

专论与综述

微生物降解硝基芳香烃及其在环境保护中的应用

尹萍 杨彦希

(中国科学院微生物研究所 北京 100080 E-mail: zbc-bpf@mail.cashq.ac.cn)

摘要 综述降解硝基芳香烃的微生物类群、代谢途径、遗传操作及其在环境保护中的应用等方面的研究概况。**关键词** 硝基芳香烃, 降解, 微生物。

Degradation of Nitroaromatic Compounds by Microorganisms and Their Application to Environment Protection

Yin Ping Yang Yanxi

(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080 E-mail: zbc-bpf@mail.cashq.ac.cn)

Abstract General situation of research on degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms was reviewed in four aspects including the kinds of microorganisms degrading nitroaromatic compounds, degradative pathways, genetic manipulation and their application to environment protection in this paper.**Keywords** nitroaromatic compounds, degradation, microorganisms.

硝基芳香烃如硝基苯、硝基酚、硝基甲苯、硝基苯甲酸盐及多硝基芳香类等, 是工业上的一类重要硝化化合物, 广泛应用于生产农药、染料、炸药、医药、多聚体及其他化工产品。随着这些产品的制造和使用, 硝基芳香烃也多途径地进入环境中, 污染环境。由于其对生物和人体具有高毒性, 且比芳香烃更难生物降解, 因此, 对其在环境中的残留和积累, 以及如何减轻和消除这类化合物对环境的污染, 日益引起人们的关注。然而自然界中存在的微生物, 种类繁多、适应性强、具有分解多种多样人工合成的有机物的功能。对于减少污染净化环境具有很大的潜力。关于微生物降解硝基芳香烃的研究, 近年来已逐渐引起人们的兴趣, 已有不少报道, 并已取得一些进展。

1 降解硝基芳香烃的新微生物资源

从不完全的国外资料看, 70年代以来已报道了18个属的几十株细菌能降解(包括完全矿化和不完全降解或称生物转化)硝基芳香烃, 归纳列于表1。

在国内笔者等曾在TNT污染的土壤中分离筛选到6个属包括: 芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、克氏杆菌属(*Klebsiella*)和埃希氏菌属共47株细菌能转

化TNT^[29]。并对其中一株柠檬酸细菌的TNT降解酶的性质进行了研究^[30]。放线菌方面国外报道诺卡氏菌属(*Nocardia*)的几个种能降解硝基酚^[24]和硝基苯甲酸^[31], 以及链霉菌属(*Streptomyces*)的16株菌能转化TNT^[32]。近年来陆续发现了降解硝基芳香烃的丝状真菌和酵母菌。如降解木质素的*Phanerochaete chrysosporium*能降解DNT^[33]和TNT^[34]。

笔者等从TNT污染的土壤中分离到13株酵母, 分别属汉逊酵母属(*Hansenula*)和假丝酵母属(*Candida*)及4株白地霉(*Geotrichum candidum*)能降解TNT^[35]。Hofrichter 1993年报道青霉菌属菌株(*Penicillium* sp.)Bi 7/2能降解3种硝基苯酚^[36]。笔者等分离的一株高效脱酚菌麦芽糖假丝酵母(*Candida maltae*)能降解5种硝基酚^[37]。最近国外报道一些更复杂的取代硝基芳香烃也能被微生物降解, 如Drzyzga报道分离到3株硫酸盐还原菌能降解硝基二苯胺^[38]。Hammill报道一株双酶梭菌(*Clostridium bif fermentans*)能降解除草剂Dinoseb(2-仲丁基-4,6-二硝基苯酚)^[39]。总之, 自然界中能降解硝基芳香烃的微

* 尹萍:女, 52岁, 现在中国科学院计划财务局工作
收稿日期: 1998-07-03

生物资源正在不断被发现, 这不仅为研究其代谢途径及遗传调控等基础理论提供了丰富的菌种, 而且这些微生物资源也可能应用于生物治理硝基芳香烃的污染, 对净化环境起到一定的作用。

