

张雪娜,贾海滨,张丽秀,等. 4 环 HMW-PAHs 降解菌的筛选、鉴定及降解特性[J]. 江苏农业科学,2017,45(15):282-285.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.15.071

4 环 HMW-PAHs 降解菌的筛选、鉴定及降解特性

张雪娜¹, 贾海滨¹, 张丽秀¹, 石 维¹, 王 伟¹, 冯圣东^{1,2}, 杨志新^{1,2}

(1. 河北农业大学资源与环境科学学院, 河北保定 071000; 2. 河北省农田生态环境重点实验室, 河北保定 071000)

摘要:利用富集培养法从河北省典型煤矿区土壤中分离到 1 株 4 环高环芳烃(HMW-PAHs)降解菌,经形态特征观察和 18S rRNA 序列分析确定该菌株为镰刀菌属(*Fusarium* sp.),命名为 Y15。通过室内摇瓶和土壤培养试验,研究了其对 4 环 HMW-PAHs 的降解性能。结果表明,室内摇瓶培养 7 d 后,Y15 接种量为 100 mL/L 时,对初始浓度为 10 mg/L 的芘(Pyr)、苯并[a]蒽(BaA)、蒽(Chry)的降解效率分别为 52.94%、32.14%、33.93%。其中,对 Pyr 的降解率随初始浓度的升高呈先升高后降低的趋势,在 40 mg/L 时降解率最高,为 69.67%。Y15 接种在 PAHs 污染的土壤中,经 30 d 培养试验,Y15 对 3 种高环芳烃 Pyr、BaA、Chry 的总降解率为 13.15%。在 3 种 PAHs 中,Y15 对 Pyr 的降解率显著高于对 BaA、Chry 的降解率($P < 0.05$)。从土壤酶活性变化规律看,与添加灭活菌液的对照组相比,添加菌液处理的土壤多酚氧化酶和过氧化物酶活性明显降低。综上所述,该菌株是 1 株能以 4 环 HMW-PAHs 为唯一碳源且具有高效降解功能的潜在降解菌。

关键词:芘;苯并蒽;蒽;生物降解;镰刀菌

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)15-0282-04

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指由 2 个或 2 个以上苯环以角状、线状或簇状组成的一类持久性有机污染物,在环境中普遍存在,因具有致畸、致癌、致突变的性质而受到人们的重视^[1-2]。其中,4 环及 4 环以上的高环 PAHs(HMW-PAHs),因其疏水性、亲脂性、稳定性更强,更不易被降解^[3-4],对自然环境和人体健康均造成极大威胁,其中,4 环 PAHs 中的芘(Pyr)、蒽(Chry)、苯并[a]蒽(BaA)属于美国环境保护局列入优先控制污染中的 16 种 PAHs。

目前,微生物修复是去除环境中 PAHs 的主要方式,微生物系统、多环芳烃污染物的类型、污染区域的地质化学条件是解决 PAHs 污染问题的 3 个重要条件,在已知污染物类型和污染区域条件的基础上,微生物系统成为 PAHs 生物降解的主导者^[5]。从污染土壤中筛选高效降解菌是开展微生物修复的基础。白鹏等从石油污染区土壤分离筛选得到 1 株芘高效降解菌菌株,菌株 ZQ5 在 30 ℃振荡培养 16 d 后对 150 mg/L 芘的降解率为 90.31%^[6]。李晓明等从焦化厂土壤中筛选出芘降解菌群,还有少量菌种筛选自海洋沉积物或污泥^[7],因此,在不同的典型污染土壤中进行筛菌工作对补充菌种资源库及修复特定环境下的 PAHs 污染问题尤为重要。目前为止,从煤矿区受 PAHs 长期污染的农田土壤中筛选降解菌株的工作尚未开展,可加强研究。同时,近年来,国内外对高分子量 PAHs 的微生物降解研究较少,而能够以高分子量 PAHs 为唯一碳源的微生物资源更少^[8]。

