研究报告

十溴联苯醚降解菌群的降解特性与组成分析

陈桂兰 1,2,3,4 陈杏娟 1,3,4 郭俊 1,3,4 孙国萍 1,3,4 陆祖军 2 麦碧娴 5 许玫英 1,3,4*

- (1. 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东 广州 510070) (2. 广西师范大学 广西 桂林 541004)
 - (3. 广东省微生物应用新技术公共实验室 广东 广州 510070)
- (4. 广东省华南应用微生物重点实验室 省部共建国家重点实验室培育基地 广东 广州 510070) (5. 中国科学院广州地球化学研究所 广东 广州 510640)

摘 要:【目的】针对水体沉积物中日益严重的多溴联苯醚污染问题,以电子垃圾污染河床沉积物为种源富集驯化获得的菌群 Cf3,研究该菌群对十溴联苯醚的降解特性以及其菌群结构组成。【方法】通过 GC-MS 分析十溴联苯醚降解后低溴代产物组成,并测定其降解率;通过 DGGE 技术分析了该 BDE-209 降解菌群的结构组成。【结果】菌群 Cf3 具有较强降解 BDE-209 的能力,经过 120 d 的培养,初始量为 2.6 μmol 的 BDE-209 降解率达到 80.03%,OD600 从 0.01 增长到 0.21,pH 由初始的 6.93 增加到反应结束时的 8.50。菌群 Cf3 经过单菌落分离,共获得 10 株可培养细菌,通过 16S rRNA 基因序列比对发现,其中 6 株与柠檬酸杆菌属(Citrobacter spp.)具有较高同源性,其余 4 株与产碱杆菌属(Alcaligenes spp.)较相似。进一步采用 DGGE 分析菌群 Cf3 的结构组成时发现,除了分离得到的 2 个菌属外,该菌群中还含有拟杆菌属(Wolinella spp.)、氨基酸球菌属(Acidaminococcus spp.),以及随着降解时间延长而消失的脱硫弧菌属(Desulfovibrio spp.)和醋杆菌属(Acetobacterium spp.)。【结论】获得了具有较强多溴联苯醚降解能力的菌群,并分析了其降解特性和群落组成,为进一步开展溴代阻燃剂等持久性有机污染物的生物修复提供宝贵的菌种资源和科学数据。

关键词: 降解菌群, 十溴联苯醚, 生物降解, 群落组成

收稿日期: 2012-06-19: 接受日期: 2012-10-17

基金项目: 广东省自然科学基金研究团队项目(No. 9351007002000001); 国家 973 计划项目(No. 2012CB22307); 广东省自然科学基金项目(No. S2011010004267, 10451007002006300); 广东省国际合作项目(No. 2011B050400005)

^{*}通讯作者: Tel/Fax: 86-20-87684471; ⊠: xumy@gdim.cn

Characteristics and composition of the microbial consortium for decabromodiphenyl ether (BDE-209) degradation

CHEN Gui-Lan^{1,2,3,4} CHEN Xing-Juan^{1,3,4} GUO Jun^{1,3,4} SUN Guo-Ping^{1,3,4}
LU Zu-Jun² MAI Bi-Xian⁵ XU Mei-Ying^{1,3,4*}