表 1 降解硝基芳香烃的细菌(国外不完全资料)¹⁾

细菌属名	降解底物
假单胞菌属菌株 (<i>Pseudomonas</i> spp.)	硝基酚类 ^[1-4] (4-NP, 2-NP, 3-NP, 2, 6-DNP) 硝基苯 ^[5] , 硝基甲苯类 ^[6-14] (2-NT, 4-NT, 2, 4-DNT, 2, 6-DNT, TNT, 4-NBA) 4-NP ^[15]
摩氏杆菌属菌株 (<i>Moraxella</i> sp.)	硝基酚类(2-NP, 3-NP, 4-NP, 2, 4-DNP) ^[16]
螺旋盐杆菌属菌株 (<i>Sporohalobacter</i> sp.)	2, 4-DNP ^[18] , 2, 4, 6-TNP ^[17] , 1, 3-二硝基苯 ^[19]
红球菌属菌株 (<i>Rhodococcus</i> spp.)	硝基酚类 ^[20] (2-NP, 4-NP, 2, 4-DNP)
红细菌属菌株 (<i>Rhodobacter</i> sp.)	2, 6-DNP ^[21]
产碱杆菌属菌株 (<i>Alcaligenes</i> sp.)	4-NBA ^[22] , 硝基苯 ^[23]
丛毛单胞菌属菌株 (<i>Comamonas</i> spp.)	4-NP ^[24]
节杆菌属菌株 (<i>Arthrobacter</i> sp.)	TNT ^[8]
韦荣氏球菌属菌株 (<i>Veillonella</i> sp.)	TNT 及有关化合物, 4-NBA ^[8]
埃希氏菌属菌株 (<i>Escherichia</i> sp.)	TNT ^[25, 26]
分枝杆菌属菌株 (<i>Mycobacterium</i> spp.)	硝基酚类 ^[28] (3-NP, 4-NP, 2, 4-DNP), 硝基甲苯类 ^[27] (2, 4-DNT, 2, 6-DNT, TNT, 4-NBA)
脱硫弧菌属菌株 (<i>Desulfovibrio</i> spp.)	4-NP ^[28]
脱硫球菌属菌株 (<i>Desulfovoccus</i> sp.)	硝基酚类(3-NP, 4-NP, 2, 4-DNP) ^[28] , TNT 及有关化合物 ^[8] , 4-NBA ^[28]
梭菌属菌株 (<i>Clostridium</i> sp.)	甲烷杆菌属菌株 (<i>Methanobacterium</i> sp.)
甲烷八叠球菌属菌株 (<i>Methanoscincus</i> sp.)	硝基酚类 ^[28] (3-NP, 4-NP, 2, 4-DNP)
产甲烷菌属菌株 (<i>Methanogenium</i> sp.)	4-NBA, 4-硝基苯胺
甲烷螺菌属菌株 (<i>Methanospirillum</i> sp.)	

1) NT(硝基甲苯), DNT(二硝基甲苯), TNT(2, 4, 6-三硝基甲苯), NP(硝基酚), DNP(二硝基酚), TNP(2, 4, 6-三硝基酚), NBA(硝基苯甲酸盐)

2 代谢途径

为了说明硝基芳香烃在污染环境中或生物治理系统中被微生物降解的去毒机理, 已有众多的研究者采用不同的微生物研究其对多种不同硝基芳香烃的代谢途径。其主要环节是苯环上硝基的变化及苯环能否裂解。

2.1 氧化分解代谢途径

(1) 由单或双加氧酶作用脱除苯环上的硝基, 形成相应的多元酚, 进一步由加氧酶作用开环降解, 脱除的硝基形成亚硝基盐, 被微生物利用作为氮源。如丛毛单胞菌株 JS765 降解硝基苯^[23]。

其它如一株摩氏杆菌^[40]、节杆菌 TW17 和诺卡氏菌 TW12^[24]降解对硝基苯酚, 一株恶臭假单胞菌降解邻硝基酚^[2], 假单胞菌 JS42 降解 2-硝基甲苯^[11], 假单胞菌 DNT 降解 2, 4-二硝基甲苯^[9, 41]以及产碱杆菌 JMP134 降解 2, 6-二硝基酚^[21]等也都属此类型氧化脱硝基降解途径。

(2) 加氧酶作用于苯环形成硝基邻苯二酚, 进一步开环降解。如 Haigler 报道先用含甲苯的培养基培养恶臭假单胞菌诱导产生甲苯 2, 3-双加氧酶, 再用硝基苯培养, 硝基苯被转化成 3 或 4-硝基邻苯二酚进一步开环降解^[42], 但未鉴定其开环后的产物。

