

海洋石油污染及其微生物修复研究进展

李贵珍^{1,2}, 赖其良², 闫培生^{1,3*}, 邵宗泽^{1,2*}

1. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090;
2. 国家海洋局第三海洋研究所, 海洋生物遗传资源国家重点实验室培育基地, 福建 厦门 361005;
3. 哈尔滨工业大学(威海)海洋科学与技术学院, 山东 威海 264209

摘要: 海洋石油污染严重影响了海洋生态系统平衡和人类健康, 海洋石油污染的微生物修复技术因其自身的优势越来越受到人们的重视。介绍了海洋石油污染的现状和治理方法, 并着重介绍了海洋中石油污染微生物修复中降解微生物的种类、降解机理和生物修复的研究进展, 并指出了生物修复存在并需要克服的问题, 以期能为海洋石油污染环境修复研究提供参考。

关键词: 海洋; 石油污染; 海洋微生物; 微生物修复

DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.03.03

Advance on Marine Petroleum Pollution and Microbial Remediation

LI Gui-zhen^{1,2}, LAI Qi-liang², YAN Pei-sheng^{1,3*}, SHAO Zong-ze^{1,2*}

1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;
2. Breeding Base of State Key Laboratory of Marine Genetic Resources, Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Fujian Xiamen 361005, China;
3. School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology at Weihai, Shandong Weihai 264209, China

Abstract: Marine petroleum pollution have a serious effect on the marine ecosystems and human health. Microbial remediation technology for marine petroleum pollution is attracting extensive attention for its advantages. This paper introduced the current situation of marine petroleum pollution, the treatments of marine petroleum pollution, and microbial remediation of marine petroleum pollution. The paper mainly focused on the diversity of petroleum degrading microorganisms, mechanism of degradation and the advance of bioremediation. Meanwhile, this paper also pointed out the problems of microbial remediation which need to be overcome, and hoped to provide useful informations for the study on marine environmental microbial remediation of petroleum pollution.

Key words: marine; petroleum pollution; marine microorganisms; microbial remediation

随着石油工业化进程的加快, 环境污染问题变得越来越严重。近年来, 由于海洋溢油事件不断发生, 海洋石油污染受到越来越广泛的关注。据报道, 全世界平均每年约有 1.0×10^{10} kg 石油流入海洋, 我国每年有高达 1.15×10^8 kg 的石油流入海洋^[1], 石油已经成为海洋环境的主要污染物。海洋中石油污染的泛滥, 不仅造成了巨大的直接经济损失, 对海洋生态环境的破坏所造成的间接

价值的损失更是无法估量。如何修复受污染的海洋, 也引起人们越来越多的思考。生物修复 (bioremediation) 因其为自然降解过程, 具有对人和环境的影响小、费用低、不易引起二次污染, 并且可以定点修复^[2]等优点而得到广泛研究和应用。本文介绍了石油污染的现状及主要的治理方法, 并着重介绍了微生物修复的微生物种类、机理及相关研究进展, 以期能为石油污染环境修复提供参考。

收稿日期: 2015-04-01; 接受日期: 2015-05-01

基金项目: 哈尔滨工业大学优秀团队支持计划资助。

作者简介: 李贵珍, 博士研究生, 研究方向为海洋微生物资源与利用。E-mail: liguizhen.ok@163.com。* 通信作者: 闫培生, 教授, 博士生导师, 研究方向为海洋微生物资源与利用、海洋生物质及其加工废物的高值资源化、有害微生物的生物防治与生物农药、微生物发酵工程与生物制药等。E-mail: yps6@163.com; 邵宗泽, 研究员, 博士生导师, 研究方向为海洋微生物资源与海洋环境微生物。

1 海洋石油污染现状

1.1 海洋中石油污染的来源

海洋中石油的来源主要有4个:①海上油运:主要通过压舱水、洗舱水、油轮事故和石油码头的泄漏等进入海洋;②海上油田:海底石油在开采过程中不可避免的油井的井喷、油管的破裂等事故会导致大量石油泄入海洋;③海岸排油:海岸上的各类石油废水直接排入海洋;④大气石油烃的沉降:由工厂、船坞和车辆等排出的石油烃挥发到大气后,有一部分最终落入海洋^[3]。

