 135-150.
- [4] 郑顺安,薛颖昊,李晓华,等.山东寿光设施菜地土壤农产品邻苯二甲酸酯(PAEs)污染特征调查[J].农业环境科学学报,2016,35(3): 492-499.
- [5] 袁 丽,刘彦爱,程金金,等.上海青对土壤邻苯二甲酸二丁酯的富集及毒性响应特征[J].江苏农业学报,2019,35(1): 204-210.
- [6] 张 颖,段淑伟,王 蕾,等.黄瓜发育早期对邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)胁迫的亚显微结构及生理响应比较研究[J].农业环境科学学报,2014,33(9): 1706-1711.
- [7] 陈意良,鲁磊安,莫测辉,等. DEHP 胁迫对高/低累积邻苯二甲酸酯品种水稻抗氧化酶系统的影响[J].热带作物学报,2016,37(8): 1484-1488.
- [8] JANJUA N R, MORTENSEN G K, ANDERSSON A M, et al. Systemic uptake of diethyl phthalate, dibutyl phthalate, and butyl paraben following whole-body topical application and reproductive and thyroid hormone levels in humans[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41: 5564-5570.
- [9] WESCHLER C J, BEKO G, KOCH H M, et al. Transdermal uptake of diethyl phthalate and di(n-butyl) phthalate directly from air: Experimental verification[J]. Environ Health Perspect, 2015, 123: 928-934.
- [10] 韩永和,何睿文,李 超,等.邻苯二甲酸酯降解细菌的多样性、降解机理及环境应用[J].生态毒理学报,2016,11(2): 37-49.
- [11] 李方方,王洋洋. DEHP 的污染现状及生物降解研究进展[J].

- 河南科技, 2017(7): 153-155.
- [12] SIVAMURTHY K, SWAMY B M, PUJAR B G. Transformation of dimethylterephthalate by the fungus *Sclerotium rolfsii* [J]. Fems Microbiology Letters, 2010(1): 37-40.
- [13] CHAI W, SUZUKI M, HANDA Y, et al. Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by fungi [J]. Report of National Food Research Institute, 2008(72): 83-87.
- [14] 谢清如, 尚 翠, 钟 爽, 等. 固定化黄孢原毛平革菌对邻苯二甲酸二乙酯的降解效果研究 [J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2018, 33(2): 89-94.
- [15] 王静雯. 深海真菌对邻苯二甲酸酯的降解特性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [16] 郭 杨. 土壤酞酸酯污染的微生态效应和真菌-植物联合修复技术研究 [D]. 北京: 中国环境科学研究院, 2011.
- [17] LV H Y, LI G Y, FANG Z H, et al. Phthalate esters biodegradation by *Fusarium oxysporum* in vegetable soil [J]. Agricultural Science & Technology, 2018(3): 52-57.
- [18] 韩 蕊, 王冬莹, 芮 洋, 等. 一株降解邻苯二甲酸酯真菌的筛选及其降解特性研究 [J]. 环境科学学报, 2013, 33(11): 2941-2946.
- [19] 刘彦爱. 邻苯二甲酸酯在土壤-蔬菜系统中的累积、毒性效应及其生物有效性 [D]. 镇江: 江苏大学, 2019.
- [20] 夏庆兵, 王 军, 朱鲁生, 等. 土壤微生物对邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯胁迫的生态响应 [J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(7): 1344-1350.
- [21] 宋雪英, 崔小维, 李嘉康, 等. 邻苯二甲酸酯类塑化剂的土壤生态毒理学研究进展 [J]. 生态环境学报, 2016, 25(11): 1885-1890.
- [22] 郭 杨, 韩 蕊, 杜文婷, 等. 邻苯二甲酸酯复合污染对土壤微生物的影响 [J]. 环境科学研究, 2010, 23(11): 1410-1414.
- [23] 吴 琼, 张晓峰, 任 伟, 等. 邻苯二甲酸酯的污染现状及微生物降解研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2018, 38(2): 122-128.
- [24] 陈保冬, 赵方杰, 张 莘, 等. 土壤生物与土壤污染研究前沿与展望 [J]. 生态学报, 2015, 35(20): 6604-6613.
- [25] JOHNSEN A R, KARLSON U. Diffuse PAH contamination of surface soils: environmental occurrence, bioavailability, and microbial degradation [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 76: 533-543.
- [26] 李 磊, 韩 成, 王宵宵, 等. 镉胁迫下转基因水稻对根际土壤微生物的影响 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47(14): 282-287.
- [27] 陈丽洁, 苏 品, 张 卓, 等. 一株耐盐类球红细菌的分离鉴定及其对不同作物的促生作用 [J]. 南方农业学报, 2019, 50(5): 964-973.
- [28] 杨雍康, 药 栋, 李 博, 等. 微生物群落在修复重金属污染土壤过程中的作用 [J]. 江苏农业学报, 2020, 36(5): 1322-1331.
- [29] 杨 莹, 刘冬雪, 郭 英, 等. 2株芽孢杆菌抗旱及解磷能力 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 260-263.
- [30] 杨 婧, 郭楚玲, 刘沙沙, 等. 邻苯二甲酸酯降解菌的筛选、降解特性及土壤修复研究 [J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(5): 933-940.
- [31] KUMAR V, MAITRA S S. Biodegradation of endocrine disruptor dibutyl phthalate (DBP) by a newly isolated *Methylobacillus* sp. V29b and the DBP degradation pathway [J]. 3 Biotech, 2016, 6(2): 1-12.
- [32] 杨国义, 张天彬, 高淑涛, 等. 广东省典型区域农业土壤中邻苯二甲酸酯含量的分布特征 [J]. 应用生态学报, 2007, 18: 2308-2312.
- [33] CRIADO M V, FERNÁNDEZ PINTO V E, BADESSARI A, et al. Conditions that regulate the growth of moulds inoculated into bottled mineral water [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 99: 343-349.

(责任编辑: 张震林)