2.2 由硝基还原开始的代谢途径

(1) 苯环上的硝基经硝基还原酶作用还原成羟氨基, 随后由羟氨基裂解酶作用水解脱氨基, 形成相应的二羟基芳香化合物开环降解, 丛毛单胞菌 NBA-10 降解 4-硝基苯酸盐^[22]以及假单胞菌株 4NT 降解 4-硝基甲苯^[10]和 4-硝基苯酸盐经这一途径。

(2) 苯环上硝基经还原酶作用, 经亚硝基、羟氨基还原成氨基生成芳香胺。芳香胺在有氧条件下, 由苯胺加氧酶作用脱氨基, 生成相应的二羟基芳香化合物, 开环降解。恶臭假单胞菌 B2 降解 3-硝基酚^[2]和诺卡氏菌降解硝基苯甲酸盐都可能经此途径^[43]。

另外芳香胺也可直接氧化开环后, 释放氨基。Nishino 报道一株假单胞菌降解硝基苯经此途径^[5]。

(3) 在缺氧条件下厌氧菌还原苯环上的硝基成氨基, 生成芳香胺再厌氧脱氨, 脱下的氨基被微生物利用作为生长氮源, 剩下的芳香烃如苯、酚、甲苯等在缺氧条件下厌氧菌不能开环降解。如 Boopathy 报道脱硫弧菌 B 利用 2, 4-二硝基酚, 2, 4-二硝基甲苯及 TNT 等为唯一氮源生长^[27, 44]。Gorontzy 报道多种厌氧菌利用多种硝基酚、4-硝基苯酸盐、4-硝基苯胺等为生长氮源^[28], 经这一代谢途径, 剩下的芳烃可能由自然环境中

共存的其它微生物进一步开环降解。

(4) 芳香环上的硝基还原成氨基后经乙酰化作用生成乙酰胺。最近报道一株铜绿假单胞菌可还原 2,4-二硝基甲苯成 2-氨基-4-硝基甲苯, 2-硝基-4-氨基甲苯和 2,4-二氨基甲苯。这些氨基都可能乙酰化生成多种硝基-或氨基-乙酰胺甲苯^[14]。另一株荧光假单胞菌还原 TNT 成 2,4-二氨基-6-硝基甲苯后, 4 位上氨基乙酰化转化成 4-N-乙酰胺-2-氨基-6-硝基甲苯^[15], 目前还没有这一新代谢产物进一步开环降解的报道。但转化后毒性降低^[13], 因此这种转化对环境中 TNT 解毒仍是有益的。

(5) 苯环上硝基还原成氨基后不再降解, 有些微生物即使在有氧条件下, 也只使硝基还原, 而不能继续使苯环开环降解。如 Schackmann 报道了几株假单胞菌对硝基酚、4-硝基苯甲酸盐、3-氯代硝基苯等的代谢^[14]。有些多硝基芳香烃如 TNT, 可能一个、二个或三个硝基还原成氨基形成多种氨基-硝基-甲苯, 而且在生物转化过程中还可能发生缩合反应, 形成更难生物降解的多种二硝基氧化偶氮甲苯, 如 4,4'-二硝基-2,6'-氧化偶氮甲苯^[46], 增加了治理这类污染物的难度。以前很多关于细菌降解 TNT 的报道大都是硝基还原途径, 不能完全矿化^[8]。但最近有报道 TNT 经硝基还原成氨基后毒性降低^[45, 47]。

2.3 苯环上直接加氢脱硝基代谢途径

Lenke 等 1992 年报道, 红球菌 HL24-2 降解 2,4-二硝基酚^[18]及其突变株 HLP-1 降解 2,4,6-三硝基苯酚^[17]提出了这一新的代谢途径。三硝基酚首先在苯环上加氢形成 hydride-Meisenheimer 络合物中间产物, 该中间产物可以脱硝基形成亚硝酸盐和 2,4-二硝基酚, 也可能转化成 2,4,6-三硝基环己酮, 在酸性条件下水解最后形成 1,3,5-三硝基戊烷。转化的不同途径依赖于条件。以后又报道分枝杆菌 HL4N-1 降解 TNT 也出现此种中间产物^[25]。