- (1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Microbiology, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)
 - (2. Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China)
- (3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou, Guangdong 510070, China)
 - (4. State Key Laboratory of Applied Microbiology, (Ministry-Guangdong Province Jointly Breeding Base), South China, Guangzhou, Guangdong 510070, China)
 - (5. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: [Objective] A microbial consortium Cf3, which was obtained and enriched from an e-waste contaminated river sediment, was applied to study the characteristics for decabromodiphenyl ether (BDE-209) degradation in order to pave a way for the bioremediation of PBDEs contaminant in sediment. And the composition of the microbial consortium was also studied. [Methods] Congeners of BDE-209 after the biodegradation were analyzed by GC-MS and the degradation rates were calculated. The composition of the microbial consortium was analyzed by DGGE. [Results] High BDE-209 degradation rates were obtained by consortium Cf3. After 120 days incubation, 80.03% BDE-209 was transformed by consortium Cf3 when the initial amount of BDE-209 was 2.6 µmol. Meanwhile, the biomass was obtained and the OD_{600} value increased from 0.01 to 0.21. The pH also changed from 6.93 to 8.50 during the degradation process. Ten cultivable strains were isolated from this consortium, six of which associated with Citrobacter spp. and four with Alcaligenes spp. based on the 16S rRNA gene sequences. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) results showed that other four major genera Wolinella spp., Acidaminococcus spp., Acetobacterium spp. and Desulfovibrio spp. were presented besides Citrobacter spp. and Alcaligenes spp.. However, the bands for Acetobacterium spp. and Desulfovibrio spp. disappeared with prolonging the incubation time. [Conclusion] A microbial consortium with high PBDEs degradation rate was obtained. The data obtained in the study about the characteristics of the degradation of BDE-209 by the microbial consortium and the composition of the consortium could provides some useful information and precious strains resources for the anaerobic bioremediation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the persistent organic polluted environment.

Keywords: Degradation consortium, Decabromodiphenyl ether (BDE-209), Biodegradation, Microbial composition

多溴联苯醚(Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)是一类溴代阻燃剂,广泛应用于电器、汽车、油漆等产品中。PBDEs 有 209 种同系物,广泛使用的包括五溴联苯醚(Penta-BDEs)、八溴联苯醚(Octa-BDEs)和十溴联苯醚(Deca-BDEs),尤以十溴联苯醚为最^[1]。PBDEs 是一类具有生态风险性的新型持久性有机污染物,具有高毒性、致突变性和致癌性,被称作"21 世纪的多氯联苯(PCBs)"^[2],其亲脂性和生物易累积等特点使其在生物体内的脂肪和蛋白质中蓄积,并通过食物链放大^[3],主要影响动物神经和生殖发育系统,并干扰甲状腺激素的分泌^[4]。目前已在水体、大气、土壤等环境,以及植物、鸟类、鱼类、人体等生物体内检测到 PBDEs 的存在^[5]。PBDEs 对环境和生物体的危害日益被人们所关注。

目前降解 PBDEs 的物化法有光降解、化学吸 附等, 这些方法容易产生更多毒性更大的低溴代 或羟基化的产物。厌氧生物降解可以实现厌氧环 境中 PBDEs 的原位生物修复, 是 PBDEs 治理研 究的热点。目前已有以河床底泥、活性污泥、消 化污泥和土壤微生物等微生物群落进行 PBDEs 降解的研究报道。Yen 等以台湾地区的 Er-Jen 和 Nan-Kan 河流底泥为接种微生物, 研究了四溴联 苯醚 (Tetra-BDE, BDE-47)、五溴联苯醚 (Penta-BDE, BDE-99)和六溴联苯醚(Hexa-BDEs, BDE-153 和 BDE-154)与厌氧细菌降解的相互关 系, 培养体系中浓度为 0.1 mg/L 的 PBDE 在接种 河流底泥70 d 后约有20%被降解,利用变性梯度 凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)分析培养体系中微生物菌群结构组成,发 现不同种类的 PBDEs 对菌群的影响各不相同[6]。 Gerecke 等研究了厌氧污泥对十溴联苯醚 (BDE-209)、四溴双酚 A (TBBPA)和六溴环十二烷 (HBCD)的厌氧降解,结果发现后两者的半衰期 小于 1 d, 而在同样系统中 Deca-BDE 的半衰期