据统计,每年全世界石油总产量的0.5%最终会泄入海洋,每年井喷和运输事故造成的溢油就高达 2.2×10^7 t,我国各种溢油事故平均每年发生500起,每年直接排入海洋的石油就有约10万t,大量的石油泄入海洋,无论是对整个海洋生态环境还是人类社会而言都是极为严重的破坏^[4,5]。

1.2 石油污染的危害

石油进入海洋后,主要以水体表面形成的油膜、溶解分散、凝聚态3种形式存在^[6]。石油污染对海洋造成的危害主要包括生态方面的危害和社会危害两大类^[6]。生态方面危害表现在:①降低光合作用:海水表面的油膜,阻挡阳光射入海洋,破坏了海洋中的 O_2 和 CO_2 的平衡,从而影响光合作用;②影响海气交换:油膜覆盖于海水表面破坏海洋中溶解气体的循环平衡;③影响海水中的溶解氧;④毒化作用:石油中的有毒物质,如芳香烃等具有“三致”作用,对海洋生物和人类都有很大的危害;⑤引发赤潮:海洋中石油污染严重的区域,更容易引发赤潮;⑥全球效应:石油污染会加剧温室效应,从而间接引发全球问题。社会危害主要表现在:①对渔业造成的危害:石油进入海洋,在海水表面形成油膜,降低了光合作用效率,造成海水中的溶解氧含量降低,破坏海洋中的气体交换平衡,从而导致鱼类等大量死亡,严重影响渔业的发展;②对工农业的危害:石油污染增加了捕捞成本,许多海上作业企业受到严重影响;③对旅游业的危害:海洋中的石油会污染近海,从而影响海滨旅游业的发展;④对人类健康的危害:石油中含有大量有毒物质,这些有毒物质可以通过食物链和食物网进行生物累积,最终危害人类健康。

2 海洋石油污染的治理方法

海洋石油污染处理方法可以分为物理法、化学法和生物法3种。物理方法主要有:①围栏法:主要是阻止石油在海面上扩散;②撇油器:在不改变石油性质的基础上,对石油进行回收;③吸油材料:用亲油性的材料,将石油进行吸附回收。化学方法主要有:①分散剂:可以有效的减少石油与海水间的表面张力,从而使石油分散成小油株,有利于微生物对其进行降解;②凝油剂:可将石油凝成粘稠状或果冻状,从而有效的防止石油扩散;③其他化学品。生物方法主要是生物修复。生物修复的概念最早是1995年由Glazer和Nikaido提出的^[7],描述微生物降解或清除环境中有害废物的过程。目前普遍认为,生物修复是指生物(尤其是微生物)催化降解环境有毒污染物,减少或最终消除环境污染的受控或自发过程^[5]。生物修复一般可分为广义和狭义生物修复两方面^[8]。广义生物修复指一切以生物技术为主的环境污染的治理技术,通常分为植物修复、动物修复和微生物修复3种类型;狭义生物修复指通过微生物的作用来清除土壤和水体环境中的污染物,或使污染物无毒化的过程,包括自然和人为控制条件下的降解或无毒化过程。与物理法和化学法相比,生物修复因其为自然降解过程,所以具有对人和环境的影响小、费用低、不易引起二次污染,并且可以定点修复^[2]等优点。

3 海洋石油污染的微生物修复

3.1 可修复石油污染的微生物种类

烃类降解菌早在20世纪初就已发现^[9],据报道能够利用烃类作为唯一碳源和能源的有79个细菌属、9个蓝藻属、103个真菌属和14个藻属^[10]。据报道,从海洋环境分离到的可降解石油的微生物有70个属,其中细菌就占了40个属^[11]。就目前报道的石油降解菌来看,革兰氏阴性菌比革兰氏阳性菌要多。