2.4 真菌降解硝基芳香烃的代谢途径

目前真菌降解硝基芳香烃的报道很少, 但白腐菌中的 *Phanerochaete chrysosporicum* 能完全矿化 2,4-二硝基甲苯的代谢途径已有报道。2,4-二硝基甲苯首先被还原成 2-硝基-4-氨基甲苯, 再经一系列的还原作用、甲基化作用及依赖于木质素和依赖于锰的过氧化物酶的催化作用, 最后生成 1,2,4-三羟基苯, 开环降解^[33], 该菌也能完全矿化 TNT^[34]。

3 微生物降解硝基芳香烃的遗传学研究

用遗传工程技术结构工程菌处理一些难以生物降解的有机污染物是当今生物技术应用于环境治理的研究热点之一。70 年代以来在降解芳香烃、氯代芳烃以及某些农药方面已有相当多的报道。近年来关于降解硝基芳香烃的遗传学研究国外也在进行, 如 Suen 在研究假单胞菌 DNT 菌株降解二硝基甲苯的氧化代谢途径的基础上, 对其中三个加氧酶(二硝基甲苯双加氧酶、4-甲基-5-硝基邻苯二酚单加氧酶和 2,4,5-三羟基甲苯加氧酶)的基因进行了基因克隆, 并分析了这些基因的遗传结构, 发现分别在 3 个不同的操纵子上。将含有这些基因的 DNA 片段作为探针, 用以检测相似代谢途径中的同源基因^[41]。

过去报道的细菌降解 TNT, 大都未能证明其完全矿化, Duque 等 1993 年报道用遗传学技术组构了一株能完全矿化 TNT 的重组菌, 他们分离到一株假单胞菌 CISI 能氧化脱除 TNT 苯环上的 3 个硝基并利用其作为氮源生长, 但不能降解甲苯, 利用其作为碳源, 他们将恶臭假单胞菌的 TOL 质粒(降解甲苯)转移至 CISI 的驯化菌株 A 中, 获得的转移接合子具有脱除硝基和降解甲苯的双重功能, 能利用 TNT 作为碳、氮源, 使其完全矿化^[48]。这一进展说明利用生物技术组建工程菌来降解这类难降解的硝基芳香烃污染物成为可能, 这方面的研究必将进一步发展。

4 在环境保护中的应用

关于硝基芳香烃在现场(包括土壤、废水、污泥及处理反应器中的)生物降解已有许多研究, 结果表明硝基酚和 2,4-二硝基酚降解较快, 但要达到完全去除, 也必须增加降解这些污染物的微生物群体, 如采取延长驯化期, 提高驯化的底物浓度或增加营养物等方法, 但多硝基甲苯、硝基苯甲酸盐等特别是炸药 TNT 及一些硝基芳香烃除草剂则较难在环境中自净, 必须采取治理措施。

4.1 生物法治理含硝基芳香烃的工业废水

含 TNT 的工业废水毒性高, 被认为是一类难以治理的工业废水, 70 年代国内外都采用物理、化学方法如活性碳吸附等处理, 存在成本高和二次污染等问题, 用活性污泥法难以达到治理效果。笔者等利用筛选的转化 TNT 的高效微生物接种挂膜, 采用兼性厌氧-好氧二步生化处理工艺, 处理含 TNT-DNN(二硝基萘)混合废水, 使 TNT 由 50mg/L 降低至 0.5mg/L, 二硝基萘由 5mg/L 降至检测不到, 出水中各项指标都达到国家排放标准, 已在有关军工厂投产运行多年, 取得良好的社会效益和环境效益^[49], 随后又利用筛选的降解黑

微生物降解有机污染物的分子遗传学研究, 及应

索金(RDX)和TNT两种炸药的棒状杆菌属菌株^[50],采用同样的二步生物法工艺,处理含TNT-RDX的混合炸药废水经现场实验也取得成功,且处理后的出水都经过养鱼试验,证明毒性大大降低^[51],为治理这两类混合的多硝基炸药,提供了新的途径。国外最近研究用能降解TNT的*Phanerochaete chrysosporium*菌的培养液或提取液使含TNT的“红水”矿化,或用该菌在固定膜反应器中整治含TNT的地下水^[52]。*Beunink*报道将厌氧肠杆菌和好氧的产碱杆菌共固定在藻酸钙球中,形成还原氧化偶联的共固定培养系统降解4氯-2-硝基酚^[53]。