却长达 700 d^[7]。除了利用微生物群落开展的研究 以外, 也有极少数利用微生物纯系菌株进行 PBDEs 降解研究的报道, 但是所采用的实验菌株 大部分是已发现具有脱氯作用的细菌或联苯醚 降解菌,并且降解反应大多需要添加氯代化合物 如三氯乙烯、五氯苯酚、3-氯-4-羟基苯为共代谢 底物[8]。脱氯呼吸细菌或者菌群已被证实具有在 共代谢条件下还原PBDEs的能力, 研究发现脱氯 呼吸细菌 Dehalococcoides ethenogenes 195 只能 在三氯乙烯存在条件下厌氧降解八溴和十溴联 苯醚, 而在没有三氯乙烯的条件下PBDEs在一年 的时间内也没有发生还原脱溴反应^[9]。Lip 等利用 包含有脱卤菌属(Dehalococcoides spp.)和脱硫弧 菌属(Desulfovibrio spp.)的 GY2 菌群降解四溴联 苯醚混合物(BDE-49、BDE-99 和 BDE-100), 结果 发现 GY2 菌群分别以 36.9、19.8 和 21.9 nmol/d 的速度把 BDE-49、BDE-99 和 BDE-100 降解为 无溴代的联苯醚, 降解率达到在 88%-100%, 其 中 Dehalococcoides spp.的生长与 PBDEs 的脱溴 降解紧密相关^[10], 但总体而言, 已发现的 PBDEs 降解功能微生物菌种资源极少。

本研究以广东汕头某电子垃圾集中处理区的河床底泥为接种物,通过富集培养获得了具有PBDEs 降解能力的菌群 Cf3,重点研究了菌群 Cf3 降解 BDE-209 的能力及其结构组成,为PBDEs 污染底泥的原位生物修复提供了宝贵的菌种资源和参考数据。

1 材料与方法

1.1 试剂

BDE-209 购买自 TCI (Tokyo, Japan)公司, 纯度>98%; 定性定量所用的 PBDE 同系物购买自 AccuStandards (New Haven, CT)公司。

1.2 菌群的富集

取20g广东汕头某电子垃圾集中处理区的河

床底泥, 加入 80 mL 无菌水搅匀打散后, 过筛去 掉植物残渣及大颗粒物;滤液再常温2000×g离心 2 min, 去掉小颗粒物; 得到的上清液经 6 000×g 常温离心 10 min, 收集沉淀物: 再向沉淀物加入 80 mL 无菌水、洗涤、离心处理 3 次: 最后获得的 沉淀物作为菌源, 接种到 100 mL 含 2.6 μmol BDE-209 的 无 机 盐 培 养 基 [11] (Na₂HPO₄ 5.7 mmol/L, KH₂PO₄ 3.3 mmol/L, NH₄Cl 18.0 mmol/L)中, 同时补充酵母抽提物 1 g/L, 琥 珀酸钠 20 mmol/L, 甲酸钠 20 mmol/L, 乳酸钠 20 mmol/L, 柠檬酸铁 5 mmol/L, 微量元素和维 生素 10 mL/L, 同时接种 1% (V/V)的铁还原细菌 Shewanella decolorationis S12。每个月更换一次培 养液, 将沉淀物和菌株 S12 新鲜菌液重新接种到 新鲜的培养液中, 驯化周期为10个月, 富集驯化 的南群命名为 Cf3。

1.3 Cf3 菌群降解 BDE-209 的能力

在 100 mL 样品瓶中加入小玻璃珠后,加入 3.1 mL 以二氯甲烷溶解的浓度为 800 mg/L 的 BDE-209,使培养体系中的 BDE-209 总量为 2.6 μ mol。待二氯甲烷挥发完全后,添加 100 mL 上述无机盐培养基,同时补充乳酸钠 20 mmol/L、琥珀酸钠 20 mmol/L、酵母提取物 0.1%,接种 Cf3 菌群悬浮液(OD_{600} =0.5) 100 μ L,以不接菌的培养体系为对照。培养瓶于 30 °C 静置避光培养,定期取出 8 mL 培养液用于分析 OD_{600} 、pH,同时补充 8 mL 新鲜培养液,每组实验设 3 个平行。

