

一株链霉菌的分离、鉴定及其特性研究

雒晓芳¹, 陈丽华^{2*}, 杨成波³, 徐娟娟², 娜吾巴尔·阿布都黑力⁴, 赵梓彤⁴

¹西北民族大学实验教学部; ²西北民族大学化工学院, 兰州 730030;

³中国人民解放军联勤保障部队第940医院介入治疗科, 兰州 730050;

⁴西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730030

摘要:从甘肃华庆油田土壤中采样, 通过分离、筛选得到一株链霉菌 Sa。依据形态学特性、生理生化特征和 16S rDNA 序列分析, 将菌株 Sa 归属于暗黑微绿链霉菌 (*Streptomyces anthracene*) 的一种。为研究该菌株在不同温度、pH、菌液量、盐度下对蒽的降解性能及脱氢酶活性, 实验以蒽为唯一碳源, 测定其降解率和脱氢酶活性。通过以降解过程中脱氢酶活性为响应值, 考察各自变量及自变量之间的交互作用对脱氢酶活性的影响, 优化降解脱氢酶活性与各自变量条件因素的响应关系。结果表明, 单因素影响效果依次为: pH、温度、菌液量; 交互效应影响效果依次为: pH-菌液量、温度-菌液量、温度-pH。其中 pH 与菌液量交互作用 *P* 值小于 0.05, 其交互效应对蒽的脱氢酶活性作用显著, 脱氢酶活性为 121.50 μg/mL 与预测结果相接近, 说明暗黑微绿链霉菌的脱氢酶活性良好。

关键词:链霉菌; 鉴定; 特性

中图分类号: Q93

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)12-2073-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.12.012

Isolation, identification and characterization of a strain of *Streptomyces*

LUO Xiao-fang¹, CHEN Li-hua^{2*}, YANG Cheng-bo³, XU Juan-juan²; NAWUBAER · Abuduheili⁴, ZHAO Zi-tong⁴

¹Experimental Teaching Department, Northwest University for Nationality;

²School of Chemical Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China;

³Interventional Therapy Department, The 940th Hospital of Joint Logistics

Support Force of People's Liberation Army, Lanzhou 730050, China;

⁴College of Life Science and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China

Abstract: The sample was taken from the soil of Huaqing oilfield of Gansu Province, and a streptomycete called Sa was obtained through separation and screening. Sa was assigned to a species of *Streptomyces anthracene* according to its morphologic properties, physiological and biochemical characteristics, and sequence analysis of 16S rDNA. To investigate the degradation performance and dehydrogenase activity of anthracene under different temperatures, pH, the quantity of bacterial liquid, and salinity, the anthracene is taken as the only carbon source to determine its degradation rate and dehydrogenase activity. By taking the dehydrogenase activity as the response value during the degradation process, the influence of the interaction between each independent variable on the dehydrogenase activity is investigated to optimize the response relationship between the dehydrogenase activity and each independent variable. The results indicate that the effects of single factors follow the order of pH, temperature, and bacterial liquid quantity; the effects of interaction follow the order of pH-bacterial liquid quantity, temperature-bacterial liquid quantity, temperature-pH. The *P* value of interaction between pH and bacterial liquid quantity is less than 0.05, and its interaction has a significant effect on the dehydrogenase activity of anthracene. The dehydrogenase activity is 121.50 μg/mL which is close to the predicted result and indicates the good dehydrogenase activity of *S. anthracene*.

Key words: streptomycete; identification; characteristic

收稿日期: 2020-01-09 接受日期: 2020-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(21966028); 西北民族大学基本科研业务费专项(31920190052); 西北民族大学开放项目(SYSKF-2020006)

* 通信作者 E-mail: clh@xbmu.edu.cn

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是由两个或两个以上苯环构成的稠环化合物, 它主要来源煤, 石油, 木材, 烟草, 有机高分子化合物等有机物不完全燃烧时产生的挥发性碳氢化合物,