4.2 生物整治硝基芳香烃污染的土壤

国外的研究集中在硝基炸药(TNT、RDX等)及除草剂dinoseb污染土壤的生物整治。

(1) 厌氧生物整治,如Carwfard等的研究已由实验室进入到现场规模,达40—50m³土壤。方法是将土壤与含淀粉质的废水混合以加速微生物的生长,并形成厌氧条件,使除草剂dinoseb在2—3周内被微生物降解成无毒的产物如醋酸^[54, 55]。这一系统也可用于生物整治硝基炸药污染的土壤。

(2) 采用堆肥系统生物整治TNT污染的土壤。这种污染主要在军火厂附近。80年代以来国外研究用堆肥方法处置,发现虽然在土壤中TNT浓度降低,但转化成氨基硝基甲苯后可能结合在不溶的腐黑物质和腐殖酸中,生态毒性仍可能存在^[56]。最近Breitung采用2种堆肥系统比较生物整治TNT的效果,第一个系统为始终通氧,第二个系统先厌氧65d后再通氧,结果表明第一个系统中TNT浓度下降迅速,3.5kg含TNT浓度为20g/kg的土壤,TNT去除可达92%,但最后仍有部分残留;第二个系统中厌氧阶段,TNT转化成氨基二硝基甲苯,在随后的好氧系统中全部消失,且经生态毒理学实验证明残留的毒性较第一系统低,认为从试验资料可以设计出微生物降解TNT的系统,有效地对污染的土壤进行生物整治^[45]。

从现有资料看,在生物整治硝基芳香烃污染的土壤方面,都是采用增加营养和改善环境条件的方法,使土壤和堆肥材料中原有的微生物发挥作用,处理的时间较长,需要数十天至百余天。如果能投加一些降解这类污染物的高效微生物,不仅可增加其中的微生物数量,而且能提高其降解功能,有可能提高处理效率,缩短处理时间。

综上所述,降解硝基芳香烃的微生物类群比较广泛,对消除和减轻这类物质对环境的污染具有一定的应用潜力。其代谢途径的多样性,也将促进这一领域的

生物化学和遗传学方面的研究,并取得更大的进展。

致谢 本文得到本单位杨惠芳、周培瑾、王敖全等研究员的帮助和提出修改意见,特此致谢。

参 考 文 献

- Munnecke D M, Hsieh D P H. Microbial decontamination of parathion and p-nitrophenol in aqueous media. *Appl. Microbiol.*, 1974, **28**(2): 212—217
- Zeyer J, Kearney P C. Degradation of o-nitrophenol and m-nitrophenol by a *Pseudomonas putida*. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, **32**(2): 238—242
- Bruhn C, Ienke H, Knackmuss H-J. Nitro-substituted aromatic compounds as nitrogen source for bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, **53**(1): 208—210
- Schackmann A, Muller R. Reduction of nitroaromatic compounds by different *Pseudomonas* species under aerobic conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1991, **34**(6): 809—813
- Nishino S F, Spain J C. Degradation of nitrobenzene by a *pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**(8): 2520—2525
- Traxler R W et al. Bacterial degradation of alpha-TNT. *Dev. Ind. Microbiol.* 1974, **16**: 71—76
- Won W D et al. Toxicity and mutagenicity of 2, 4, 6-trinitrotoluene and its microbial metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1976, **31**(4): 576—580
- McCormick N G et al. Microbial transformation of 2, 4, 6-trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1976, **31**(6): 949—958
- Spanggord R J et al. Biodegradation of 2, 4-dinitrotoluene by a *pseudomonas* sp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, **57**(11): 3200—3250
- Haigler B E, Spain J C. Biodegradation of 4-nitrotoluene by *pseudomonas* sp. strain 4NT. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**(7): 2239—2243
- Haigler B E et al. Biodegradation of 2-nitrotoluene by *pseudomonas* sp. strain JS42. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**(9): 3466—3469
- Rhys Williams W et al. A novel pathway for the catabolism of 4-nitrotoluene by *pseudomonas*. *J. Gen. Microbiol.*, 1993, **139**(9): 1967—1972
- Gilcrease P C, Murphy V G. Biconversion of 2, 4-diamino-6-nitrotoluene to a novel metabolite under anoxic and aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**(12): 4209—4214
- Noguera D R, Freedman D I. Reduction and acetylation of 2, 4-dinitrotoluene by a *pseudomonas aeruginosa* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **62**(7): 2257—2263
- Spain J C et al. Enzymatic oxidation of p-nitrophenol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1979, **88**(2): 634—641
- Oren A et al. Reduction of nitrosubstituted aromatic compounds by the halophilic anaerobic eubacteria *Haloanaerobium praevalens* and *Sporohacter marismortui*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, **57**(11): 3367—3370
- Lenke H, Knackmuss H J. Initial hydrogenation during catabolism of picric acid by *Rhodococcus erythropolis* HL24-2. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**(9): 2933—2937
- Lenke H et al. Degradation of 2, 4-dinitrophenol by two