在长期的石油污染驯化过程中,海洋中出现了一类“噬石油烃”细菌,它们能以石油为唯一碳源生长繁殖,如利用多环芳香烃(polycyclic aromatic hydrocarbons)为碳源的解环菌属(*Cyclo-*

clasticus)^[12-15]、假单胞菌属(*Pseudomonas*)^[16]、盐单胞菌属(*Halomonas*)^[16,17]、海杆菌属(*Marinobacter*)^[16,17]、海旋菌(*Thalassospira*)^[16,17]、海茎状菌(*Maricaulis*)^[16]和假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)^[17];以饱和烷烃及支链烷烃为碳源生长的食烷菌属(*Alcanivorax*)^[18-21];利用脂肪族烃、烷醇和链烷酸酯的嗜油菌属(*Oleiphilus*)和油螺旋菌属(*Oleispira*)^[22,23]。另外,还有降解荧蒽的速生杆菌属(*Celeribacter*)^[24]。除此之外,能够降解石油烃的细菌还有弧菌属(*Vibrio*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、微球菌属(*Micrococcus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)和无色杆菌属(*Achromobacter*)等^[3]。海洋中能够降解石油烃的真菌主要是霉菌和酵母菌,霉菌如小克银汉霉菌(*Cunninghamella*)、曲霉属(*Apergillus*)^[25]、头孢霉属(*Cephalosporium*)、镰孢霉属(*Fusarium*)和青霉属(*Penicillium*)等^[26],但其数量远远少于细菌。能够降解石油烃的酵母菌主要有亚罗酵母属(*Yarrowia*)^[27,28]、假丝酵母属(*Candida*)^[25,29,30]、毕赤氏酵母菌属(*Pichia*)和红酵母菌属(*Rhodotorula*)等^[3,30]。

3.2 石油污染微生物修复机理

石油是一种十分复杂的混合物,包括直链烷烃、环状烷烃、芳香烃和非烃类物质等。微生物对石油烃类的降解过程本质上为生物氧化过程。代谢用途主要分以下3大类:①石油烃被彻底氧化分解成二氧化碳和水;②石油烃被合成为微生物自身生命物质,如核酸、蛋白质和糖类等;③石油烃被转化为其他物质,例如脂肪酸、苯酚和醇等。

石油烃类的降解主要分为以下几种:①烷烃的降解。烷烃的生物降解是一系列酶促反应过程^[11],烷烃第一步氧化为相应的伯醇,伯醇再氧化成醛,醛再转化为相应的脂肪酸,脂肪酸再进行 β -氧化后转化为乙酰辅酶A,乙酰辅酶A再进行氧化分解或其他转化。链状烷烃可经脱氢步骤转变为烯,烯再氧化为醇,醇氧化成醛,然后醛可转化为脂肪酸;此外,链状烷烃还可以通过直接氧化成烷基过氧化氢,然后经脂肪酸途径进行降解。

有些微生物可以通过亚末端氧化,形成仲醇,再转化成伯醇或脂肪酸进行氧化分解。也有些微生物将烯烃转化为不饱和脂肪酸,再通过双键位移或甲基化等,形成支链脂肪酸,进行氧化分解。②环烷烃的降解。环状烷烃的降解和链状烷烃亚末端氧化十分相似,首先氧化为环烷醇,再脱氢变为酮,而后氧化成内酯或直接开环变为脂肪酸^[3]。③苯及其衍生物的降解。苯及短链烷基苯转化为二醇中间体,再进一步转化为邻苯二酚或取代基邻苯二酚,最后变为羧酸^[3]。④多环芳烃的降解。多环芳烃具有“三致”作用,因此,人们对其降解十分重视。多环芳烃的降解,首先需要微生物产生加氧酶进行氧化定位^[3];细菌一般产生双加氧酶,两个氧原子加到苯环上,变成过氧化物,而后转化为顺式二醇,再脱掉氢变成酚;真菌一般能够产生单加氧酶,在单加氧酶的作用下,将一个氧原子直接加到苯环上,从而形成环氧化物,然后加水转化成反式二醇和酚。多环及杂环破裂是杂环化合物和多环芳烃降解的限速步骤^[31]。

4 海洋石油污染微生物修复研究进展

4.1 实验室模拟研究进展

石油烃降解菌在海洋中广泛存在。早在20世纪40年代,各国就陆续开展了石油烃的生物降解及环境修复研究。我国在20世纪70年代开始研究石油烃的生物降解,也陆续出现了大量石油烃的相关报道,近年来,实验室研究主要集中于高效降解条件的优化、高效降解菌株的筛选及降解底物范围等方面。