因此,本研究拟通过富集培养,从典型煤矿区多环芳烃长期污染土壤中筛选高分子量 PAHs 的高效降解菌,通过形态学观察和 18S rRNA 序列分子生物学分析,对菌种进行鉴定,并通过室内摇瓶培养试验和室内土壤培养试验考察其对 Pyr、BaA、Chry 的降解能力,为微生物修复 4 环 HMW-PAHs 的环境提供资源保障和理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为笔者课题组前期富集、筛选、驯化、待鉴定的菌株。

供试土壤采自河北省典型煤矿区的农田污染场地,区内分布有焦化厂和钢铁厂等生产企业,土壤样品为受 PAHs 长期污染的老化土壤,Pyr、BaA、Chry 的总含量达 2 019.23 mg/kg。取 0~10 cm 表层污染土壤,遮光风干后,过 1 mm 筛,混合均匀后,在 4 ℃的冰箱内保存备用,其基本化学性质如表 1 所示。供试土壤样品的 pH 值为 7.46。

表 1 供试土壤样品的基本化学性质

项目类型	含量(g/kg)
速效钾含量	27.13×10^{-3}
速效磷含量	60.47×10^{-3}
有机质含量	39.49
全氮含量	0.21
全磷含量	0.46

多环芳烃芘(Pyr)、苯并[a]蒽(BaA)、蒽(Chry),均为分析纯。

无机盐液体培养基:0.20 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.02 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.40 g KH_2PO_4 、0.60 g Na_2HPO_4 、0.02 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、1.00 g NH_4NO_3 、1.00 L 蒸馏水(无机盐固体培养基在无机盐液体培养基的基础上加入 15~20 g 琼脂)。

收稿日期:2016-04-07

基金项目:河北省人力资源厅项目;河北省教育厅项目(编号:Z2013058)。

作者简介:张雪娜(1990—),女,河北廊坊人,硕士研究生,主要从事环境质量评价与监控研究。E-mail:815798846@qq.com。

通信作者:杨志新,博士,教授,主要从事生态、环境质量评价与监控研究。E-mail:yangzhixin@126.com。

高氏一号固体培养基:2.000 g 可溶性淀粉、0.050 g 氯化钠、0.110 g 硝酸钾、0.050 g 磷酸氢二钾、0.050 g 硫酸镁、0.001 g 硫酸亚铁、1.500~2.000 g 琼脂、100 mL 蒸馏水,pH 值为 7.4~7.6(高氏一号液体培养基在高氏一号固体培养基的基础上去掉琼脂)。

1.2 4 环 HMW-PAHs 降解菌的筛选

富集:于 100 mL 已灭菌的无机盐液体培养基中放入 5 g 农田污染场地新鲜的土壤样品,150 r/min、30 ℃ 振荡培养 24 h 获得富集菌液,取 1 mL 富集菌液接种到高氏一号培养基中进行培养。

筛选与纯化:将上述在高氏一号培养基中培养后的富集菌液经含 PAHs 的无机盐培养基进行筛选,并经多次转接纯化后获得多株纯化菌株。

驯化:将已筛选出的所有纯菌接种到表层含 120 μg 4 环 PAHs 的无机盐固体培养基中进行冲击,30 ℃ 下培养 7 d 后观察菌落生长状况,得到目标降解菌株,将所述目标降解菌株接种到表层含 12,24,48 μg 4 环 HMW-PAHs 的无机盐固体培养基中进行逐级驯化,30 ℃ 下恒温培养 7 d 后,生长良好,将驯化后的菌株进行鉴定,并用甘油冷冻保存于 -70 ℃ 冰箱,备用。

1.3 4 环 HMW-PAHs 降解菌的鉴定

1.3.1 形态观察及鉴定 将已充分活化的菌株接种到高氏一号固体培养基中,30 ℃ 培养 48 h 后观察菌落,并在高倍显微镜下观察菌株孢子、菌丝的形态学特征。

1.3.2 菌株的分子生物学鉴定 以菌株基因组 DNA 为模板,用真菌核糖体 rRNA 区通用引物(ITS1、ITS4)进行 18S rRNA 扩增,PCR 产物进行电泳检测,将扩增片段回收、测序,根据 18S rRNA 的测序结果,利用 Blast 软件在 GenBank 中与其他已测定的标准菌株的 18S rRNA 序列进行同源性比较。

