

芘高效降解菌的分离鉴定及其降解特性研究

张宏波^{1,2}, 林爱军^{1,2*}, 刘爽², 乔敏², 冯流¹, Shim Hojae³, 金京华⁴

(1. 北京化工大学环境科学与工程系, 北京 100029; 2. 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085; 3. 澳门大学科技学院土木与环境工程系, 澳门; 4. 轻工业环境保护研究所, 北京 100089)

摘要 采用富集培养的方法从多环芳烃污染的土壤中分离到 3 株能高效降解四环芳烃芘的细菌 J1、J2、J3, 经形态观察、生理生化及 16S rDNA 鉴定, J1 属于铜绿假单胞菌属 (*Pseudomonas aeruginosa*), J2 属于黄杆菌属 (*Flavobacterium mizutaii*), J3 属于短芽孢杆菌属 (*Brevibacillus parabrevis*)。3 株细菌均能以芘作为碳源生长, 在含芘 50、100、200、500、1 000 mg/L 的无机盐液体培养基中培养 7 d 后细菌总数达到最高, 在含芘 200 mg·L⁻¹ 的无机盐液体培养基中 7d 的降解效率分别达到 53.04%、65.03%、51.02%。3 株细菌对培养基具有较广泛的 pH 适应范围, 在芘浓度 200 mg/L, pH 为 4~9 的液体条件下, 均可生长, 且对芘有很好的降解。虽然可以采用芘的二氯甲烷溶液或者 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液向培养液中添加芘, 但是以 *N,N*-二甲基甲酰胺添加的方式芘在水溶液中起到很好的分散作用, 更有利于 3 株细菌对芘的降解。

关键词 芘; 分离; 微生物降解; 培养条件

中图分类号: 172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)01-0243-06

Identification of Pyrene Degrading Strains and the Degrading Characteristics Research

ZHANG Hong-bo^{1,2}, LIN Ai-jun^{1,2}, LIU Shuang², QIAO Min², FENG Liu¹, Shim Hojae³, JIN Jing-hua⁴

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029 China; 2. Department of Soil Environmental Sciences, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. Department of Civil and Environmental Engineering, Faculty of Science and Technology, University of Macau, Macau, China; 4. Environment Protection Research Institute of Light Industry, Beijing 100089, China)

Abstract Three bacterial strains J1, J2, J3 which could use pyrene as the sole carbon and energy sources were isolated from soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by enrichment culture. The strains were identified as *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium mizutaii*, *Brevibacillus parabrevis* according to the results of morphology, physiology and the phylogenetical analyses of 16S rDNA sequence. It was observed that the three strains could use pyrene at the concentrations of 50, 100, 200, 500, 1 000 mg/L and after 7 days culture the concentrations of microorganisms in the liquid medium were the highest. Under the treatment of 200 mg/L pyrene the degradation rate of pyrene by strain J1, J2, J3 was 53.04%, 65.03%, 51.02%. The three strains could grow and use pyrene at the culture medium pH 4 to pH 9 and the pH 7 was the best for the microbe growth and the degradation. Compare with the dichloromethane, *N,N*-dimethylformamide which could increase the solution of pyrene and enhance the degradation of pyrene was the better solvent in the pyrene degradation.

Key words pyrene; isolation; biodegradation; culture condition

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是指一类由 2 个或 2 个以上苯环以线状、角状或成簇形式构成的独特的持久性有机污染物^[1]。因工农业生产“三废”和生活垃圾的排放、倾倒及农田污水灌溉, 引起水体、大气和土壤环境的 PAHs 污染^[1,2], 一些地区将 PAHs 含量很高的城市垃圾和各种污泥作为肥料施于农田, 也成为土壤中 PAHs 的重要来源之一。多种 PAHs 被生物体吸收并在生物体内积累, 通过细胞毒性、遗传毒性和免疫毒性对生物体产生致癌、致畸、致突变作用, 并最终通过食物链进入人体, 因此 PAHs 对生态环境和人类健康构成巨大威胁^[3]。美国环保局在 20 世纪 80 年代已将 16 种不带分支的 PAHs 列入优先污染物名单中, 我

