

芘高效降解菌的分离鉴定及其降解特性*

钟 鸣** 张佳庆 吴小霞 杨 峰 马 慧 陈丽静

(沈阳农业大学辽宁省农业生物技术重点实验室, 沈阳 110161)

摘 要 以芘为唯一碳源,采用富集培养方法,从沈抚灌区石油污染土壤中分离得到一株芘降解菌 ZQ₅。根据形态学观察、生理生化鉴定和 16S rDNA 序列分析结果,将菌株 ZQ₅ 鉴定为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp.)。采用摇瓶振荡培养方法研究该菌株降解芘的特性及培养条件对降解效能的影响。结果表明:菌株 ZQ₅ 在 30 ℃ 振荡培养 10 d 后,对 100 mg · L⁻¹ 的芘降解率为 91.2%,加入水杨酸(100 mg · L⁻¹)作为共代谢底物可以提高菌株 ZQ₅ 对芘的降解率。当培养基 pH 为 7~8、盐浓度不高于 2% 时,有利于菌株 ZQ₅ 降解效能的发挥。

关键词 芘 生物降解 多环芳烃 寡养单胞菌

文章编号 1001-9332(2010)05-1334-05 **中图分类号** X172 **文献标识码** A

Isolation, identification, and degrading characteristics of a high-efficient pyrene-degrading bacterial strain. ZHONG Ming, ZHANG Jia-qing, WU Xiao-xia, YANG Feng, MA Hui, CHEN Li-jing (Liaoning Province Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2010, 21(5): 1334-1338.

Abstract: By using selective enrichment culture with pyrene as the sole carbon source, a pyrene-degrading bacterial strain ZQ₅ was isolated from the oil-contaminated soil in Shenfu Irrigation Area. The strain was identified as *Stenotrophomonas* sp., based on its morphological, physiological, and biochemical characteristics, and similarity identification of 16S rDNA sequence. The pyrene-degrading characteristics and the effects of culture condition on the degrading efficiency of the strain were investigated by shaking flask culture. After shaking culture with the initial concentration of pyrene being 100 mg · L⁻¹ at 30 ℃ for 10 days, the degradation rate of pyrene was 91.2%. Adding 100 mg · L⁻¹ of alicyclic acid into culture medium could enhance the degrading efficiency of the strain. For the degradation of pyrene by ZQ₅, the optimal medium pH was 7-8, and the optimal salt concentration was lower than 2%.

Key words: pyrene; biodegradation; PAHs; *Stenotrophomonas* sp.

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类含有 2 个或 2 个以上苯环的稠环化合物,主要来源于化石燃料的生产加工、不完全燃烧和石油的泄漏^[1]。近年来随着化石燃料的大规模开发使用,环境中的 PAHs 呈不断增多的趋势。PAHs 具有毒性、致癌性及致畸诱变作用^[2],对人类健康和生态环境具有潜在的生态风险^[3-5]。自然条件下 PAHs 的水解和光解速率都非常缓慢,微生物降解成为它们从环境中消失的主要途径^[6]。因此,高效降解菌的筛选成为修复 PAHs 污染生态系统的关键环节之一^[7-8]。

芘作为 PAHs 中 4 个苯环的代表物,在环境中广泛存在,是检测 PAHs 污染的指示物^[9-10]。本研究以采自沈抚灌区石油污染土样作为供试材料,利用芘为唯一碳源驯化筛选出一株高效降解芘的菌株 ZQ₅,对其进行形态特征、生理生化特征和 16S rDNA BLAST 分析鉴定。测定菌株 ZQ₅ 对不同初始浓度芘的降解率,并研究培养条件对菌株生长和芘降解效能的影响,以期为治理 PAHs 污染提供适宜材料和理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自沈抚石油灌区污染土壤。pH 值为 7.4,有机质含量为(23.9±0.3) g · kg⁻¹,速效氮、

* 中国科学院陆地生态过程重点实验室开放课题项目和辽宁省自然科学基金项目(20062111)资助。

** 通讯作者。E-mail: mingzh1@sina.com

2009-11-23 收稿,2010-03-10 接受。

磷、钾含量分别为 $(253.4 \pm 0.2) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(11.4 \pm 0.6) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(86.9 \pm 0.5) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 多环芳烃含量 $(2.99 \pm 0.84) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [11].

主要试剂包括多环芳烃芘 (pyrene, 纯度为 98%), 为 Fluka 公司产品. 甲醇 (色谱纯) 及环己烷 (分析纯).