是环境持久性污染物中最具有代表性的一类持久性有机污染^[1]。PAHs 有很多种,蒽属于其中的一种,由于 PAHs 有难降解性、生物毒性、生物累积性和很强的致癌性^[2],严重威胁着人类身体健康,因此如何除去环境中的 PAHs,保证人类健康和自然环境的可持续发展成为了现代学术领域的热门问题。

近几年,通过各国环境科学领域的研究和实验表明,解决环境中多环芳烃污染物主要是通过物理^[3,4]、化学^[5,6]和生物^[7,8]三种解决途径。由于微生物的代谢,主要依靠自身产生的酶来进行,当微生物体中脱氢酶活性较高时,微生物的分解代谢能力越强,代谢效率越高,对污染物的降解性能越好,所以目前大多数用微生物降解的方法除去环境中的污染物^[9]。Fan 等^[10]利用微生物菌群对混合烃进行降解发现,该菌群对去除土壤中由环十二烷、正十六烷和芘所构成的混合烃类污染物具有明显的促进作用,各类污染物的降解速率均呈现先高后低的趋势,与微生物多样性、数量以及活性变化趋势相似。Ma 等^[11]采用高浓度的 PAHs 作为环境选择压力,获得了高效多环芳烃(PAHs)降解菌群,结果表明,菲菌和芘菌对高环多环芳烃 PAHs 具有较强降解能力。Luo 等^[12]等通过采用苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)在不同温度、pH、PAHs 质量下对蒽、芘、芴的降解性能,实验结果表明,温度与 pH 交互对蒽、芘的降解影响较显著,温度与 PAHs 质量交互对芴的降解影响较显著。

近年来,蒽、芘、芴通常被用来研究 PAHs 微生物降解机制的模式化合物。本文主要是在自然界中筛选能够对蒽进行降解的微生物^[13],并对微生物进行分离鉴定,然后分析了暗黑微绿链霉菌在不同温度、pH、菌液量、盐度条件下对蒽化合物的降解性能及脱氢酶活性,通过响应面法设计和单因素实验的方法,以温度、pH、浓度为自变量,降解率为因变量分析各因素之间的交互作用,找出降解蒽的最佳脱氢酶条件,为多环芳烃污染土壤的修复技术提供资源保障和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源

从甘肃华庆油田油井附近地表深度为 10 cm 左右石油污染土壤中富集、筛选分离得到 1 株优势菌株,初步命名为 Sa。

1.1.2 主要试剂

蒽(An)、氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)、环己烷、甲苯(以上均为分析纯),活性炭(颗粒状和粉状)、浓硫酸(H₂SO₄,优级纯)

1.1.3 仪器

KRQ-400P 智能型人工气候箱(上海齐欣科学仪器有限公司);TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);S. SW-CJ-2F 净化工作台(上海跃进医疗器械厂)

1.2 鉴定方法

1.2.1 菌株鉴定

1.2.1.1 形态观察与生理生化鉴定

在 30 ℃ 下,将分离筛选而得的菌悬液涂布在营养琼脂平板上培养,2 天后观察菌株的生长情况,记录菌落特征。进行简单染色,在显微镜下观察该菌株的形态特征。参照《微生物学实验(第 4 版)》对菌株进行生理生化鉴定。

1.2.1.2 分子生物学鉴定

以细菌总 DNA 为模板进行扩增,采用细菌 16S rDNA PCR 通用引物:8F(5'-AGAGTTTGATCCTG-GCTCAG-3')和 1512R(5'-ACGGCTACCTTGTCCGAC TT-3'),进行 PCR 扩增,反应条件为:94 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 1 min,55 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 1.5 min,共 30 次循环;最后 72 ℃ 延伸 5 min。扩增后的产物寄到宝生物有限公司测序。将 16S rDNA 测序结果用 BLAST 软件与 Genbank 中已登录的 16S rDNA 序列进行同源性比较。用分子进化遗传学分析与序列比对软件 MEGA5.1 的邻近相接法(Neighbor-Joining Method)对 clustalx 多重比对结果进行系统进化分析,采用 Boot strap 方法 500 个重复进行可靠性检验。