1.4 菌株对无机盐液体培养基中 Pyr、BaA、Chry 的降解特性

1.4.1 菌悬液制备 取 1 mL 驯化后保存的菌液,接种于高氏一号固体培养基中,30 ℃,150 r/min 振荡培养 7 d 后得到目标菌株,将其接种于 100 mL 高氏一号液体培养基中,同样条件培养 48 h 后得到富集菌液。

1.4.2 菌株对 Pyr、BaA、Chry 的降解试验设计 在 100 mL 三角瓶中加入 18 mL 无机盐溶液灭菌后,添加一定量 4 环 PAHs 单体母液,待丙酮挥发后,接入 10% 的富集菌液,使 PAHs 单体 Pyr、BaA、Chry 的终浓度均为 10 mg/L,以不添加富集菌液的处理作为对照组,均在 150 r/min、30 ℃ 摇床中遮光振荡培养 7 d,每个处理设置 3 个重复。试验方案如表 2 所示。

表 2 菌株对 Pyr、BaA、Chry 降解的试验方案

单体 PAHs 种类	PAHs 浓度 (mg/L)	对照组接菌量	样品组接菌量 (%)
Pyr	10	0	10
BaA	10	0	10
Chry	10	0	10

在 100 mL 三角瓶中加入 18 mL 无机盐溶液灭菌后,添加不同剂量的 Pyr 母液,待丙酮挥发后,接入 10% 的富集菌液,使 Pyr 的终浓度分别为 10、40、80 mg/L,并分别以不添加富集菌液的处理为对照组,均在 150 r/min、30 ℃ 摇床中遮光振荡培养 7 d,每个处理设置 3 个重复。试验方案如表 3 所示。

表 3 菌株对不同浓度 Pyr 降解的试验方案

单体 PAHs 种类	PAHs 浓度 (mg/L)	对照组接菌量	样品组接菌量 (%)
Pyr	10	0	10
Pyr	40	0	10
Pyr	80	0	10

1.5 菌株对老化污染土壤中 Pyr、BaA、Chry 的降解

1.5.1 菌悬液制备 同“1.4.1”节。

1.5.2 菌株修复老化污染土壤中 Pyr、BaA、Chry 的试验设计 取典型煤矿区林地表层土壤样品,121 ℃、30 min 灭菌 3 次,进行菌株的污染土壤修复培养试验。称 80 g 土壤样品在培养皿中培养,随时补充水分,保持土壤的持水量为 30%,每个处理设置 3 个重复,放于培养箱中遮光培养 30 d 后,取土壤样品待测。试验方案如表 4 所示。

表 4 菌株对 HMW-PAHs 老化污染土壤中 PAHs 的修复试验方案

编号	处理	菌液加入量 (%)
CK	土壤 + 灭活 Y15 菌液	10
Y15	土壤 + Y15 菌液	10

1.6 样品测定指标及方法

土壤基本理化性质:采用土壤农化常规分析法^[9]测定。

PAHs 无机盐溶液测定指标:Pyr、BaA、Chry 测定方法参照文献[10~12]。在三角瓶中加入 20 mL 色谱纯正己烷,超声提取 5 min 后,使粘在壁上的 PAHs 全部浸到正己烷溶液中,再将三角瓶置于 250 r/min 振荡器中,振荡提取 40 min 后,再次超声提取 5 min,静置分层后吸取 1 mL 上层正己烷溶液转移至 2 mL 顶空进样瓶中,待测。