液体筛选培养基为无机盐 MS 液体培养基 [12].

1.2 菌株筛选

选择长年采用抚顺石油二厂污水灌溉的地区, 利用对角线采样法 [13] 采集土样. 取 1 g 土样均匀地分散在 10 ml 无菌水中制成悬液, 以 15% 的接种量接种于以芘 ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 为唯一碳源的液体筛选培养基中, $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 好氧条件下 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 3~4 d 后, 吸取 1 ml 转接至芘浓度为 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 新鲜液体筛选培养基, 3 d 后再转接至芘浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基连续富集. 用接种环蘸取少许富集培养液, 涂于固体筛选培养基中, $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 4~5 d 形成单菌落. 挑取生长迅速、丰满、边缘整齐的菌落接入液体筛选培养基中, 摇瓶复筛, 得到目的菌株.

1.3 降解率的测定

配置芘浓度为 100、150 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MS 液体培养基, 分别加入菌悬液后混匀, 使细胞密度为 $1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$, 于 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养.

培养过程中每天取样 1 次, 3 次重复, 分别用环己烷萃取 3 次, 定容至 25 ml 并经滤膜过滤后用安捷伦 1100 型液相色谱仪进行高效液相色谱分析. 流动相为 78% 色谱纯甲醇水溶液, 流速为 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 分离柱为 C18 反相色谱柱, 柱温 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量为 $20 \text{ }\mu\text{l}$, 检测波长 254 nm [11].

1.4 芘降解培养条件试验

将菌株 ZQ₅ 分别接种于盐浓度为 2%、5%、8%, pH 为 4、6、7、8、10, 以及分别添加了 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葡萄糖、水杨酸的培养基中, 芘初始浓度均为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 振荡培养 7 d, 测定在不同培养条件下培养基中芘浓度和细菌数量 [14].

1.5 菌种鉴定

1.5.1 染色、形态观察及生理生化鉴定 将活化菌种在 LB 平板上划线接种, $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中倒置培养 2 d, 观察菌落形态, 测量菌落大小并对其进行革兰氏染色.

采用甲基红试验 (M. R)、接触酶检测、V-P 测定、明胶液化试验、耐盐性测定及碳源利用方式对菌

株鉴定 [15].

1.5.2 16S rDNA 序列分析法鉴定 用常规方法提取菌株总 DNA [16], 以菌株的总 DNA 为模板, P₁ 和 P₂ 通用引物对菌株的 16S rRNA 基因进行扩增: P₁: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', P₂: 5'-AAG-GAGGTGATCCAGCCGC-3'. 反应条件: $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 4 min, $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min, $55 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 min, 29 个循环, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min. 在 $25 \text{ }\mu\text{l}$ 的反应体系中加入 $12.3 \text{ }\mu\text{l}$ 超纯水 (ddH_2O), $2.5 \text{ }\mu\text{l}$ $10 \times \text{PCR}$ 缓冲液, $2 \text{ }\mu\text{l}$ dNTP ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), $2 \text{ }\mu\text{l}$ MgCl_2 ($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 引物 ($0.1 \text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 $2 \text{ }\mu\text{l}$, $2 \text{ }\mu\text{l}$ 模板 ($20 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$), $0.2 \text{ }\mu\text{l}$ Taq 酶 ($5 \text{ U} \cdot \mu\text{l}^{-1}$). 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 并用北京天根生化科技公司的 DNA 凝胶回收试剂盒回收目的条带. 测序由北京天根生化科技有限公司完成.

1.5.3 系统发育分析 将测序结果用 BLAST 软件与 GenBank 中 16S rRNA 基因序列进行相似性比较, 获得相关菌株的序列, 利用 MEGA 4.0 软件构建系统发育树, 采用 Neighbor-Joining 法进行系统发育分析 [17].

2 结果与分析

2.1 菌种的分离纯化及其降解率

将富集培养液在 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 芘的 MS 固体培养基平板上多次划线对菌种进行分离获得 7 种纯菌分别命名为 ZQ₁、ZQ₂、ZQ₃、ZQ₄、ZQ₅、ZQ₆、ZQ₇.

从图 1 可以看出, ZQ₁、ZQ₂、ZQ₃、ZQ₄、ZQ₅、ZQ₆ 和 ZQ₇ 的降解率分别为 44.67%、57.34%、39.33%、49.34%、83.25%、60.13% 和 46.27%. 其中 ZQ₅ 为高效降解菌, 被确定为目的菌株.