1.3 菌株的培养基及培养条件

将制备的营养肉汤培养基,放在 121 ℃ 高压灭菌 15 min,备用。在无菌条件下将该菌株接种于待用的营养肉汤培养基中,37 ℃ 培养 24 h。

1.4 单因素降解率的测定

用索氏提取法测定降解率,降解时间 48 h 左右,取出装置,提取瓶中吸取 0.5 mL 定容至 50 mL,环己烷作为空白对照在紫外分光光度计 290 nm 处测定吸光度值,并与标准曲线作对比,计算出残留量和降解率,记录数据,绘制折线图。

1.4.1 温度梯度设定及实验方法

将制备好的若干样品各加入 5 mL 菌液(选择

40~50 h 的菌悬浮液进行降解特性研究,以下类同。设计 3 个重复组),恒温培养箱分别调至 24、26、28、30、32 °C 进行 2 h 恒温振荡培养^[14]。

1.4.2 pH 梯度设定及实验方法

将制备好的菌液分为五份,用 1 mol/L 的盐酸和氢氧化钠分别调至 pH 为 3、5、7、9、11^[15],放入制备好的若干样品中(设计 3 个重复组),混匀放置 28 °C 恒温培养箱振荡培养 72 h。

1.4.3 菌液量梯度设定及实验方法

将制备好的样品分别加入 1、3、5、7、9 mL Sa 菌液(设计 3 个重复组),混匀放置 28 °C 恒温培养箱振荡培养 72 h。

1.4.4 盐度梯度设定及试验方法

将制备好的菌液分为五份,用 NaCl 分别调至盐度为 40、80、120、160、200 mmol/L 五个值。调制后分别加入制备好的若干样品中(设计 3 个重复组),混匀放置 28 °C 恒温培养箱振荡培养 72 h。

1.5 脱氢酶活性测定方法

将培养物称取 1 g 于 15 mL 离心管,加入 3 mL 蒸馏水洗涤,在离心机上 4 000 rpm 离心 3 min,倒出

上清液(设计 3 个重复组)。再次加入 3 mL 蒸馏水、2 mL Tris-HCL 溶液、0.5 mL TTC 溶液,放置 37 °C 培养箱 24 h 后取出,立即加入 2 滴浓硫酸终止反应。振荡均匀并加 5 mL 甲苯。离心机上 4 000 rpm 离心 3 min。甲苯作为空白对照,在紫外分光光度计 486 nm 处测上层红色液体的吸光度,对比标准曲线计算出脱氢酶活性^[16]。

1.6 多因素降解

在单因素实验基础上,选出三个最能影响菌降解多环芳烃的因素并进行条件优化。利用 Box-Behnken 实验设计原理以温度、pH、菌液量 3 个因素为自变量,降解率为响应值设计三因素、三水平的响应面实验,温度分别为 25、27.5、30 °C, pH 分别 5.0、7.0、9.0,菌液量分别为 3、5、7 g。每组实验重复 3 次。根据实验结果,利用 Design-Expert 8.0.6 Trial 软件进行方差分析以及响应面分析,从而优化实验模型。

2 结果与讨论

2.1 菌株的鉴定

2.1.1 菌株的形态观察



图 1 菌株的菌落形态及染色(×1000)

Fig. 1 Colony morphology and staining of strain (×1000)

注:石碳酸复红染色。Note: Red staining with carbohic acid.

该菌株培养两天后取出观察,此菌生长旺盛,菌落白色,不规则圆形,呈辐射毛茸状,表面干燥无光泽,菌落与培养基间连接紧密,不易挑取。显微镜下观察菌丝均为丝状,无运动性。根据 Sa 菌株的培养特征及染色后显微镜下形态观察,初步推测该菌株应为链霉菌属(*Streptomyces*)某菌种。