国也把 PAHs 列入环境污染物的黑名单中^[4]。但是如何治理环境中的多环芳烃污染, 是目前人们关注的一项重要研究内容。

早期微生物对有机污染物适应性的遗传机制表明, 为了在污染地区环境中生存, 微生物之间可以发生水平基因转移或在微生物的染色体内进行基因重排、突变、复制, 以形成能够降解有机污染物的优势

收稿日期: 2009-03-02; 修订日期: 2009-05-18

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2006BAI09B03); 中国科学院知识创新工程重大项目 (KZCX1-YW-06-03); 澳门大学科技项目 (RG052/06-07S/SHJ/FST); 澳门政府科技发展基金项目 (014/2006/A1)

作者简介: 张宏波 (1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为有机污染物生物降解。

* 通讯联系人, E-mail: llinaj@mail.buct.edu.cn

菌群,从而充分利用污染物作为其生长基质或形成共代谢^[5~7].从污染环境中分离高效降解微生物,是利用微生物治理环境有机污染的关键步骤^[7],而了解其生物学特性及降解能力,可以为利用降解微生物进行生物修复提供必要的理论支持.现有的研究表明能够降解多环芳烃微生物包括真菌^[8]、细菌^[9~25]和放线菌.迄今已分离筛选到多种降解 PAHs 的细菌,包括分枝杆菌属^[26]、气单胞菌属(*Aeromonas*)^[9]、芽孢杆菌(*Bacillus*)^[10]、拜叶林克氏菌(*Beijerinckia*)^[11]、假单胞菌(*Pseudomonas*)^[12,13,15]、诺卡氏菌(*Nocardia*)^[18]、红球菌(*Rhodococcus*)^[19,22]等.但遗憾的是这些研究多数围绕萘、菲等低分子量的 PAHs 展开.芘是由 4 个苯环对称排列组成,结构稳定,是高分子量 PAHs 的代表化合物,具有致癌、致畸的结构域,是多环芳烃的代表性化合物.1988 年 Heitkamp 等^[20]从土壤中分离到 1 株能降解芘的菌 PYR21,经鉴定属于分枝杆菌(*Mycobacterium vanbaalenii* PYR21),从此之后高分子量的 PAHs 微生物降解才逐渐被重视,此后围绕芘的微生物降解也开展了大量的研究工作^[14,17,20~22].虽然多种真菌对多环芳烃的降解的降解效果较好,但许多真菌是致病菌,环境安全性不高,限制了其应用,而且许多丝状真菌会产生大量孢子,引起人、牲畜和植物的病害,而放线菌生长缓慢,土壤中数量、生物量远小于细菌,限制了起生物降解的效果.因此利用细菌降解的降解特性治理环境中的 PAHs 污染是切实可行的.本研究采集长期污染土壤并通过富集培养的手段分离高效降解细菌,并对其特性进行了初步分析,以期为微生物修复 PAHs 污染环境提供高效降解菌.

1 材料与方法

1.1 降解菌的分离和筛选

1.1.1 样品来源

从北京、大庆多处被多环芳烃污染的焦化厂和油田等地采集污染土壤,采集时采取表层 0~10 cm 的土壤,放于塑料自封袋中,封口,置于 4℃ 冰箱保存.

1.1.2 培养基

无机盐液体培养基: K_2HPO_4 4 g, Na_2HPO_4 4 g, $(NH_4)_2SO_4$ 2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $CaCl_2$ 1 mg, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 mg, 蒸馏水 1 000 mL^[21]. 芘降解菌筛选液体培养基: K_2HPO_4 4 g, Na_2HPO_4 4 g, $(NH_4)_2SO_4$ 2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $CaCl_2$ 1 mg, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 mg, 芘的浓度分别为 10、20、50、100、150、200、500 mg/L,

蒸馏水 1 000 mL. 芘的 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)溶液: 浓度分别为 10、20、50、100、150、200、500 mg/L^[23]. LB 培养基: 胰蛋白胍(Tryptone) 10 g, 酵母提取物(Yeast extract) 5 g, 氯化钠(NaCl) 5 g/L, 水 1 L. 牛肉膏蛋白胍培养基(固体培养基): 牛肉膏 1.5 g, 蛋白胍 2.5 g, 琼脂 9 g, NaCl 2.5 g, 水 500 mL. 如需添加芘,则在无机盐琼脂糖培养基表面喷洒芘的二氯甲烷溶液,或者添加芘的 DMF 溶液使其终浓度为 200 mg/L.