将菌株 ZQ₅ 活化并配制成菌悬液后接种到含有不同浓度芘的 MS 液体培养基中, 测定降解率与 OD₆₀₀ 值 (图 2). 从图 2 可以看出, 芘的降解率与菌

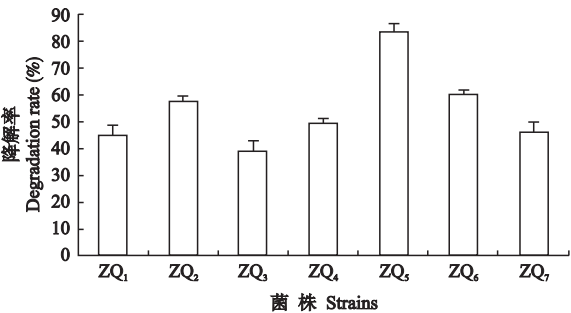


图 1 7 种菌株的芘降解率
Fig. 1 Degradation rate of pyrene by seven strains.

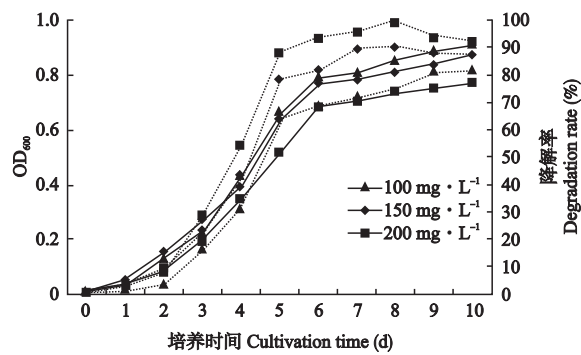


图2 菌株ZQ₅在不同芘浓度下的生长和降解曲线
Fig.2 Growth and degradation curves of strain ZQ₅ under different pyrene concentrations.
虚线为生长曲线,实线为降解曲线 Dashed line was growth curve, and real line was degradation curve.

株ZQ₅生长量的变化趋势基本吻合,且芘浓度越高,菌株ZQ₅生长量越大,符合微生物生长与代谢底物之间关系的一般规律,而降解率随芘浓度升高有所降低,在100 mg·L⁻¹芘浓度下降解率高达91.2%,在200 mg·L⁻¹时降解率降低较明显。

2.2 培养条件对菌株ZQ₅芘降解能力的影响

2.2.1 共代谢底物的影响 高分子量PAHs很难降解,微生物常以共代谢方式进行降解.常见的共代谢底物是和PAHs本身结构相似的有机物或是其中间代谢产物.本研究选取葡萄糖和水杨酸作为外加碳源,结果见表1.从表1可以看出,水杨酸作为共代谢底物提高了芘的降解率,而加入葡萄糖的情况下,菌株降解芘的效能降低.这是因为,芘降解酶属诱导酶,当加入速效碳源葡萄糖时,细菌大量利用速效碳源,抑制了其芘降解基因的表达;而水杨酸是芘的中间代谢产物之一,能诱导相关酶的表达,从而可以促进芘的降解。

2.2.2 pH值的影响 从表2可以看出,菌株ZQ₅在酸性环境下生长困难,在弱酸性环境中生长受到一定程度的抑制,在碱性环境下生长繁殖受影响较少.对沈抚污灌区干渠及支渠上、中、下游地区13个采样点pH值的调查发现,污染土壤为弱碱性^[18],表

表1 不同共代谢底物对芘降解的影响
Tab.1 Effect of different co-metabolism substrates on pyrene degradation by strain ZQ₅

共代谢底物 Co-metabolism substrate	降解率 Degradation rate (%)	细胞数量 Cell number (×10 ⁸ CFU·ml ⁻¹)
对照 CK	72.43±4.26	15.9
葡萄糖 Glucose	61.82±2.41 *	18.7
水杨酸 Salicylic acid	84.37±1.12	17.4 *

* P<0.05.