4.1.1 高效降解条件的优化 2011年,周瑜等^[32]使用寡营养培养基对威海金海湾油污进行富集培养,获得了6株石油降解菌,分属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和无色杆菌属(*Achromobacter*)。为了提高降解效率,他们将筛选到的细菌与分离到的微藻进行共培养,培养3d后降解效率就可提高3.79%~7.91%。数据表明,利用细菌与微藻的共生关系可以促进细菌对石油的降解,这在石油污染生物修复方面具有重要的实际应用价值。2013年,Hou等^[33]筛选到一株不动杆菌*Acinetobacter* sp. F9,并将其固定化,研究发现,固定化后的菌剂在2d后的降解率可以达到90%,而游离状态下的

菌剂在7d后的降解率还达不到90%。2014年,李馨子等^[34]筛选到一株食烷菌 *Alcanivorax* sp. 97CO-5,研究了其降解的石油效果,并进行了固定化,发现固定化后的菌剂对石油的降解率优于游离菌株。

4.1.2 高效降解菌株的筛选及降解底物范围测定 2008年,苏莹等^[35]从胜利油田污水中,以人工海水培养基进行富集培养得到一株适合海洋石油污染修复的菌株 HB-1,该菌株具有较强的原油降解能力,200 r/min 振荡培养6d后,原油的降解率可达54.74%,经16S rDNA 序列分析,鉴定该菌为不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.)。2010年,张月梅等^[36]从北极筛选到50株以石油为唯一碳源的嗜冷降解菌,其中降解效率最高的3株 BJ1、BJ9 和 BJ19 都属于假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*)。这3株菌在10~20℃的范围内均有生长,在温度为5℃时的降解率均高于30%,在最适温度下的降解率可达45.78%~60.32%。此外,这3株菌的碳源还具有广谱性,可分别以柴油、汽油、原油、海燃油、燃油、正十八烷、正二十四烷、萘和非偶氮苯等为唯一碳源生长。2014年,同济大学的王鑫等^[37]从石油污染的海水中筛选到6株石油降解菌,并对其进行了菌群构建,结果表明,混合菌群对石油的降解率明显高于单菌,且菌株间具有明显的协同作用。2015年,张爱君等^[38]从渤海筛选到一株假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas* sp.),发现在最适条件下,其石油降解率可以达到75.71%。Raghukumar 等^[39]的研究发现,海洋中的蓝细菌 *Oscillatoria salina* Biswas、*Plectonema terebrans* Bornet et Flahault 和 *Aphanocapsa* sp. 在人工海水培养的条件下可以降解原油,通过重量法和气象色谱法测得10d内石油的去除率可以达到45%~55%(包括50%的脂肪族化合物、31%的石蜡和沥青、14%的芳香烃和5%的极性化合物)。食烷菌 (*Alcanivorax*) 是海洋中烷烃降解菌的重要组成部分,Wang 等^[40]研究发现 *A. dieselolei* B5 能够很好的降解链长为C6~C36 烷烃,包括支链烷烃,并深入研究了其降解长链烷烃的代谢网络调控机制。

4.2 现场应用研究进展

随着实验室对生物修复研究的不断成熟,生物修复技术从实验室开始,已经逐步进入了实际应用阶段。1989年美国 Alaska Exxon Valdez 邮轮

泄漏,约35 500 t 原油泄入海洋,泄漏发生后,Braddock 等^[41]连续3年对泄漏点威廉王子海湾的潮间带和潮下的沉积物中烃类降解微生物数量进行检测,数据显示,油膜路径地点的烃类降解微生物的数量远远超过对照组的数量,说明烃类降解菌有快速的环境适应性及修复污染环境的能力。1997年1月,约5 000 t 石油从俄罗斯的纳霍德卡港泄漏,1 200 km 的日本海岸受到严重污染,日本组织奥本海默生物科技公司 (TerraZyme™) 进行生物修复,3周后约35%的石油得到降解^[42]。2012年,郑立等^[43]从海洋中筛选的石油降解菌剂在大连溢油污染岸滩修复实验中起到了良好的效果,在12d的潮间带油污生物修复中,喷洒菌剂处理区域的C17/藿烷和C18/藿烷降解率比对照组高40%和30%,总烷烃和总芳香烃降解率高80%和72%,说明此菌剂确实可以加快石油污染的生物修复过程。研究证明,海洋中存在着大量可降解石油的微生物,这为石油污染的生物修复治理提供了大量微生物资源。