1.4 代谢产物分析方法

培养 120 d 后取培养液, 按水相:有机相=2:1 (V/V)的比例, 添加二氯甲烷萃取, 萃取 3 次, 每次 2-3 min, 收集萃取液到鸡心瓶中, 低温真空旋转蒸发仪蒸干萃取液, 正己烷冲洗鸡心瓶, 并将洗涤的正己烷用吸管吸到 25 mL 棕色容量瓶中用正己烷定容, 测定前取 1 mL 正己烷溶液用 0.22 μm 有机相过滤膜过滤, 滤液收集到 1.5 mL 棕色样品

瓶中,利用气相色谱质谱联用仪(GC-MS)分析代谢产物。代谢产物由中国科学院广州地球化学研究所分析,具体方法参照文献[12]。

1.5 Cf3 菌群中单菌株的分离和鉴定

可培养微生物单菌落的分离所采用的固体培养基是在 1.3 中所介绍的培养基的基础上添加 2% 的琼脂。采用稀释涂平板和挑单纯化的方法在兼性厌氧和严格厌氧的条件下进行分离纯化。提取各菌株的 DNA,利用细菌 16S rRNA 基因的通用引物: 27F (5'-AGAGTTTGATCMTCMTGGCTC A-3')和 1492R (5'-TACGYTACCTTGTTACGAC T-3')扩增菌株的 16S rRNA 基因序列。扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 55 °C 2 min, 72 °C 1 min, 94 °C 1 min, 149 °C 1 min,

1.6 变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析菌群组成

采用 Dcode 突变检测系统(Bio-Rad)对 16S rRNA基因 V6区扩增片段进行 DGGE分析,变性梯度为 45%-75% (40%丙烯酰胺/双丙烯酰胺),使用电泳缓冲液为 1×TAE,每个样品 3 个泳道;电泳条件为 60°C 恒温下,20 V 电泳 30 min 后,80 V 电泳 12.5 h,电泳结束后用 Goldview 荧光染料染色 30 min, UVItec 紫外凝胶成像系统

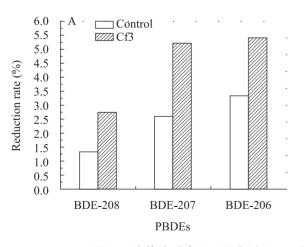
(Cambridge, UK)观察, 并用 Quantity one 软件分析结果。

选择凝胶上丰度较高、变化较为明显的条带切胶回收后作为模板再扩增,扩增产物送广州华大公司测序,所测的序列与 GenBank 中的基因序列进行同源性比较,选取相似性较高的序列,利用 MEGA 5.05 构建系统发育树。

2 结果分析

2.1 菌群 Cf3 降解 BDE-209 的能力

对菌群 Cf3 降解 BDE-209 后的代谢产物进行 GC-MS 分析发现,菌群 Cf3 具有较强的还原降解 BDE-209 的能力,起始总量为 2.6 µmol 的 BDE-209 在 120 d 后剩余量仅为 0.53 µmol (图 1),降解率达到 80.03%,而不接菌的对照中 BDE-209 的剩余量是 2.4 µmol,降解率为 7.53%。分析菌群 Cf3 对 BDE-209 的主要代谢产物是九溴联苯醚 (Nona-BDEs): BDE-208、BDE-207 和 BDE-206,所占比例均大于 2.4% (图 2A);另外,八溴代产物(Octa-BDEs)有 BDE-201、BDE-202、BDE-203、BDE-196 和 BDE-197,含量均低于 1.0% (图 2B),反应体系中未检测到七溴代或更低溴代的产物。