土壤中 HMW-PAHs 测定指标及其分析方法:土壤中 PAHs 含量以风干质量计量,称取 20 g 土壤样品及 10 g 无水硫酸钠,混合均匀后,加入 20 μL 替代物(浓度为 20 μg/mL 的氘代三联苯与 4-溴-2-氟联苯的正己烷溶液),用丙酮与正己烷体积比为 1:1 的提取剂索氏提取 12 h,并经过干燥、浓缩、净化、再次浓缩后用正己烷定容至 1 mL,待测^[12~13]。

土壤酶活性测定指标及其分析方法:土壤多酚氧化酶活性采用邻苯三酚比色法测定,以 1 g 风干土壤样品 2 h 内生成的紫色没食子素的毫克数表示;土壤过氧化物酶活性测定与多酚氧化酶活性的测定方法相同^[14]。

仪器:气相色谱仪-质谱仪联用,气相色谱仪为安捷伦 6890,质谱仪为美国 HP5972 系列。

质量控制:回收率和检测线的测定参考 EPA 标准方法,回收率测定采用土壤基质加标法^[15]。

1.7 数据统计分析

无机盐溶液中多环芳烃降解率=(对照组 PAHs 含量-试验组 PAHs 含量)/对照组 PAHs 含量×100%。

土壤中 HMW-PAHs 的降解率 $R_s = (C_0 - C_t)/C_0 \times 100\%$ 。其中, C_0 为对照组土壤中 HMW-PAHs 的含量, C_t 为试验组土壤中 HMW-PAHs 的含量。

试验数据采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 4 环 HMW-PAHs 降解菌株的形态鉴定与 18S rRNA 分子生物学鉴定

菌株在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上 30 ℃ 培养

48 h 后,培养基无色,菌丝生长致密,菌落的表面棉絮状;分生孢子呈镰刀形,分生孢子座为浅紫色,0~3 个分隔,多数无隔。

对菌株的 18S rRNA 进行 PCR 扩增,经过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测获得大小约 500 bp 的产物,扩增产物回收后进行测序,得到 18S rRNA 的序列为 526 bp(图 1)。利用 Blast 软件在 GenBank 中与其他标准菌株的 18S rRNA 序列进行同源性比较,该菌株 18S rRNA 序列与镰刀菌属真菌的 18S rRNA 序列相似性高达 99%。

GAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAACCCCTGTGAACATACCACTTGT
TGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAACGGGACGCGCCGACAGAGGACCCC
TAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTCTGAGTAAACCCATAATAATCAAACTTTCA
ACAAACGGAATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGACGCAAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCA
GTATTCTGGCGGGCATGCTGTTCGAGCGTCATTCAACCCTCAAGCCCTCGGGTTT
GGTGTGGGGATCGGCGAGCCCTCGCGGCAAGCCGCGCCGCAATCTAGTGCGCGGT
CTCGCTGCAGCTTCCATTGCGTAGTAGTAAACCTCGCAACTGGTACGCGGCGCGG
CCAAGCCGTTAAACCCCAACTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGTAGGAATACCC
GCTGAACCTTAAGCATAT.