1.1.3 细菌分离

将采集的土样充分混合后取 5 g,放入装有 100 mL 灭菌的芘降解细菌筛选液体培养基的 250 mL 三角瓶中,开始添加芘的浓度为 10 mg/L, 30℃ 摇床振荡培养.培养开始后每 5 d 转接 1 次,以 5% 的接种量接种到新鲜芘降解细菌筛选液体培养基中,并逐渐提高芘的浓度,至培养基中芘的浓度达到 1 000 mg/L.然后在牛肉膏蛋白胍培养基上反复平板划线得到单菌落,将单菌落点接到表面喷涂有芘的二氯甲烷溶液的无机盐固体培养基上.待长出菌落后在平板上挑取生长丰满并产生明显降解圈的细菌单菌落,转接至芘降解菌筛选液体培养基中,继续培养.5 d 后转接至 LB 固体培养基斜面,4℃ 保存.

1.2 菌株的鉴定

细菌分离后选择其中 3 株进行深入研究,观察 3 株菌在牛肉膏蛋白胍培养基平板上的菌落形态和显微镜下的菌体特征并进行革兰氏染色观察^[25].

16S rDNA 部分序列的 PCR 扩增: 平板划线得出细菌单菌落,挑取单菌落接种于 LB 液体培养基中.培养 12h 后,提取细菌 DNA,进行 PCR 扩增.用于 PCR 扩增反应的引物序列如下: 16S rDNA 通用引物序列为 F27 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3', R1492 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'. PCR 反应程序: 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 50 s, 63℃ 1 min, 72℃ 1 min, 35 次循环, 72℃ 延伸 7 min, 4℃ 保存.取 1 μL 反应液进行 1% 琼脂糖电泳检测^[26], PCR 扩增产物由诺赛生物工程公司测序.

1.3 菌株对芘的降解效果

在 100 mL 三角瓶中装有已灭菌的无机盐液体培养基 50 mL,准确加入制备好的菌悬液 1 mL,使培养基 550 nm 处的吸光度为 0.1,同时加入芘的 DMF 溶液,使培养基中芘浓度为 200 mg/L, 30℃ 摇床振荡培养.从接种后第 0 d 开始,每天提取测定芘的浓度和菌液在 550 nm 处的吸光度.以未接菌的含芘无机盐培养基为对照,按照降解率 $D\% = (c_{CK} - c_t) / c_{CK}$

× 100% 的方式计算降解率,其中 c_{CK} 为空白处理中茈的浓度, c_f 为培养结束时培养基中茈的浓度.

1.4 茈添加方式对茈降解和细菌生长的影响

向已灭菌的 100 mL 三角瓶中加入茈的二氯甲烷溶液,待二氯甲烷挥发完全后,添入无机盐液体培养基 50 mL,使茈的终浓度为 200 mg/L,加入制备好的降解菌悬液使培养液在 550 nm 处的吸光度为 0.1.在 100 mL 三角瓶中装有已灭菌的无机盐液体培养基 50 mL,加入制备好的菌悬液使培养基液在 550 nm 处的吸光度为 0.1,同时加入茈的 DMF 溶液,使培养基中茈浓度为 200 mg/L.上述 2 种培养液进行振荡培养,且从接种后第 0 d 开始,测定培养液 550 nm 处的吸光度和培养液中茈浓度.

1.5 培养液 pH 对茈降解和细菌生长的影响

调节培养液 pH 分别为 4、6、7、8、9,加入茈使其浓度为 200 mg/L,然后于 30℃ 下振荡培养 7 d,用正己烷萃取培养基中残留的茈,测定残留的茈含量.