表2 不同pH值对芘降解的影响
Tab.2 Effect of different pH on pyrene degradation by strain ZQ₅

pH	降解率 Degradation rate (%)	细胞数量 Cell number (×10 ⁸ CFU·ml ⁻¹)
对照 CK (pH=7)	72.43±4.26	15.9
4	9.87±0.96	0.96
6	43.25±5.12	9.74
8	63.74±8.45	11.5
10	31.49±2.53	4.38

明菌株ZQ₅具有原位修复的潜力。

2.2.3 盐浓度的影响 由表3可知,盐浓度低于2%时,菌株ZQ₅对芘的降解效能受盐浓度的影响较小.当盐浓度达到5%时,菌株ZQ₅的生长受到抑制,降解效能降低.随着盐浓度的进一步提高,抑制作用明显,菌株ZQ₅在8%盐浓度下生长困难.由于沈抚污灌区土壤污染不只是多环芳烃污染,还有盐渍化、碱化、重金属等^[19],因此土壤本身的盐浓度会对菌ZQ₅的多环芳烃降解效果产生一定的影响。

2.3 菌种鉴定

2.3.1 染色、形态学鉴定 菌株ZQ₅在LB固体培养基上呈现乳白色菌落,边缘光滑,无夹膜,好氧,最适温度26℃~32℃.菌落圆形,呈针尖状,直径0.5~1 mm,中央突起.菌落与培养基紧贴,湿润、不透明,不易挑取.革兰氏染色反应为阴性。

2.3.2 生理生化特征 根据表4所示形态特征、生理生化特征初步判断菌株ZQ₅属于寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp.)。

2.3.3 16S rDNA序列分析法鉴定结果 以菌株ZQ₅总DNA为模板,用细菌16S rRNA基因的通用引物P₁和P₂进行PCR扩增,产物经检测、回收、测序确定为1520 bp的片段.将测序结果用BLAST软件与GenBank中的序列进行比较发现,ZQ₅菌株16S rRNA序列与寡养单胞菌属的*Stenotrophomonas* sp.

表3 不同盐浓度对芘降解的影响
Tab.1 Effect of different salt concentrations on pyrene degradation by strain ZQ₅

盐浓度 Salinity	降解率 Degradation rate (%)	细胞数量 Cell number (×10 ⁸ CFU·ml ⁻¹)
对照 CK(0.2%)	72.43±4.26	15.9
2%	58.97±3.78	12.4
5%	26.45±2.59	2.33
8%	6.32±0.87	0.0107

YC-1 [DQ537219.1]、*Stenotrophomonas* sp. LZ-1 [DQ784545.1]、*Stenotrophomonas* sp. Dsp-4 [DQ482654.1] 等的 16S rRNA 序列相似性都高达 99% ,与 *Stenotrophomonas* sp. FG-6 [EF017810.1]、微嗜酸寡养单胞菌 (*S. acidaminiphila* AMX 19 [NR025104.1])、嗜麦芽寡养单胞菌 (*S. maltophilia* IdR [EU442189.1]) 等的 16S rRNA 序列相似性为 98% . 基于 16S rRNA 序列的 ZQ₅ 菌株与寡养单胞菌各菌株之间的系统发育树 (图 3) 可知,菌株 ZQ₅ 在分子系统发育分类学上属于寡养单胞菌,这与形态及生理生化鉴定结果相吻合.

表 4 菌株 ZQ₅ 的生理生化特征
Tab. 4 Physiological and biochemical characteristics of strain ZQ₅

项目 Item	菌株 ZQ ₅ Strain ZQ ₅	项目 Item	菌株 ZQ ₅ Strain ZQ ₅
甲基红试验 Methyl red test	-	碳源利用 Carbon utilization	
乙酰甲基甲醇试验 Voges-Proskauer test	+	葡萄糖 Glucose	+
接触酶 Scavenger enzyme	+	蔗糖 Sucrose	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	+	酪氨酸 Tyrosine	+
耐盐性 Salt tolerance	5% - 10% -	谷氨酸 Glutamic acid	+
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	甘露醇 Mannitol	+
		淀粉水解 Amylolysis	+

+: 阳性 Positive; -: 阴性 Negative.

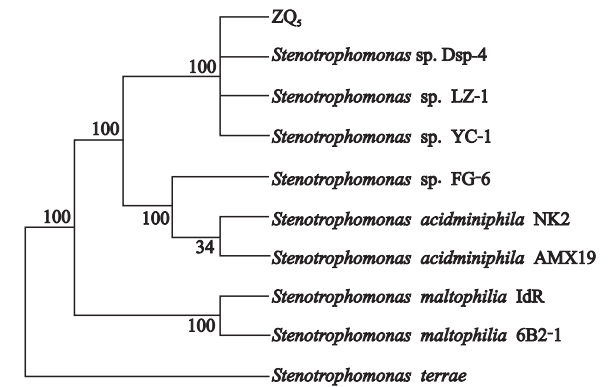


图 3 基于 16S rDNA 序列的 ZQ₅ 菌株与寡养单胞菌菌株系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain ZQ₅ and strains of *Stenotrophomonas* based on 16S rDNA sequence.