图1 Y15 菌株的 18S rRNA 序列

结合菌株的形态特征分析与 18S rRNA 的结果,鉴定此菌株为镰刀菌属(*Fusarium* sp.),命名为 Y15。

2.2 Y15 菌株对无机盐培养液中 Pyr、BaA、Chry 的降解特性

将 Y15 菌液加入分别含有 10 mg/L Pyr、BaA、Chry 的无

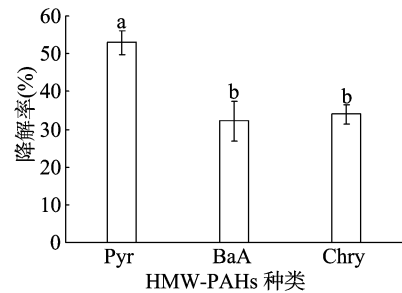


图2 Y15 菌株对单一多环芳烃处理下各单体的降解率

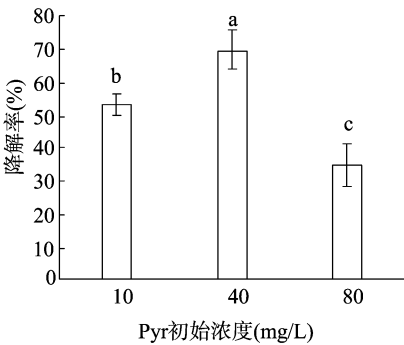


图3 Y15 菌株对不同初始浓度单体的降解率

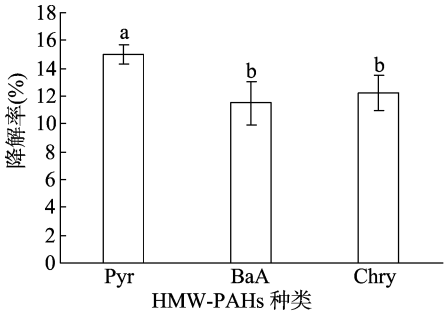


图4 菌株 Y15 对老化污染土壤中 Pyr、BaA、Chry 的降解能力

2.4 不同处理下土壤酶活性的显著性分析

由表 5 可知,与对照相比,加入 Y15 菌液后,土壤多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性显著降低。对照处理土壤多酚氧化酶活性是施加 Y15 菌液处理中多酚氧化酶活性的 1.62 倍,与对照组处理相比,施加 Y15 菌液处理组过氧化物酶活性降低了 23.83%。

表 5 土壤酶活性在土壤培养试验处理中显著性分析结果

处理	多酚氧化酶 (mg/g)	过氧化物酶 (mg/g)
CK	0.89a	2.56a
Y15	0.55b	1.95b

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

3 结论与讨论

经过对典型煤矿区土壤中多环芳烃含量的检测,证明土壤已经受到高浓度多环芳烃的严重污染^[16]。在本研究中,在典型煤矿区土壤中分离到 1 株可分别以 Pyr、BaA、Chry 为唯一碳源和能源的降解菌 Y15 菌株,经形态观察和 18S rRNA 分子生物学分析,初步鉴定其属于镰刀菌属。该菌株能够利

机盐液体培养基中,7 d 后测定 Y15 对 3 种 HMW-PAHs 的降解效果。由图 2 可知,Y15 菌液对 Pyr、BaA、Chry 的降解率分别为 52.94%、32.14%、33.93%。经检验,Y15 菌液对 Pyr 的降解率显著高于对 BaA、Chry 的降解率($P < 0.05$),说明 Y15 菌株能够分别以 Pyr、BaA、Chry 为唯一碳源和能源进行代谢繁殖。

由图 3 可知,随着 Pyr 初始浓度的升高,Y15 菌株对 Pyr 的降解率呈现先升高后降低的趋势,当 Pyr 的浓度为 40 mg/L 时降解效果较好,降解率高达 69.67%,显著高于对其余两者的降解率($P < 0.05$),分别是其余两者的 1.32、2.01 倍。由此可见,Y15 菌株对高浓度的 HMW-PAHs 有较强的耐受能力。

2.3 Y15 菌株对老化污染土壤中 Pyr、BaA、Chry 的降解效果

由图 4 可知,添加 Y15 菌液的处理中 Pyr、BaA、Chry 分别降低了 15.02%、11.50%、12.20%,Y15 菌株对 4 环 HMW-PAHs 的总降解率达到了 13.15%。根据单体去除效果可知,Y15 对土壤中 Pyr 的降解效果显著好于对 BaA、Chry 的降解效果($P < 0.05$),这说明 Y15 菌液对老化污染土壤中 Pyr、BaA、Chry 均有一定的降解能力,且对 Pyr 的降解能力较强。

用、降解多种 HWM-PAHs。目前,能够降解 HMW-PAHs 的菌株一般多为细菌^[17~21],真菌中对白腐真菌研究最多^[22~24],对镰刀菌属降解 HMW-PAHs 的研究也仅见零星报道^[25]。