- Rhodococcus erythropolis* strains HI 24-1 and HL 24-2. Appl. Environ. Microbiol., 1992, **58**(9): 2928—2932
- 19 Dickel O, Knackmuss H J. Catabolism of 1, 3-dinitrobenzene by *Rhodococcus* sp. OT-1. Arch. Microbiol., 1991, **157**(1): 76—79
- 20 Blasco R, Castillo F. Characterization of a nitrophenol reductase from the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* EIFI. Appl. Environ. Microbiol., 1993, **59**(6): 1774—1778
- 21 Ecker S et al.. Catabolism of 2, 6-dinitrophenol by *Alcaligenes eutrophus* JMP 134 and JM P222. Arch. Microbiol., 1992, **158**(2): 149—154
- 22 Groenewegen PEJ de Bont JAM. Degradation of 4-nitrobenzoate via 4-hydroxy-l-amino benzoate and 3, 4-dihydroxybenzoate in *Comamonas acidovorans* NBA-10. Arch. Microbiol. 1992, **158**(4): 381—386
- 23 Nishino S F, Spain J C. Oxidative pathway for the biodegradation of nitrobenzene by *Comamonas* sp. strain JS765. Appl. Environ. Microbiol., 1995, **61**(6): 2308—2313
- 24 Hanne L F et al.. Degradation and induction specificity in actinomycetes that degrade p-nitrophenol. Appl. Environ. Microbiol., 1993, **59**(10): 3505—3508
- 25 Vorbeck C et al.. Identification of a hydride-Meisenheimer complex as a metabolite of 2, 4, 6-trinitrotoluene by a Mycobacterium strain. J. Bacteriol., 1994, **176**(3): 932—957
- 26 Vanderberg L A et al.. Catabolism of 2, 4, 6-trinitrotoluene by *Mycobacterium vaccae*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1995, **43**(5): 937—945
- 27 Boopathy R, Kulpa C F. Nitroaromatic compounds serve as nitrogen source for *Desulfovibrio* sp. (B strain). Can J. Microbiol. 1993, **39**(4): 430—433
- 28 Gorontzy T et al.. Microbial transformation of nitroaromatic compounds under anaerobic conditions. J. Gen. Microbiol., 1993, **139**(6): 1331—1336
- 29 杨彦希, 尹萍, 李文忠, 周培瑾. 转化三硝基甲苯(α -TNT)的细菌及其应用. 微生物学报, 1979, **19**(4): 408—415
- 30 李文忠, 尹萍, 杨彦希. 弗氏柠檬酸细菌完整细胞 TNT 降解酶的性质. 微生物学报, 1987, **27**(3): 257—263
- 31 Cartwright N J, Cain R B. Bacterial degradation of the nitrobenzoic acid. 2. Reduction of the nitro group. J. Biochem. 1959, **73**(2): 305—314
- 32 Pasti-Grigsby et al.. Transformation of 2, 4, 6-trinitrotoluene(TNT) by actinomycetes isolated from TNT-contaminated and uncontaminated environments. Appl. Environ. Microbiol., 1996, **62**(3): 1120—1123
- 33 Valli K et al.. Degradation of 2, 4-dinitrotoluene by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Environ. Microbiol., 1992, **58**(1): 221—228
- 34 Stahl J D, Aust S D. Metabolism and detoxification of TNT by *Phanerochaete chrysosporium*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993, **192**(2): 477—482
- 35 尹萍, 白逢彦, 周培瑾. 降解三硝基甲苯(α -TNT)酵母和类酵母菌的研究. 微生物学报, 1998, **38**(4): 295—299
- 36 Hofrichter M et al.. Metabolism of phenol chloro-and nitrophenols by the *Penicillium* strain Bi 7/2 isolated from a contaminated soil. Bidegradation, 1993, **3**(4): 415—421
- 37 尹萍, 杨彦希, 杨惠芳. 麦芽糖假丝酵母降解酚类化合物的研究. 环境科学, 1997, **18**(1): 10—13