1.6 通气量对茈降解的影响

培养液加入茈使其浓度为 200 mg/L,调节 pH 分别为 7,于 30℃ 下振荡培养 7 d,转速分别为 0、75、150、225、300 r/min,培养结束用正己烷提取并测定的茈含量.

1.7 茈的测定

采用气相色谱法测定茈,所用仪器为 Agilent 6820N 气相色谱仪,配备 FID 检测器,HP-5 毛细管柱和色谱工作站,测定条件如下:进样口的温度是 300℃,检测器的温度为 300℃,起始温度为 50℃,以 25℃/min 的速度升到 250℃,保持 10 min,载气氮气,不分流进样,进样量为 1 μL.采用外标法定量,茈标准曲线在 1~100 mg/L 区间呈线性.

2 结果与讨论

2.1 降解菌的筛选

经过多次分离和纯化,从不同来源的土壤样品中分离到多株能以茈为唯一碳源生长的细菌,经过初步降解效率测定后,选择了 3 株降解效率较高、生长较快的菌株命名为 J1、J2、J3.在茈浓度为 200 mg/L 的液体培养基中培养 7 d,此 3 株降解菌降解效率分别可达到 53.04%、65.03%、51.02%.

2.2 菌株的鉴定

3 株茈高效降解菌在含茈的无机盐固体培养基上均能正常生长.J1 在 30℃ 下培养 24 h 后肉眼就可看到清晰的单菌落,菌落呈不规则圆型,表面不光滑,边缘不整齐,该菌在牛肉膏蛋白胨平板上起初为乳白色,随着菌龄的增加,颜色加深,最后呈粉红色.J1 经革兰氏染色后确定为革兰氏阴性菌.J2 在 30℃ 下培养 48 h 后肉眼可看到清晰的单菌落,菌落呈不规则圆型,表面不光滑,边缘不整齐.在牛肉膏蛋白胨平板上培养时菌落初期为乳白色,随着菌龄的增加,颜色逐渐加深,最后呈黄色.J2 经革兰氏染色后确定为革兰氏阳性菌.J3 在 30℃ 下培养 48 h 后肉眼才可看到清晰的单菌落,呈规则圆型,表面光滑,边缘整齐.牛肉膏蛋白胨平板上培养时菌落为乳白色.J3 经革兰氏染色后确定为革兰氏阳性菌.

利用 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增得到目的 DNA 片段,测定得到 1400bp 的 16S rDNA 部分序列,利用 GenBank Blast 软件进行序列同源性比较,结果显示菌株 J1 的 16S rDNA 序列与的多株铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)具有高度同源性.从 GenBank 基因数据库中下载铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)属内与菌株 J1 序列相似性 > 99% 的 16S rDNA 序列,用 J1 的序列和下载的 16S rDNA 序列通过 ClusrerW 进行聚类分析后,利用 MEGA311 软件以 Neighbor-Joining 计算方式生成系统发育进化树,如图 1 所示.可以看出,菌株 J1 与

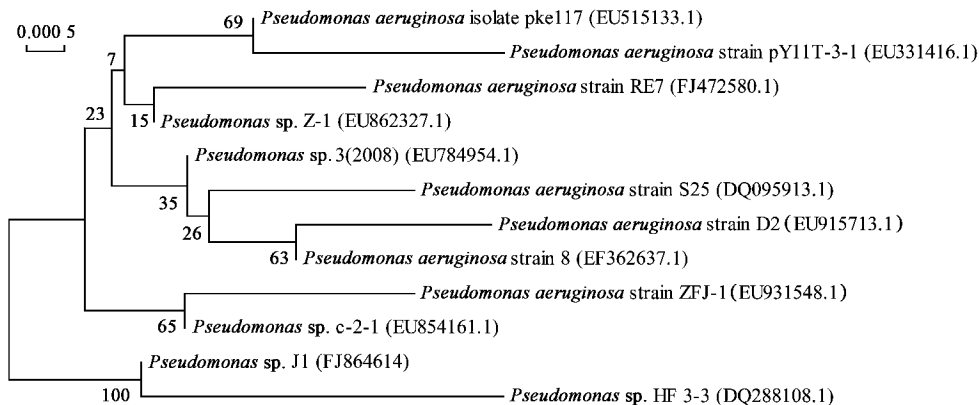


图 1 基于 16S rDNA 基因序列同源性的 J1 系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of J1 strain based on the 16S rDNA gene homology