在本研究摇瓶培养试验中,7 d 后 Y15 菌液对初始浓度为 10 mg/L 的 Pyr、BaA、Chry 降解率达 52.94%、32.14%、33.93%。而 Ortega-González 等以 50 mg/L 的 Pyr 为唯一碳源,14 d 后,镰刀菌属对 Pyr 的降解率为 51.32%^[25];丝状真菌宛氏拟青霉 30 d 对 BaA 的单一体系的降解率为 17.18%^[26]。这可能是由于菌株筛选地点不同其降解 PAHs 的能力存在差异,也可能是由摇瓶试验培养的环境、时间不同所致。从煤矿区土壤筛选的镰刀菌属 Y15 菌株是一种优良的 4 环 HMW-PAHs 降解菌,对 4 环 HMW-PAHs 具有很好的降解潜力。此外,Y15 对较高浓度及较低浓度的 Pyr 均有一定的降解效果,但是降解效果显著低于最适降解浓度($P < 0.05$),这与其他学者的研究结果^[6,27~28]一致。可能是由于 Y15 将 Pyr 作为唯一碳源,Pyr 浓度过低则菌体对底物的竞争作用会影响其生长,或者是 PAHs 浓度低时不能快速诱导产生裂解酶^[27];而过高浓度的 Pyr 以及 Pyr 代谢的中间产物的累积可能对降解菌起到了一定的毒害作用^[6,28],抑制了 Y15

的生长。

土壤培养试验中,通过向灭菌老化污染土壤的土壤样品中添加镰刀菌属 Y15 菌株的菌液以提高 PAHs 的降解效率, Y15 菌液对 Pyr、BaA、Chry 降解率分别为 15.02%、11.50%、12.20%,对 4 环 PAHs 的降解率为 13.15%。Potin 等将镰刀菌属等降解菌加入到未灭菌老化土壤中,30 d 后,镰刀菌属对 4 环 PAHs 的降解率为 22%^[29],这可能是由土壤的理化性质、菌种、接菌量不同所致^[30],也可能是因为镰刀菌菌液中营养物质加入未灭菌土壤中影响了土著微生物的生长,促进其生长,提高 PAHs 的降解效果^[31]。就土壤酶活性而言,多酚氧化酶活性与对照组相比显著降低($P < 0.05$),与 Liu 等的结论^[32]一致。

参考文献:

- [1] 许丽,高振,罗霖,等.一株高效降解苊的细菌分离、鉴定及其降解效果[J].微生物学报,2011,51(3):313-319.
- [2] Luan T G, Yu K S, Zhong Y, et al. Study of metabolites from the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by bacterial consortium enriched from mangrove sediments[J]. Chemosphere, 2006, 65(11):2289-2296.
- [3] Shree N S, Rudra D T. Environmental bioremediation technologies[M]. Berlin:Springer,2007:409-443.
- [4] 罗霖. 高效降解高分子量多环芳烃混合菌剂的开发[D]. 北京:轻工业环境保护研究所,2013.
- [5] Khanna P, Goyal D, Khanna S. Pyrene degradation by isolated from crude oil contaminated soil[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 2011, 31(1):1-15.
- [6] 白鹏,钟鸣,赵媛媛,等.苊高效降解菌 ZQ5 的培养条件及无机元素对其降解效率的影响[J].环境工程学报,2012,6(7):2411-2416.
- [7] 李晓明,张明江,金京华,等.苊降解菌群驯化过程中的演变[J].微生物学报,2012,52(10):1260-1267.
- [8] Mohan S V, Kisa T, Ohkuma T, et al. Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2006, 5(4):347-374.
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000:30-163.
- [10] 曾跃春,李秋玲,高彦征,等.丛枝菌根作用下土壤中多环芳烃的残留及形态研究[J].土壤,2010,42(1):106-110.
- [11] 贾宝亮,范丙全,隋新华,等.分枝杆菌 TZh51 菌株的分离鉴定及其生物修复污染土壤的特性[J].微生物学报,2008,48(9):1214-1220.
- [12] 刘金巍,安彩秀,王磊,等.气相色谱-质谱联用法测定土壤中 16 种多环芳烃[J].岩矿测试,2012,31(2):325-330.
- [13] 张志远,王翠苹,刘海滨.可可毛色二孢菌对焦化厂土壤多环芳烃污染修复[J].环境科学,2012,33(8):2832-2839.
- [14] 常瑞雪.污泥多环芳烃的植物修复效果及其影响机理研究[D].保定:河北农业大学,2013.
- [15] United States Environmental Protection Agency. Semivolatile organic compounds by gas chromatography-mass spectrometry:8270D[S]. United States Environmental Protection Agency,1998
- [15] 赵欧亚,冯圣东,石维,等.煤矿区农田土壤多环芳烃生态风险评估方法比较[J].安全与环境学报,2015,15(2):352-358.