2.1.2 菌株的生理生化特征

各种微生物在代谢类型上表现出的差异反映出它们具有不同的酶系和不同的生理特征,这些特性可被用作为微生物鉴定和分类的内容。该菌株的生

理化鉴定中明胶液化、淀粉水解、硝酸盐还原、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、肌醇、甘露醇、蔗糖、果糖,呈阳性,运动性、纤维素水解呈阴性,石蕊牛奶表现出凝固且胨化。结果表明,该株菌能利用多种糖类物质作为碳源和能源生长代谢,可分泌淀粉酶和蛋白酶,动力实验显示无运动性。

2.1.3 菌株生长曲线趋势

根据生长曲线测定方法所得此菌的生长曲线数据可知,该株菌的停滞期较长,20 h 之后进入对数生长期,36 h 进入稳定期,48 h 后开始衰亡菌液浓

度降低。

2.2 16S rDNA 系统进化分析

将 16S rDNA 测序结果与 Gen bank 中已登录的 16S rDNA 序列进行同源性比较。结果显示,菌株 Sa 的 16S rDNA 序列与暗黑微绿链霉菌(*Streptomyces atrovirens*)的 16S rDNA 序列具有 100% 同源性。在

此基础上利用 MEGA5.1 的邻近相接法构建菌株的系统发育树。综上所述,结合形态学观察、生理生化特性及 16S rDNA 测序结果综合分析,将菌株 Sa 菌株归属于暗黑微绿链霉菌(*Streptomyces atrovirens*)属的一种。

2.3 不同温度条件下脱氢酶活性与降解率的关系

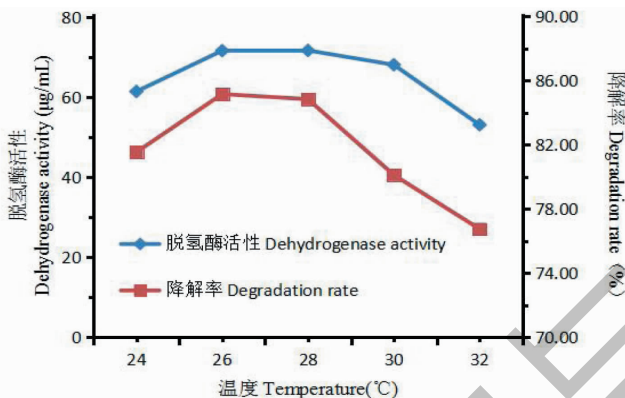


图 2 不同温度下葱的脱氢酶活性与降解率

Fig. 2 Dehydrogenase activity and degradation rate of anthracene at different temperatures

由图 2 可知, Sa 在不同温度条件下对葱降解率与脱氢酶活性呈先增大后减小趋势,葱在样品培养温度达到 28℃ 时脱氢酶活性最高,温度高于 28℃ 时降解率与脱氢酶活性随温度升高而下降。葱的脱氢酶活性最高达到了 86.46 µg/mL,可见温度对酶活性有着较大的影响,低温或高温都会降低脱氢酶活性。因为在低温时,细胞代谢能力较低,会使降解

率降低,当温度为 28℃ 时,酶活性最高,代谢旺盛,降解率也会较高,当环境温度过高,酶可能失活,降解率下降^[17]。因此在 26~28℃ 时降解效果最好,葱的降解率高达 93.86%。

2.4 不同 pH 条件下葱的脱氢酶活性与降解率关系

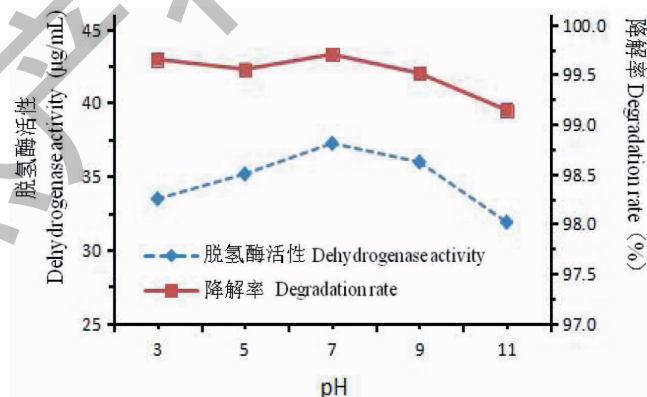


图 3 不同 pH 条件下的葱的脱氢酶活性与降解率

Fig. 3 Dehydrogenase activity and degradation rate of anthracene under different pH conditions