目前,微生物修复中的最大问题是生物降解能力不够理想,为了提高微生物降解石油的能力,目前采用的方法主要有接种高效石油降解菌、添加表面活性剂和添加营养盐等方法。

①接种高效石油降解菌:通过接种高效石油降解菌改变污染区域的菌群结构,达到快速高效降解石油的目的。为了提高微生物降解石油的效率,许多学者还将菌剂进行固定化^[33,34],从而提高降解率。从目前的研究状况来看,通过接种高效石油降解菌的方法并不十分理想,因为海洋中存在的土著微生物会影响石油降解菌的活性。此外,也有学者对接种外来菌群是否会带来环境安全问题存有疑虑。

②添加表面活性剂:表面活性剂可将石油疏散开,增大微生物与石油的接触面积,从而加速微生物对石油的降解。需要注意的是,不是所有的表面活性剂都可以加速石油的降解,许多表面活性剂由于自身具有很大毒性不仅不会加速石油的降解还会造成二次污染。例如,在1967年Torrey Canyon 油轮污染事件的修复中,约10 000 t的分散剂被投入使用,造成了严重的环境破坏^[44]。

③添加营养盐:海洋受到石油污染,在碳源充足的条件下,环境中存在的石油降解菌群会大量

繁殖,但营养盐和氧气无法满足需求,因此通过投加营养盐的方法可以大大提高微生物降解石油的效率,降解效率甚至会提高几倍^[45]。营养盐类型一般分为缓释型、亲油型和水溶型3种^[46]。但由于海洋面积大,稀释能力强,所以要根据具体情况投加合适的营养盐。另外,海洋添加营养盐是否会引起环境某种程度的富营养化等问题也需要进一步探究。

5 展望

海洋石油污染呈现逐年加重的趋势。海洋中降解石油的微生物种类繁多,数量庞大。生物修复技术与化学修复、物理修复相比具有对人和环境影响小、费用低、不易引起二次污染等优势^[2]。经过多年的研究,生物修复技术在石油污染修复中逐渐成为核心技术。但它也存在着一些不足,如见效慢、易受环境影响等。石油烃的生物降解过程十分复杂,降解效率主要受石油的理化性质、微生物的种类和环境参数的影响。环境参数主要是温度、盐度、营养浓度和 pH 等,这也是生物修复技术需要克服的问题。

为解决这些问题,我们可以在以下方面进行改进:首先,在生物修复高效菌株的选择上,可以就地筛选出高效的石油降解菌,然后再投放回筛选地点进行生物修复,这样可以有效的避免外来微生物投加而引起的生态安全问题。其次,添加表面活性剂产生菌,许多微生物都可以产生表面活性剂,这些表面活性剂与化学表面活性剂相比更安全可靠,我们可以将表面活性剂产生菌和高效降解菌株合理配比后投放到治理场地,这样表面活性剂产生菌株产生的表面活性剂可以有效提高石油降解菌株与石油的接触面积,从而在不添加化学分散剂的条件下,大大提高石油的降解效率。再次,营养盐的添加:大范围的营养盐开放式的添加不仅会造成营养盐的浪费而且还会造成水体富营养化,同时也大大增加了生物修复的成本。为了解决这个问题,可将营养盐与菌株进行漂浮固定,这样不仅大大降低了营养盐的添加量,而且也不会因大范围扩散而造成浪费,又可以在相当长的时间内满足降解菌株的需要,从而更经济、有效的提高生物修复的效率。