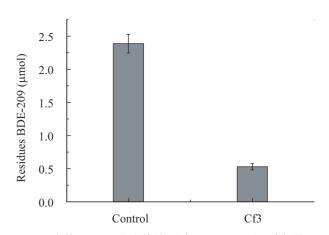


图 1 培养 120 d 后培养体系中 BDE-209 的剩余量 Fig. 1 BDE-209 concentration in the culture systems after 120 d incubation

2.2 菌群 Cf3 降解 BDE-209 过程中 *OD*₆₀₀ 和 pH 的变化

菌群 Cf3 在降解 BDE-209 过程中的前 39 天 菌体细胞浓度呈增长趋势。培养 10 d 后, OD_{600} 由 0.01 增长为 0.14,继续培养到 39 d, OD_{600} 增长为 0.27 (图 3A),培养至 120 d 时 OD_{600} 仍保持在 0.21。由此可见,菌群 Cf3 在降解 BDE-209 的过程中获得生长。在培养过程中体系的 pH 逐渐升高(图 3B),由起始的 6.93 逐渐升高至反应结束时达到 8.50。

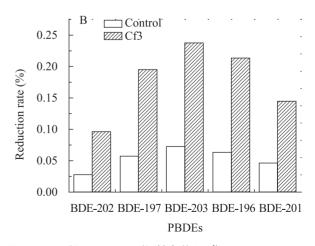


图 2 培养体系中相对比例大于(A)或小于(B) 1.0%的 BDE-209 代谢产物组成 Fig. 2 The PBDEs congeners of BDE-209 with higher (A) or less (B) than 1.0% relative abundance in the culture systems

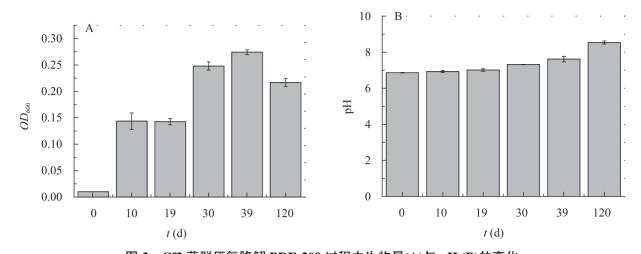


图 3 Cf3 菌群厌氧降解 BDE-209 过程中生物量(A)与 pH (B)的变化 Fig. 3 The changes of biomass Cf3 (A) and pH (B) during the anaerobic degradation of BDE-209 by the consortium Cf3

2.3 菌群 Cf3 的组成分析

2.3.1 可培养微生物单菌落的分离鉴定:将菌群Cf3稀释涂平板后挑取菌落形态存在差异的10个单菌落进一步纯化,并测定其相应的 16S rRNA基因测序。通过与 GenBank 中已有的细菌 16S rRNA基因序列进行比对,发现这10株菌分别归属于檬酸杆菌属(Citrobacter spp.)和产碱杆菌属(Alcaligenes spp.)。其中,菌株Cf3-E、a、b、c、f和g与归属于柠檬酸杆菌属(Citrobacter spp.)的Citrobacter sp. clone F2aug.10 (GQ417442.1)有99%的相似性,而菌株Cf3-A、B、C和D与归属于产碱杆菌属(Alcaligenes spp.)的Alcaligenes faecalis strain DZ2 (HQ202537.1)也有99%的相似性。各菌株的16S rRNA基因的序列已提交到GenBank,登录号为JX847782-JX847791。

2.3.2 Cf3 的群落组成分析:采用 DGGE 分析降解 30 d和 120 d时菌群 Cf3 的结构组成(图 4),结果发现除了已通过培养发现的柠檬酸杆菌属(Citrobacter spp.)和产碱杆菌属(Alcaligenes spp.)外,这两个降解阶段菌群中均含有拟杆菌属(Wolinella spp.)、氨基酸球菌属(Acidaminococcus spp.)、醋杆菌属(Acetobacterium spp.)和真杆菌属(Eubacterium spp.) (图 5)。而与 Eubacterium spp.