由于 H^+ 浓度影响微生物对营养物的吸收和生化反应,环境中 pH 值将会对微生物的生长具有一定的影响^[18]。如图 3 所示,葱的脱氢酶活性与降解率随着 pH 值的增大呈现出先增大后减小的趋势,在 pH 为 7 时葱的脱氢酶活性与降解率达到了最

高。由此可见 pH 对 Sa 降解葱产生脱氢酶有较大的影响。这种现象与细胞酶的活性受 pH 值影响有关,pH 值过高或过低均影响酶活性,从而降低细胞代谢速率。当处于最佳 pH 值时,利于酶发挥最佳活性,利于细胞对物质的代谢,故降解率最高。降解

率表现出与脱氢酶活性同步,因此也可以判断出二者有一定相关性。

2.5 不同菌液量下蒽的脱氢酶活性与降解率关系

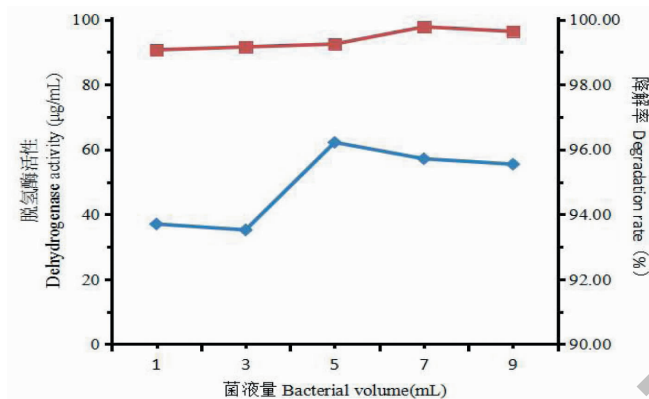


图4 不同菌液量下蒽的脱氢酶活性与降解率

Fig. 4 Dehydrogenase activity and degradation rate of anthracene under different bacterial liquid amounts

在环境因素固定的情况下用不同量的 Sa 进行降解,来测试同样活性的菌株数量在不同的情况下对降解率的影响。由图 4 可知,蒽的降解率随着菌液量的增加不断地增加,蒽的脱氢酶活性呈现出先增加后减小的趋势,在菌液量为 5 mL 时蒽的脱氢酶活性达到了 62.19 µg/mL。由此得出蒽的降解率随

着菌液量的增加降解率也在增加,但总体来看变化幅度不大,增长的范围小,变化不明显。蒽的脱氢酶活性随着菌液量的增加,先增加后减小,在菌液量为 5 mL 时活性最高。

2.6 不同盐度件下蒽的脱氢酶活性与降解率关系

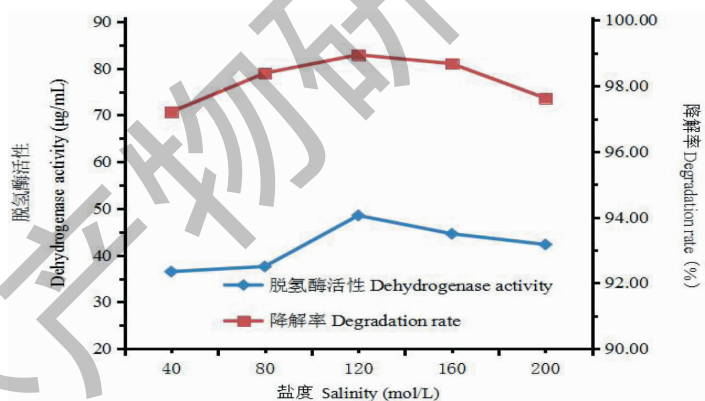


图5 不同盐度下蒽的脱氢酶活性与降解率

Fig. 5 Dehydrogenase activity and degradation rate of anthracene fluorene under different salinity