结点处数字表示 bootstrap 值 Numbers at the nodes indicated the percentages of bootstrap sampling.

3 结 语

沈抚灌区是我国最大的石油污水灌区之一. 长期的污水灌溉使土壤受到严重的 PAHs 污染,因此灌区 PAHs 污染的控制和修复是一个重要的研究课题. 获得高效降解 PAHs 的优势微生物是进行污染环境生物修复的首要条件之一^[20],是深入开展理论研究和实践应用的基础^[21]. 研究表明,PAHs 污染土壤中微生物降解 PAHs 的能力远远高于未受污染的土壤^[22],本研究从沈抚石油灌区污染土壤中分离得到一株茈高效降解菌株 ZQ₅,鉴定为寡养单胞菌,具有原位修复的潜力.

目前已报道的能够降解茈的微生物种属分布广泛,典型的有假单胞菌属 (*Pseudomonos*)^[23]、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonos*)^[24]、黄杆菌 (*Flavobacterium*)^[25]、黑曲霉 (*Aspergillusniger*)^[26]、黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaet chrysosporium*)^[20] 等. 已有报道寡养单胞菌属的微生物具有一定的降解有机污染物的能力,其中嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 能降解阿特拉津和聚丙烯乙二醇^[27],微嗜酸寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas acidaminiphila*) 能降解菲^[28]. 本研究证明,寡养单胞菌属细菌 ZQ₅ 具有高效降解茈的能力,可在以茈为唯一碳源、能源的培养基上迅速生长,较快适应降解环境,且菌体数量在一定范围内能随茈浓度的增高而增加,当茈浓度为 100 mg · L⁻¹ 时,降解能力发挥比较充分. 茈降解菌株 ZQ₅ 的发现丰富了多环芳烃茈的微生物降解种群,对其培养条件的研究也为进一步原位修复土壤多环芳烃污染奠定了基础.

参考文献

[1] Harayama S. Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. *Current Opinion in Biotechnology*, 1997, **8**: 268-273

[2] Hou S-Y (侯树宇), Zhang Q-M (张清敏), Yu H-C (余海晨), et al. Optimized cultivation of high-efficient degradation bacterial strains and their gradation ability towards pyrene. *Acta Scientiarum Universitatis Nankaiensis* (南开大学学报), 2006, **39** (2): 71-74 (in Chinese)

[3] Zhang J (张 杰), Liu Y-S (刘永生), Meng L (孟玲), et al. Isolation and characteristics of PAHs-degrading strains. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2003, **14** (10): 1783-1786 (in Chinese)

[4] Tao X-Q (陶雪琴), Lu G-N (卢桂宁), Dang Z (党志), et al. Characterization of biodegradation of phenanthrene and other aromatic substrates by *Sphin-*