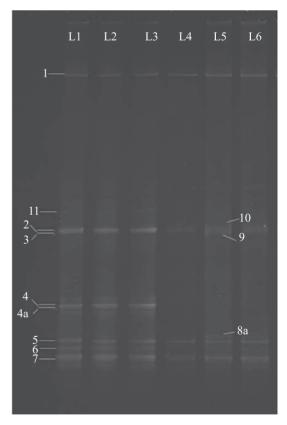


图 4 菌群 Cf3 降解 BDE-209 过程中的 DGGE 分析 Fig. 4 Community composition varies of consortium Cf3 during BDE-209 degradation processes by DGGE 注: L1-L3: 降解 30 d的 Cf3 菌群组成, Cf3 (30 d); L4-L6: 降解 120 d的 Cf3 菌群组成, Cf3 (120 d).

Note: L1–L3: Community composition of Cf3 in 30 d, Cf3 (30 d); L4–L6: Community composition of Cf3 in 120 d, Cf3 (120 d).

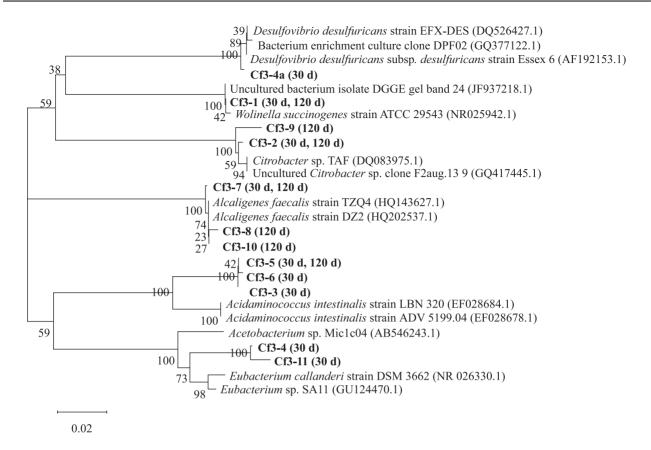


图 5 DGGE 图谱中优势条带的系统分类树

Fig. 5 Phylogenetic analysis of the dominant bands in DGGE profile

注: 括号内为 GenBank 检索号; 进行 1 000 次的相似度重复计算; 比例尺为 2%的序列差异. 字体加粗部分的编号为 DGGE 中检测到的优势条带编号, 括号中表示检测到该条带的降解时间.

Note: Numbers in brackets represent the sequences' accession number in GenBank. 1 000 times similarity calculation was conducted support. Bar: 2% sequence divergence. Number in bold indicated dominant band in DGGE and the figure in brackets indicated the degtadation time.

和 *Desulfovibrio* spp.具有较高同源性的 2 个条带 (Cf3-4、4a)则仅在降解 30 d 时检测到。利用 Quantity One 软件分析 DGGE 图的 Shannon-Wiener 指数也发现, 30 d 时的指数为 1.58, 而 120 d 时为 1.45, 可见随着驯化时间的延长菌群 Cf3 的多样性有所下降。

3 讨论

多溴联苯醚的强亲脂性、难降解性和高富集性的特点使其容易在底泥中累积并对生态安全造成危害^[13]。调查发现,底泥环境中80%以上的

PBDEs 都是溴取代程度最高、结构最稳定、最难降解的 BDE-209, 因此, BDE-209 的有效降解是解决环境中 PBDEs 环境污染问题的一个关键。

已发现活性污泥或河流沉积物中的微生物具有厌氧降解PBDEs 功能,但这些微生物往往需要在添加氯代化合物或其它类似物为共代谢底物的条件下才能对PBDEs 进行脱溴降解。如 Gereke等利用沼气池的消化污泥降解 BDE-209,经过238 d 的连续培养,初始总量为11.2 nmol 的BDE-209 降解了3 nmol,降解率大约是30%,而添加α-六氯环己烷(α-Hexachlorocyclohexane,