由图 5 可知蒽的脱氢酶活性和降解率随着盐度的变化呈现出先升后降的趋势,在 120 mol/L 时蒽的脱氢酶活性和降解率达到最大,脱氢酶活性和降解率变化范围都很小,由此可见盐度对蒽的影响不是很大。

2.7 响应面设计与分析

由单因素实验结果可知,在温度,pH,菌液量条件下,蒽的降解率比较好,而盐度因素对脱氢酶活性影响不大,由此选出最能影响脱氢酶活性的因素及条件:温度为 25~30 °C、pH 为 5~9、菌液量为 3~7

mL,并选择脱氢酶活性为响应值,用 Design-Expert8.0 软件的 Box-Behnken 中心进行优化设计。通过表 1,2 中对蒽脱氢酶活性的实验结果回归分析,得到回归方程:

$$R = 119.86 - 3.73A + 5.34B + 2.00C + 3.63AB - 3.95AC + 12.09BC - 16.78A^2 - 28.97B^2 - 31.70C^2$$

一般显著性水平定为 0.05,即 $P < 0.05$ 时,才表明交互效应显著(或说存在交互作用), $0.05 < P < 0.1$ 时,为边缘显著。如表 1 所显示的模型回归系数显著性检验以及方差分析表明:Sa 降解蒽时蒽

的脱氢酶活性模型的 F 值为 10.74, P 值为 0.002 5, 模型 P 值 < 0.05 表示此模型的拟合程度显著, 可信度高。失拟系数 F 值为 60.88, 失拟系数 P 值为 0.060 9 > 0.05 , 模型信噪为 9.308 3 > 4 , 模型可取, 可以用该模型做预测实验。由表 2 可知该模型复相

关系数为 0.932 5, 校正相关系数为 0.845 7, 表示该模型拟合了 93.25% 的数据, 三个影响因素 P 值大小分别为温度为 0.355 0、pH 为 0.199 4、菌液量为 0.612 3, 该模型影响效应从大到小是: pH $>$ 温度 $>$ 菌液量。

表 1 蒽脱氢酶活性的回归模型方差分析

Table 1 Anthracene dehydrogenase activity regression model analysis of variance

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F	P
模型 Model	10 986.46	9	1 220.72	10.74	0.002 5
A 温度 Temperature	111.44	1	111.44	0.98	0.355 0
B pH	228.18	1	228.18	2.01	0.199 4
C 菌液量 Microbial quantity	31.95	1	31.95	0.28	0.612 3
AB	52.83	1	52.83	0.46	0.517 2
AC	62.46	1	62.46	0.55	0.482 6
BC	584.80	1	584.80	5.15	0.047 6
A^2	1 186.01	1	1 186.01	10.44	0.014 4
B^2	3 533.12	1	3 533.12	31.09	0.000 8
C^2	4 231.69	1	4 231.69	37.24	0.000 5
残差 Residual	795.45	7	113.64		
失拟系数 Lack of fit	778.40	3	259.47	60.88	0.060 9
纯误差 Pure error	17.05	4	4.26		
总和 Cor total	11 781.91	16			

表 2 蒽脱氢酶活性的响应面结果误差分析

Table 2 Error analysis of response surface results of anthracene dehydrogenase activity

项目 Item	数据 Data	项目 Item	数据 Data
标准差 Standard deviation	10.66	复相关系数 Complex correlation coefficient	0.932 5
均值 Mean	83.41	校正相关系数 Corrected correlation coefficient	0.845 7
变异系数 Coefficient of variation	12.78	预测相关系数 Prediction correlation coefficient	-0.059 3
预测残差平方 Predicted residual square	12 481.03	信噪比 Signal to noise ratio	9.308 3

2.8 响应面结果与分析

由图 6 可知, 响应面曲线走势较平缓, 但等高线呈现的椭圆型明显, 说明 pH 与温度两者交互作用对 Sa 降解菌的脱氢酶活性有影响。若 pH 固定, 温度在 27 ~ 28 °C 之间脱氢酶活性达到顶峰, 温度在 25 ~ 27 °C 之间脱氢酶活性随温度上升而增强, 在 28 ~ 30 °C 时脱氢酶活性随温度下降而减弱。若温度固定, pH 在 7.0 ~ 8.0 时脱氢酶活性达到顶峰, pH