- gomonas* sp. GY2B. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2007, **26**(2): 548–553 (in Chinese)
- [5] Watanabe K, Kodama Y, Syutsubo K. Molecular characterization of bacterial populations in petroleum-contaminated groundwater discharged from underground crude oil storage cavities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 4803–4809
 - [6] Heitkamp MA, Cerniglia CE. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a *Mycobacterium* sp. in microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989, **55**: 1968–1973
 - [7] Cheng G-L (程国玲), Li P-J (李培军). Phytoremediation and microbial remediation of petroleum contaminated soil. *Chinese Journal of Environmental Engineering* (环境工程学报), 2007, **1**(6): 91–96 (in Chinese)
 - [8] Dean-Ross D, Moody J, Cerniglia CE. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **41**: 1–7
 - [9] Gong Z-Q (巩宗强), Li P-J (李培军), Wang X (王新), *et al.* Co-metabolic degradation of pyrene in soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2001, **12**(3): 447–450 (in Chinese)
 - [10] Ravelet C, Krivobok S, Sage L, *et al.* Biodegradation of pyrene by sediment fungi. *Chemosphere*, 2000, **40**: 557–563
 - [11] Wang Y-F (王元芬), Zhang Y (张颖), Ren R-X (任瑞霞), *et al.* Identification and characterization of highly efficient pyrene-degrading bacteria. *Biotechnology* (生物技术), 2009, **19**(1): 58–60 (in Chinese)
 - [12] Zhong M (钟鸣), Ma Y-J (马英杰). The optimization of cultural conditions for one pyrene-degrading strain and study on its degrading characteristics. *Modern Agricultural Sciences* (现代农业科学), 2008, **15**(3): 37–39 (in Chinese)
 - [13] Xi T-K (奚廷孔), Zhang Y-X (张艳新). Collection and treatment technology and soil samples. *Journal of Guangxi Agriculture* (广西农学报), 2007, **22**(3): 36–38 (in Chinese)
 - [14] Zhou L (周乐), Sheng X-F (盛下放). Screening and the degradation conditions of pyrene-degrading bacterium. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2006, **25**(6): 1504–1507 (in Chinese)
 - [15] Zhong M (钟鸣), Li L (李丽). Study on characteristics of bacillus subtilis strain II for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Henan Agricultural Sciences* (河南农业科学), 2007, **4**: 62–64 (in Chinese)
 - [16] Chen X-Z (陈秀珠), Hu H-J (胡海菁), Jia S-F (贾士芳), *et al.* Construction of genomic library from *Lactococcus lactis* AL2 and isolation entire nisin biosynthesis gene cluster. *Acta Microbiologica Sinica* (微生物学报), 2000, **40**(5): 465–469 (in Chinese)
 - [17] Mao J (毛健), Luo Y-M (骆永明), Teng Y (滕应), *et al.* Isolation and characterization of a high-molecular-weight (HMW) PAHs degrading bacterial strain. *Acta Microbiologica Sinica* (微生物学报), 2008, **35**(7): 1011–1015 (in Chinese)
 - [18] Li H (李慧), Cheng G-X (陈冠雄). Impacts of petroleum-containing waste water irrigation on microbial population and enzyme activities in paddy soil of Shenfu irrigation area. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16**(7): 1355–1358 (in Chinese)
 - [19] Zhang H-R (张海荣), Li X-H (李雪华), Xu H-X (许华夏). Application of mycorrhizal bioremediation technique to Shenfu sewage irrigated area. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control* (环境污染治理技术与设备), 2002, **7**(3): 52–55 (in Chinese)
 - [20] Tao XQ, Lu GN, Dang Z, *et al.* A phenanthrene degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils. *Process Biochemistry*, 2007, **42**: 401–408
 - [21] Zou D-X (邹德勋), Luo Y-M (骆永明), Xu F-H (徐凤花), *et al.* Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil environment and combined bioremediation of PAHs contaminated soils. *Soils* (土壤), 2007, **39**(3): 334–340 (in Chinese)
 - [22] Zhou Q-X (周启星). Technological reforcer and prospect of contaminated soil remediation. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control* (环境污染治理技术与设备), 2002, **3**(8): 36–40 (in Chinese)
 - [23] Xu H (徐虹), Zhang J (章军), Shao Z-Z (邵宗泽). 2004. Isolation and identification of PAH-degrading strains and their degradation capability. *Marine Environmental Science* (海洋环境科学), **23**(3): 61–64 (in Chinese)
 - [24] Zhang J (张杰), Liu Y-S (刘永生), Feng J-X (冯家勋), *et al.* Isolation and identification of PAHs-degrading strain ZL₅ and its degradative plasmid. *Chinese Journal Applied & Environmental Biology* (应用与环境微生物学报), 2003, **9**(4): 433–435 (in Chinese)
 - [25] Su D (苏丹), Li P-J (李培军), Wang X (王鑫), *et al.* Degradation and kinetics of pyrene and benzo[a] pyrene by three bacteria in contaminated soil. *Environmental Science* (环境科学), 2007, **28**(4): 913–917 (in Chinese)
 - [26] Clemente AR, Durrant LR. 2004. Biodegradation of PAHs in soil by two deuteromycete fungi. *Soil & Sediment Contamination*, **13**: 162–163
 - [27] Shinjiro T, Naoko K, Fusako K, *et al.* Involvement of a quinoprotein (PQQ-containing) alcohol dehydrogenase in the degradation of polypropylene glycols by the bacterium *Stenotrophomonas maltophilia*. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, **218**: 345–349
 - [28] Andreoni V, Cavalca L, Rao MA, *et al.* Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, 2004, **57**: 401–412

作者简介 钟鸣,女,1971年生,副教授.主要从事污染生物修复研究,发表论文30余篇. E-mail: mingzh1@sina.com

责任编辑 肖红