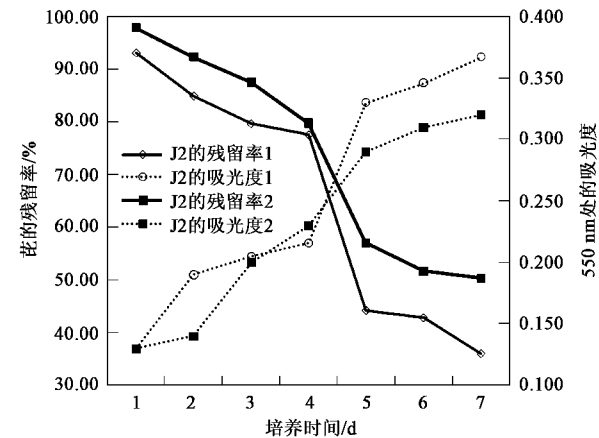


图 5 J2 在 2 种不同的液体培养基中的生长降解曲线
Fig.5 Relationship between the growth of strain J2 and pyrene degrading

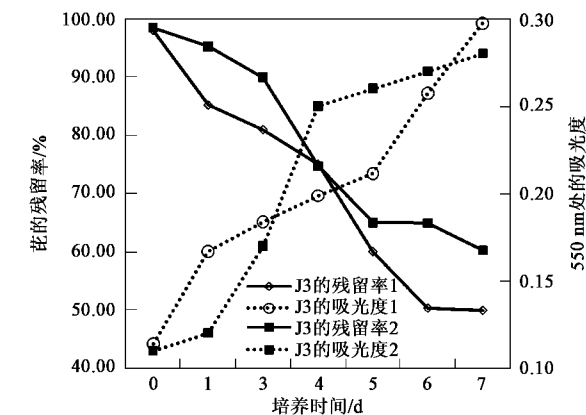


图 6 J3 在 2 种不同的液体培养基中的生长降解曲线
Fig.6 Relationship between the growth of strain J3 and pyrene degrading

性很小 ,不易被微生物利用 ,可以被广泛应用于多环芳烃的微生物降解研究和修复实践中^[23] .

不同 pH 条件下 3 株芘降解细菌对芘的降解影响如图 7 所示 ,从中可以看出 3 株芘降解菌在较广泛的 pH 范围内都对芘都有很好的降解 .在芘浓度 200 mg/L pH 为 4 ~ 9 的液体条件下 ,3 株细菌均可对芘有显著的降解 .在偏酸和偏碱性条件下 ,在培养时间内对培养液中芘的降解效果不佳 .研究中发现 ,在中性和偏碱性条件下 ,3 株菌对芘的降解效果较好 ,尤其是在 pH 为 7 时 ,降解效果最佳 .

通气条件对好氧细菌的生长有显著的影响 ,进而影响其对有机污染物的降解 ,本研究中通气量对芘降解的影响如图 8 所示 .可以看出 ,3 株芘降解菌在不同的通气条件下均能生长并对芘有相应的降解 ,但是通气条件对芘的降解依然有较大的影响 .当液体培养基中芘的浓度为 200 mg/L 时 ,在静置条件

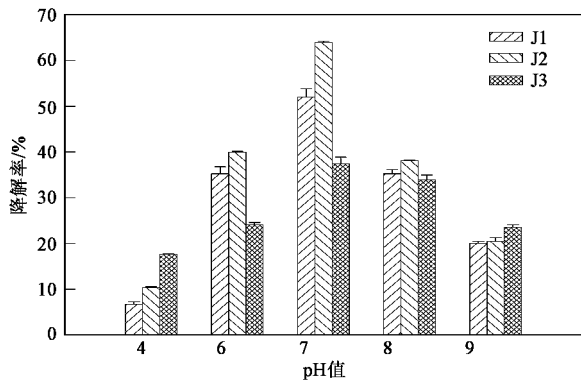


图 7 3 株芘高效降解菌在不同 pH 条件的液体培养基中的降解效果
Fig.7 Pyrene degrading by strains J1, J2 and J3 at different pH treatments