- 38 Drzyzga O et al.. Cometabolic transformation and cleavage of nitrodiphenylamines by three newly isolated sulfat-ed-reducing bacterial strains. Appl. Environ. Microbiol., 1996, **62**(5): 1710—1716
- 39 Hammill T B. Degradation of 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol (Dinoseb) by *Clostridium biformentans* KMR-1. Appl. Environ. Microbiol., 1996, **62**(5): 1842—1846
- 40 Spain J C, Gibson D T. Pathway for biodegradation p-nitrophenol in a *Moraxella* sp. Appl. Environ. Microbiol., 1991, **57**(3): 812—819
- 41 Suen W C, Spin J C. Cloning and characterization of *Pseudomonas* sp. strain DNT genes for 2, 4-dinitrotoluene degradation. J. Bacteriol., 1993, **175**(6): 1831—1837
- 42 Haigler B E, Spain J C. Biotransformation of nitrobenzene by bacteria containing toluene degradative pathways. Appl. Environ. Microbiol., 1991, **57**(11): 3156—3162
- 43 Marvin-Sikkenkma F D et al.. Degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994, **42**(4): 499—507
- 44 Boopathy R, Kulpa C F. Trinitrotoluene(TNT) as a sole nitrogen source for a sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio* sp. (B stain) isolated from an anaerobic digester. Current Microbiology, 1992, **25**(4): 235—241
- 45 Breitung J et al.. Bioremediation of 2, 4, 6-trinitrotoluene-contaminated soils by two different aerated compost systems. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1996, **44**(6): 795—800
- 46 Walker J E, Kaplan D I. Biological degradation of explosives and chemical agents. Bidegradation, 1992, **3**(3): 369—385
- 47 Dolon B A et al.. Toxicity of N-substituted aromatics to acetoacatic methanogenic activity in granular sludge. Appl. Environ. Microbiol., 1995, **61**(11): 3889—3893
- 48 Deque E et al.. Construction of a *Pseudomonas* hybrid stain that mineralizes 2, 4, 6-trinitrotoluene. J. Bacteriology, 1993, **175**(8): 2278—2283
- 49 TNT 污水生化处理试验组. 生物两步法处理 TNT、DNN 混合装药污水. 环境科学学报, 1981, **1**(3): 258—264
- 50 杨彦希, 王兴, 尹萍等. 三株棒状杆菌降解环三次甲基三硝胺(RDX)的研究. 微生物学报, 1983, **23**(3): 251—256
- 51 杨彦希, 李文忠, 尹萍等. 应用选育菌种处理梯恩梯(TNT)和黑索金(RDX)混合弹药污水的研究. 微生物学报, 1986, **26**(1): 53—59
- 52 Gorontzy T et al.. Microbial degradation of explosives and related compounds. Critical Review in Microbiology, 1994, **20**(4): 265—284
- 53 Beunink J, Rehm H J. Coupled reductive and oxidative degradation of 4-chloro-2-nitrophenol by a co-immobilized mixed culture system. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1990, **34**(1): 108—115
- 54 Crawford R L. Biotreatment of nitroaromatic compounds. Trends Biotechnol., 1993, **11**(10): 411—412
- 55 Kaake R H et al.. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol (Dinoseb). Appl. Environ. Microbiol., 1992, **58**(5): 1683—1689
- 56 Kaplan D L, Kaplan A M. Thermophilic biotransformation of 2, 4, 6-trinitrotoluene under stimulated composting conditions. Appl. Environ. Microbiol., 1982, **44**(3): 757—760