总之,在经济快速发展的今天,海洋石油污染

变得越来越严重,采用生物修复技术进行污染物降解清除,值得我们继续深入研究。

参 考 文 献

- [1] 曲维政, 邓声贵. 灾难性的海洋石油污染[J]. 自然灾害学报, 2001, 10(1): 69-74.
- [2] Vidali M. Bioremediation. An overview[J]. Pure Appl. Chem., 2001, 73(3): 1163-1172.
- [3] 宋志文. 海洋石油污染物的微生物降解与生物修复[J]. 生态学杂志, 2004, 23(3): 99-102.
- [4] 徐金兰, 黄廷林, 唐智新, 等. 高效石油降解菌的筛选及石油污染土壤生物修复特性的研究[J]. 环境科学学报, 2007, 27(4): 622-628.
- [5] Atlas R M. Bioremediation of petroleum pollutants [J]. Internat. Biodeter. Biodegr., 1995, 35(1): 317-327.
- [6] 赵庆良, 李伟光. 特种废水处理技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2008.
- [7] Glazer A N, Nikaido H. Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [8] 许晔, 刘生瑶, 曾 铮. 浅析生物修复技术在石油污染治理中的应用[J]. 油气田环境保护, 2008, 18(4): 50-52.
- [9] Söhngen N. Benzin, petroleum, paraffinöl und paraffin als kohlenstoff-und energiequelle für mikroben[J]. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, 1913, 37: 595-609.
- [10] Prince R. Petroleum Microbiology[M]. Washington D C: American Society of Microbiology Press, 2005, 317-336.
- [11] 张士瑾, 晓 范, 马军英. 海洋生物技术和应用(第二版)[M]. 北京: 海洋生物技术出版社, 1997.
- [12] Staley J. Cycloclasticus: A genus of marine polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria [A]. In: Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology [M]. Springer, 2010, 1781-1786.
- [13] Kasai Y, Kishira H, Harayama S. Bacteria belonging to the genus *Cycloclasticus* play a primary role in the degradation of aromatic hydrocarbons released in a marine environment [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2002, 68(11): 5625-5633.
- [14] Wang B, Lai Q, Cui Z, et al. A pyrene-degrading consortium from deep-sea sediment of the West Pacific and its key member *Cycloclasticus* sp. P1[J]. Environ. Microbiol., 2008, 10(8): 1948-1963.
- [15] Shao Z, Cui Z, Dong C, et al. Analysis of a PAH-degrading bacterial population in subsurface sediments on the Mid-Atlantic Ridge[J]. Deep Sea Res. Part I: Oceanogr. Res. Papers, 2010, 57(5): 724-730.
- [16] Ma Y, Wang L, Shao Z. Pseudomonas, the dominant polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Antarctic soils and the role of large plasmids in horizontal gene transfer [J]. Environ. Microbiol., 2006, 8(3): 455-465.
- [17] Cui Z, Lai Q, Dong C, et al. Biodiversity of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from deep sea sediments of the Middle Atlantic ridge [J]. Environ. Microbiol., 2008, 10