下通过 7d 的培养 ,降解效果最好的 J2 对芘的降解率也仅仅为 30% 左右 ,而当通气条件得到改善时 ,芘的降解率随之增加 .但是当培养箱的转速过大时 ,芘的其他方面的损失也随之增加 ,对照处理中芘的浓度与接菌处理中芘的浓度差异减少引起芘生物降解量的下降 ,当培养箱转速达到 300 r/min 时 J3 的降解率不足 20% .所以虽然在理论上增加通气量可以提高细菌的生长量 ,但是本研究中的降解效果并没有随着通气量的增加而持续增加 ,而呈现出先增加再降低的趋势 .

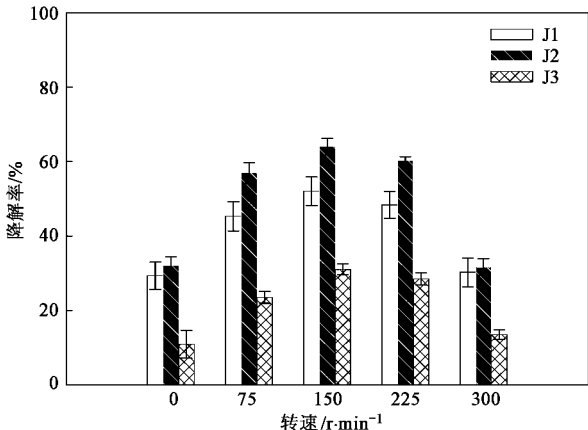


图 8 3 株芘高效降解菌在不同通气条件的液体培养基中的降解效果
Fig.8 Pyrene degrading by strains J1, J2 and J3 at different air treatments

3 结论

本研究从多环芳烃污染土壤中筛选到 3 株降解芘能力较强的菌株 J1、J2、J3 ,经生理生化和 16S

rDNA 序列分析被鉴定 J1 属于铜绿假单胞菌 J2 属于黄杆菌 J3 属于短短芽孢杆菌.3 株菌株能以芘为唯一碳源生长,在 7 d 内对芘有明显的降解.3 株高效降解菌在芘浓度为 50 ~ 1 000 mg/L,pH 4 ~ 9 的条件下都可以较好地生长和降解,并对通气条件有广泛的适应.因此在石油污染土壤中筛选得到的 3 株芘高效降解菌,在生物修复多环芳烃污染土壤方面具有很一定的应用前景.

参考文献：

[1] Dean-Ross D , Cerniglia C E. Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens*[J]. Appl Microbiol Biotechnol ,1996 ,**46** : 307-312.

[2] Antizar-ladislao B , Lopez-Real J M. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated waste using composting approaches[J]. Crit Rev Env Sci Tec ,2004 ,**34** 249-289.

[3] Cemiglia C E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon [J]. Biodegradation ,1992 ,**3** :351-368.

[4] 宋玉芳 宋雪英 张薇 等. 污染土壤生物修复中存在问题的探讨[J]. 环境科学 ,2004 ,**25** (2) :129-133.

[5] Samanta S K , Singh O V , Jain R K. Polycyclic aromatic hydrocarbons : environmental pollution and bioremediation [J]. Trends Biotechnol ,2002 ,**20** (6) 243-248.

[6] Li X , Li P. Biodegradation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by microbial consortia in soil and slurry phases [J]. J Hazard Mater ,2008 ,**150** 21-26.

[7] Bartha R. Biotechnology of petroleum pollutant biodegradation [J]. Microb Ecol ,1986 ,**12** :155-172.

[8] Bezalel L , Hadar Y , Peter P F U , *et al.* Initial oxidation products in the metabolism of pyrene , anthracene , fluorene , and dibenzothiophene by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* [J]. Appl Environ Microbiol ,1996 ,**62** (7) :2554-2559.

[9] Saagua M C , BaetaHall L , Anselmo A M. Microbiological characterization of a coke oven contaminated site and evaluation of its potential for bioremediation [J]. World J Microb Biot ,2002 ,**18** : 841-845.