- [16] García-Díaz C, Ponce-Noyola M T, Esparza-García F, et al. PAH removal of high molecular weight by characterized bacterial strains from different organic sources[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 85(7):311-322.
- [17] 牛志刚,王新新,吴亮,等.一株含油污泥多环芳烃降解菌的分离鉴定和降解特性[J].资源节约与环保,2015(3):95-96,103.
- [18] Caldini G, Cenci G, Manenti R, et al. The ability of an environmental isolate of *Pseudomonas fluorescens*, to utilize chrysene and other four-ring polynuclear aromatic hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 44(1):225-229.
- [19] 杨璐溪.新鞘氨醇杆菌 US6-1 降解 HMW-PAHs 的代谢路径和转录调控研究[D]. 厦门:厦门大学,2014.
- [20] Guo C, Ke L, Dang Z, et al. Temporal changes in *Sphingomonas* and *Mycobacterium* populations in mangrove sediments contaminated with different concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)[J]. Marine Pollution Bulletin, 2011, 62(1):133-139.
- [21] 李恒植,林先贵.白腐真菌修复多环芳烃污染土壤及其降解机理的研究进展[J].安全与环境学报,2009,9(6):71-76.
- [22] Wen J W, Dawen G, Bo Z, et al. Co-metabolic degradation of pyrene by indigenous white-rot fungus *Pseudotrametes gibbosa* from the Northeast China[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(4):600-604.
- [23] Acevedo F, Pizzul L, Castillo M D, et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus *Anthrachophyllum discolor*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185(1):212-219.
- [24] Hidayat A, Tachibana S, Itoh K. Determination of chrysene degradation under saline conditions by *Fusarium* sp. F092, a fungus screened from nature[J]. Fungal Biology, 2012, 116(6):706-714.
- [25] Ortega-González D K, Cristiani-Urbina E, Flores-Ortiz C M, et al. Evaluation of the removal of pyrene and fluoranthene by *Ochrobactrum anthropi*, *Fusarium* sp. and their coculture[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, 175(2):1123-1138.
- [26] 李慧,蔡信德,罗琳,等.一株可同时降解多种高环 PAHs 的丝状真菌——宛氏拟青霉[J].生态学杂志. 2009, 28(9):1842-1846.
- [27] Bouchez M, Blanchet D, Vandecasteele J P. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 43(1):156-164.
- [28] 崔赫.一株多环芳烃降解菌的筛选,鉴定及其降解特性研究[D].长春:吉林农业大学,2013.
- [29] Potin O, Rafin C, Veignie E. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2004, 54(1):45-52.
- [30] 陈春云,岳珂,陈振明,等.微生物降解多环芳烃的研究进展[J].微生物学杂志,2007,27(6):100-103.
- [31] 毛健,骆永明,滕应,等.一株高分子量多环芳烃降解菌的筛选、鉴定及降解特性研究[J].微生物学通报,2008,35(7):1011-1015.
- [32] Liu R, Xiao N, Wei S, et al. Rhizosphere effects of PAH-contaminated soil phytoremediation using a special plant named Fire Phoenix[J]. The Science of the Total Environment, 2014, 473/474(3):350-358.