- (8): 2138-2149.
- [18] Golyshin P N, Dos Santos V A M, Kaiser O, *et al.*. Genome sequence completed of *Alcanivorax borkumensis*, a hydrocarbon-degrading bacterium that plays a global role in oil removal from marine systems[J]. *J. Biotechnol.*, 2003, 106(2): 215-220.
- [19] Liu C, Shao Z. *Alcanivorax dieselolei* sp. nov., a novel alkane-degrading bacterium isolated from sea water and deep-sea sediment[J]. *Internat. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2005, 55(3): 1181-1186.
- [20] Qiao N, Shao Z. Isolation and characterization of a novel biosurfactant produced by hydrocarbon-degrading bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5[J]. *J. Appl. Microbiol.*, 2010, 108(4): 1207-1216.
- [21] Wu Y, Lai Q, Zhou Z, *et al.*. *Alcanivorax hongdengensis* sp. nov., an alkane-degrading bacterium isolated from surface seawater of the straits of Malacca and Singapore, producing a lipopeptide as its biosurfactant[J]. *Internat. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2009, 59(6): 1474-1479.
- [22] Timmis K N, McGenity T, Van Der Meer J, *et al.*. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* [M]. Heidelberg: Springer Berlin, 2010, 1749-1754.
- [23] Hazen T C, Dubinsky E A, DeSantis T Z, *et al.*. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria[J]. *Science*, 2010, 330(6001): 204-208.
- [24] Cao J, Lai Q, Yuan J, *et al.*. Genomic and metabolic analysis of fluoranthene degradation pathway in *Celeribacter indicus* P73T[J]. *Sci. Rep.*, 2015, doi: 10.1038/srep07741.
- [25] Fedorak P, Semple K, Westlake D. Oil-degrading capabilities of yeasts and fungi isolated from coastal marine environments [J]. *Can. J. Microbiol.*, 1984, 30(5): 565-571.
- [26] Cerniglia C, Perry J. Crude oil degradation by microorganisms isolated from the marine environment[J]. *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiol.*, 1973, 13(4): 299-306.
- [27] Oswal N, Sarma P, Zinjarde S, *et al.*. Palm oil mill effluent treatment by a tropical marine yeast[J]. *Bioresour. Technol.*, 2002, 85(1): 35-37.
- [28] Ahearn D G, Meyers S P. Fungal degradation of oil in the marine environment [A]. In: Gareth-Jones E B. *Recent Advances in Aquatic Mycology* [M]. New York: Jhon Wiley & Sons, 1976, 125-133.
- [29] Okpokwasili G, Amanchukwu S. Petroleum hydrocarbon degradation by *Candida* species[J]. *Environ. Internat.*, 1988, 14(3): 243-247.
- [30] Margesin R, Gander S, Zacke G, *et al.*. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of cold-adapted bacteria and yeasts [J]. *Extremophiles*, 2003, 7(6): 451-458.
- [31] 许俊强, 郭芳, 全学军, 等. 焦化废水中的杂环化合物及多环芳烃降解的研究进展[J]. *化工进展*, 2008, 27(7): 973-976.
- [32] 周瑜, 柴迎梅, 杜宗军, 等. 海洋石油降解菌的分离、鉴定和与微藻共培养[J]. *海洋环境科学*, 2011, 30(2): 230-233.
- [33] Hou D, Shen X, Luo Q, *et al.*. Enhancement of the diesel oil degradation ability of a marine bacterial strain by immobilization on a novel compound carrier material[J]. *Marine Poll. Bull.*, 2013, 67(1): 146-151.
- [34] 李馨子, 高伟, 崔志松, 等. 海洋石油降解菌 *Alcanivorax* sp. 97CO-5 的固定化及其石油降解效果[J]. *海洋环境科学*, 2014, 33(3): 383-388.
- [35] 苏莹, 陈莉, 汪辉, 等. 海洋石油降解菌的筛选与降解特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(4): 518-522.
- [36] 张月梅, 祖国仁, 那广水, 等. 北极耐冷石油降解菌的筛选、鉴定及其碳源利用广谱性[J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(2): 216-220.
- [37] 王鑫, 王学江, 刘免, 等. 高效石油降解菌群构建及降解性能[J]. *海洋环境科学*, 2014, 33(4): 576-579.
- [38] 张爱君, 郝建安, 杨波, 等. 海洋石油降解菌的筛选、鉴定及降解活性[J]. *化学工业与工程*, 2015, 32(1): 31-36.
- [39] Raghukumar C, Vipparty V, David J, *et al.*. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 57(3): 433-436.
- [40] Wang W, Shao Z. The long-chain alkane metabolism network of *Alcanivorax dieselolei* [J]. *Nat. Commun.*, 2014, 5, 5755.
- [41] Braddock J F, Lindstrom J E, Brown E J. Distribution of hydrocarbon-degrading microorganisms in sediments from Prince William Sound, Alaska, following the Exxon Valdez oil spill [J]. *Marine Poll. Bull.*, 1995, 30(2): 125-132.
- [42] Mi T H, Tsutsumi H K, Kono M. Bioremediation on the shore after an oil spill from the Nakhodka in the Sea of Japan. I. chemistry and characteristics of heavy oil loaded on the Nakhodka and biodegradation tests by a bioremediation agent with microbiological cultures in the laboratory [J]. *Marine Poll. Bull.*, 2000, 40(4): 308-314.
- [43] 郑立, 崔志松, 高伟, 等. 海洋石油降解菌剂在大连溢油污染岸滩修复中的应用研究[J]. *海洋学报*, 2012, 34(3): 163-172.
- [44] 刘金累, 厦文香, 赵亮, 等. 海洋石油污染及其生物修复[J]. *海洋湖沼通报*, 2006, 03: 48-53.
- [45] Prince R C, Bragg J R. Shoreline bioremediation following the Exxon Valdez oil spill in Alaska [J]. *Bioremed. J.*, 1997, 1(2): 97-104.
- [46] 毛天宇, 刘宪斌, 李亚娟. 海洋石油污染生物修复技术[J]. *海洋环境保护*, 2008, 3: 12-13.