α-HCH)后 BDE-209 的降解率提高为 50%^[14]。本研究以电子垃圾污染的河床底泥为接种物, 经富集培养驯化 10 个月后获得具有高效的 BDE-209降解能力的菌群 Cf3。该菌群可以在不添加氯代化合物或其它类似物为共代谢底物、营养相对贫乏的无机盐培养体系中使初始总量为 2.6 μmol的 BDE-209 经 120 d 培养后降解 80.03%, 并使菌体获得生长。

分析菌群 Cf3 的结构组成发现. 柠檬酸杆菌 和产碱杆菌是该菌群中可通过分离培养获得的 优势菌属。已有研究表明, 产碱杆菌具有异养硝化 和亚硝化作用[15],可以降解机油[16]、多氯联苯[17] 和三氯乙烯[18]等毒害性有机物。其中 Alcaligenes sp. JB1 主要通过组成型的 2.3-二羟基联苯 1.2-双 加氧酶和邻苯二酚 2,3-双加氧酶及诱导型的苯甲 酸双加氧酶和邻苯二酚 1,2-双加氧酶等参与多氯 联苯的降解[17]; Alcaligenes eutrophus JMP134 则 采用染色体编码的苯酚降解涂径和质粒编码的 2,4-二氯苯氧乙酸这两种相对独立的芳香烃降解 途径降解三氯乙烯[18]。关于柠檬酸杆菌属降解 苯酚、联苯、活性染料等有机物也已有相关报 道[19-20]。与 DGGE 中的 Cf3-1 条带具有较高同源 性的 Wolinella succinogenes 也可以多种氯代化合 物为厌氧呼吸的电子受体[21]。目前有关这些菌属 降解 BDE-209 的特性尚属首次报道。本研究还发 现, 随着培养时间的延长菌群的多样性和丰度相 对降低。其中、降解 30 d 时菌群 Cf3 的 DGGE 优 势条带 Cf3-4a 与脱硫弧菌的同源性较高, 但随着 培养时间的延长,这个条带消失了,其它条带的 丰度也明显降低, 这与 He 等[22]在四氯乙烯的脱 卤降解实验中发现脱硫弧菌的存在更有利于脱 卤微生物 Dehalococcoides ethenogenes 195 的生 长的结论相当一致。推测脱硫弧菌在维持培养体 系中微生物菌群的多样性和丰度方面发挥着重 要作用。

进一步分析所检测到的 BDE-209 还原脱溴产物组成发现,所测得的九溴代同系物BDE-208、-207、-206分别仅占 BDE-209 降解量的 2.74%、5.22%和 5.40%,各种八溴代同系物的含量分别不足 1.0%,七溴或者更低溴的代谢产物均未被检测到。BDE-209 降解率是 80.03%,而这些还原脱溴产物的总量仅占 BDE-209 降解总量的 14.25%,这种现象的发生极有可能是由于该菌群具有还原脱溴以外的其它降解 BDE-209 的途径(如羟基化、甲基化或醚键直接断裂等),而本研究中所采用的样品前处理和分析方法无法成功对这些代谢产物进行检测。

综合以上分析, 菌群 Cf3 具有高效 BDE-209 厌氧降解能力。该菌群的成功富集培养为厌氧沉积物中高度累积的 BDE-209 的厌氧生物降解提供了宝贵的菌种资源和科学数据。但由于BDE-209 生物降解的复杂性和产物组成的多样性, 亟需进一步利用高通量的功能微生物菌群结构和代谢产物分析方法, 对该菌群降解 BDE-209的途径进行深入的研究, 为厌氧沉积层中 PBDEs 等持久性有机污染物的原位生物修复提供新的途径。

参考文献

- [1] 陈社军,田密,罗勇,等. 多溴联苯醚在电子废弃物拆卸地沉积物中的垂直分布[J]. 环境科学,2010,31(12):3088-3092.
- [2] 孟范平,李卓娜. 多溴联苯醚(PBDEs)在海洋环境中的行为研究进展[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2009, 39(2): 285-289.
- [3] 任金亮, 王平. 多溴联苯醚环境行为的特征与研究进展[J]. 化工进展, 2006, 25(10): 1152-1157.
- [4] McDonald TA. A perspective on the potential health risks of PBDEs[J]. Chemosphere, 2002, 46(5): 745–755.