[10] Feitkenhauer H , Muller R , Markl H. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and long chain alkanes at 60-70℃ by *Thermus* and *Bacillus* spp. [J]. Biodegradation ,2003 ,**14** 367-372.

[11] Seo J S , Keum Y S , Hu Y , *et al.* Degradation of phenanthrene by *Burkholderia* sp. C3 : initial 1 ,2-and 3 ,4-dioxygenation and meta and ortho-cleavage of naphthalene-1 ,2-diol [J]. Biodegradation ,2007 ,**18** (1) :123-131.

[12] Garciar-Valdes E , Cozar E , Rotger R , *et al.* New naphthalene degrading marine *Pseudomonas* strains[J]. Appl Environ Microbiol ,1988 ,**54** (10) 2478-2485.

[13] Stringfellow W T , Aitken M D. Competitive metabolism of naphthalene , methylnaphthalenes , and fluorene by phenanthrene degrading *Pseudomonads* [J]. Appl Environ Microbiol ,1995 ,**61** (1) 357-362.

[14] Nieman J K C , Sims R C , Sims J L , *et al.* ¹³C NMR analysis of biologically produced pyrene residues by *Mycobacterium* sp. KMS in the presence of humic acid [J]. Environ Sci Technol ,2007 ,**41** 242-249.

[15] Zhong Y , Luan T G , Wang X W , *et al.* Influence of growth medium on cometabolic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. strain PheB4 [J]. Appl Microbiol Biotechnol ,2007 ,**75** :175-186.

[16] Seo J S , Keum Y S , Harada R M , *et al.* Isolation and characterization of bacteria capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organophosphorus pesticides from PAH-contaminated soil in Hilo , Hawaii [J]. J Agric Food Chem ,2007 ,**55** :5383-5389.

[17] 聂麦茜 张志杰 王晓昌 等. 两株假单胞菌对蒽菲芘的降解作用[J]. 环境科学学报 ,2002 ,**22** (5) :630-633.

[18] Saito A , Iwabuchi T , Harayama S. Characterization of genes for enzymes involved in the phenanthrene degradation in *Nocardioides* sp. KP7 [J]. Chemosphere ,1999 ,**38** (6) :1331-1337.

[19] Finkelstein Z I ,Baskunov B P ,Golovlev E L , *et al.* Fluorine transformation by bacteria of the genus *Rhodococcus* [J]. Microbiology ,2003 ,**72** (6) :660-665.

[20] Heitkamp M A ,Freeman J P , Miller D W , *et al.* Pyrene degradation by a *Mycobacterium* sp. : identification of ring oxidation and ring fission products[J]. Appl Environ Microbiol ,1988 ,**54** (10) :2556-2565.

[21] McNally D L , Mihelcic J R , Luekings D R. Biodegradation of three- and four-ring polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and denitrifying conditions [J]. Environ Sci Technol ,1998 ,**32** (17) : 2633-2639.

[22] Walter U , Beyer M , Klein J , *et al.* Degradation of pyrene by *Rhodococcus* sp. UW1 [J]. Appl Microbiol Biotechnol ,1991 ,**34** : 671-676.

[23] Juhasz A L , Stanley G A , Britz M L. Microbial degradation and detoxification of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia* strain VUN 10 ,003 [J]. Lett Appl Microbiol ,2000 ,**30** 396-401.

[24] 扈玉婷 任凤华 周培瑾 等. 一株分离自新疆天池寡营养环境的糖丝菌(*Saccharothrix* sp. PYX26)降解芘的特性 [J]. 科学通报 ,2003 ,**48** (16) :1796-1800.

[25] 聂麦茜 吴蔓莉 王晓昌 等. 一株黄杆菌及其粗酶液对芘降解的动力学特征研究 [J]. 环境科学学报 ,2006 ,**26** (2) :181-185.

[26] 李全霞 范丙全 龚明波 等. 降解芘的分支杆菌 M11 的分离鉴定和降解特性 [J]. 环境科学 ,2008 ,**29** (3) :763-768.