在 5.0 ~ 7.0 之间脱氢酶活性随 pH 升高而增强, pH 在 8.0 ~ 9.0 之间脱氢酶活性随 pH 升高而减弱。温度在 27 ~ 28 °C, pH 在 7.0 ~ 8.0 之时脱氢酶活性达到顶峰。

温度与菌液量以及菌液量与 pH 两者交互作用对 Sa 降解菌的脱氢酶活性也有影响, 但响应面趋势图形与图 6 差别不大。若菌液量固定, 温度在 27 ~ 28 °C 之间脱氢酶活性达到顶峰, 温度在 25 ~ 27 °C

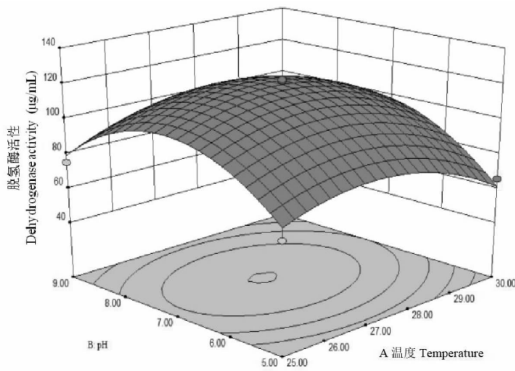


图6 温度与pH交互影响暗黑微绿链霉菌对蒽的响应面图

Fig. 6 Response surface diagram of *S. anthracis* reduced by interaction of temperature and pH

之间脱氢酶活性随温度上升而增强,在28~30℃时脱氢酶活性随温度下降而减弱。若温度固定,菌液量在5.0 mL时脱氢酶活性达到顶峰,菌液量在3.0~5.0 mL之间脱氢酶活性随菌液量增加而增强,菌液量在5.0~7.0 mL之间脱氢酶活性随菌液量增加升高而减弱。温度与菌液量交互作用下菌液量在5.0 mL左右,温度在27~28℃之时脱氢酶活性达到顶峰。若pH固定,菌液量在5.0 mL左右时脱氢酶活性达到顶峰,菌液量在3.0~5.0 mL之间脱氢酶活性随菌液量增加而增强,菌液量在5.0~7.0 mL之间脱氢酶活性随菌液量增加升高而减弱。若菌液量固定,pH在7.0~8.0时脱氢酶活性达到顶峰,pH在5.0~7.0之间脱氢酶活性随pH上升而增强,在8.0~9.0时脱氢酶活性随pH下降而减弱。pH与菌液量交互作用下菌液量在5.0 mL左右,pH在7.0~8.0时脱氢酶活性达到顶峰。三个交互效应影响结果从大到小依次为:pH-菌液量>温度-菌液量>温度-pH。

2.9 最优化试验检测

在最佳工艺条件下,进行优化实验检测,降解温度为27.23℃、降解pH为7.19、降解菌液量为5.11 mL,进行3次重复验证实验。实际测得Sa的平均脱氢酶活性为121.50 μg/mL,模型中的脱氢酶活性为120.38 μg/mL,实验值与预期值基本相符。

3 讨论

微生物代谢多环芳烃有两种方式:一是以多环芳烃为惟一碳源;二是多环芳烃与其他有机质进行

共代谢。本实验使用第一种方式并以活性炭为吸附载体,研究温度、pH、菌液量、盐度对蒽的降解影响。许多微生物能以低分子量的多环芳烃(四环以内)作为唯一的碳源和能源,并将其完全矿化。然而,对于高分子量的多环芳烃,由于其化学结构的复杂性以及在水环境中的低溶解度,难以被微生物直接降解。因为研究表明,许多四环或多环且分子量较高的多环芳烃,由于其化学结构的复杂性以及在水环境中的低溶解度,难以作为惟一碳源和能源被微生物降解,而是以共代谢的方式进行^[19]。