- [5] 张帆, 余应新, 张东平, 等. 溴系阻燃剂在环境及人体中的存在和代谢转化[J]. 化学进展, 2009, 21(6): 1364-1372.
- [6] Yen JH, Liao WC, Chen WC, et al. Interaction of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) with anaerobic mixed bacterial cultures isolated from river sediment[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 165(1/3): 518–524.
- [7] Gerecke AC, Giger W, Hartmann PC, et al. Anaerobic degradation of brominated flame retardents in sewage sludge[J]. Chemosphere, 2006, 64(2): 311–317.
- [8] Robrock KR, Korytár P, Alvarez-Cohen L. Pathways for the anaerobic microbial debromination of polybrominated diphenyl ethers[J]. Environmental Science and Technology, 2008, 42(8): 2845–2852.
- [9] He JZ, Robrock KR, Alvarez-Cohen L. Microbial reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)[J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(14): 4429–4434.
- [10] Lip KL, Chang D, Yang KL, et al. Complete debromination of tetra- and penta-brominated diphenyl ethers by a coculture consisting of *Dehalococcoides* and *Desulfovibrio* species[J]. Environment Science Technology, 2011, 45(19): 8475-8482.
- [11] Wolin EA, Wolin MJ, Wolfe RS. Formation of methane by bacterial extracts[J]. Journal of Biological Chemistry, 1963, 238(8): 2882–2886.
- [12] 陈社军,麦碧娴,曾永平,等.珠江三角洲及南海北部海域表层沉积物中多溴联苯醚的分布特征 [J]. 环境科学学报,2005,25(9):1266-1267.
- [13] Lovely DR, Elizabeth JP. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 51(4): 683–689.
- [14] Gerecke AC, Hartmann PC, Heeb NV, et al.

- Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether[J]. Environment Science and Technology, 2005, 39(4): 1078–1083.
- [15] 王成林,周巧红,王亚芬,等.一株异养硝化细菌的分离鉴定及其亚硝化作用研究[J]. 农业环境科学学报,2008,27(3):1146-1150.
- [16] 吴智城. 机油降解菌的分离、筛选、鉴定及降解机油性能研究[D]. 福州: 福建师范大学硕士学位论文, 2007.
- [17] Commandeur LC, May RJ, Mokross H, et al. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls by *Alcaligenes* sp. JB1: metabolites and enzymes[J]. Biodegradation, 1996, 7(6): 435–443.
- [18] Harker AR, Kim Y. Trichloroethylene degradation by two indenpendent aromatic-degradation pathways in *Alcaligens eutrophus* JMP134[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(4): 1179–1181.
- [19] Mohite BV, Pawar SP, Morankar A. Isolation, selection and biodegradation profile of phenol degrading bacteria from oil contaminated soil[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2011, 87(2): 143-146.
- [20] Grishchenkov VG, Slepen'kin AV, Boronin AM. Anaerobic degradation of biphenyl by the facultative anaerobic strain Citrobacter freundii BS2211[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2002, 38(2): 145–148.
- [21] Xu JL, Song YG, Min B, et al. Microbial degradation of perchlorate: principles and applications[J]. Environmental Engineering Science, 2003, 20(5): 405–422.
- [22] He JZ, Holmes VF, Lee PKH, et al. Influence of vitamin B₁₂ and cocultures on the growth of *Dehalococcoides* isolates in defined medium[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 73(9): 2847–2853.