温度和pH作为环境因素,对菌株的活性及降解污染物的效果均能产生影响。当环境因素达到菌株生长的最适条件时,脱氢酶活性和降解率的效果会达到最好。而本实验单因素部分的结果也证明了,环境因素对降解率和脱氢酶活性有很大影响。多环芳烃在自然环境系统中多以混合物的形式存在,复杂的多底物混合状态势必会影响微生物的生理生态以及微生物对混合组分中单个底物的利用动力学,进而会影响降解效率。温度对微生物降解多环芳烃的影响主要表现在其对多环芳烃的理化性质、化学组成、微生物对多环芳烃的代谢以及微生物群落结构等的影响。低温下由于酶活性的降低使多环芳烃的生物降解受到抑制。此外,环境中的pH值对大多数微生物都是适合的,气候和季节的变化对pH值会产生一定的影响,不同的环境中,微生物生长的最适pH值不一定相同。

菌液量作为降解微生物自身因素对多环芳烃降解起着重要作用,从本实验的单因素及多因素结果可看出,虽然菌液量在单独作用是效果不明显,但在多因素实验中与其他因素交互作用时对脱氢酶活性影响非常显著。当生物接种量较少时,营养物质充足,细菌相互之间不会出现抑制作用,随着生物接种量的增加,细菌之间争夺营养物质,相互之间产生竞争和抑制关系,故出现菌活性下降的现象^[20]。

4 结论

通过形态特征和生理生化试验指标以及16S rDNA序列及同源性比对,初步鉴定Sa为暗黑微绿链霉菌(*Streptomyces atrovirens*)的一种。通过以降解过程中蒽脱氢酶活性为响应值,考察各自变量及自变量之间的交互作用对脱氢酶活性的影响,优化

降解脱氢酶活性与各自变量条件因素的响应关系,结果表明,单因素影响效果依次为:pH、温度、菌液量;交互效应影响效果依次为:pH-菌液量、温度-菌液量、温度-pH。其中pH与菌液量交互作用 P 值小于0.05,其交互效应对葱的脱氢酶活性作用显著。

参考文献

- 1 Gao JJ, Lv D. Research Progress of PAHs pollution in soil and bioremediation technology[J]. Shanxi; Shanxi Chem Ind (山西化工), 2018, 38(2): 42-45.
- 2 Song YM, Wang C, Lu S, et al. Distribution, sources and human health risk assessment of PAHs in water supply source regions of Guangzhou drinking water area[J]. Environ Sci (环境科学) 2019, 40: 3489-3500.
- 3 Guvvala V, Hidambaram S, Venkatesan A, et al. A study on structural characterization of degradation products of cangrelor using LC/QTOF/MS/MS and NMR[J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 170: 327-334.
- 4 Wang XY, Zhang SY, Qu WD, et al. Preparation of columnar aromatic hydrocarbon-based porous polymers and their adsorption properties[J]. Chin J Appl Chem (应用化学), 2019, 36: 1147-1154.
- 5 Cheng Q, Cai W, Chen J, et al. Degradation of PAHs in soil by different chemical oxidants[J]. J Zhejiang Univ: Eng Sci (浙江大学学报:工学版), 2019, 53: 2437-2444.
- 6 Wang HL, Cheng Y, Xia F. Application of chemical oxidation to remediation of PAHs-contaminated soil[J]. J Green Sci Technol(绿色科技), 2019(12): 139-141.
- 7 Lu L, Cui GB. Model and application of PAHs degradation in land biological treatment[J]. Acta Pedol Sin(土壤学报), 2001, 38: 558-568.
- 8 Tao XC, Dang Z, Lu GN, et al. Research progress on microbial degradation of PAHs in contaminated soil and its mechanism[J]. Bull Mineral Petrol Geochem(矿物岩石地球化学通报), 2003, 22: 356-360.
- 9 Zhang B. Research progress of biotechnology treatment of printing and dyeing wastewater[J]. Textile Auxiliaries(印染助剂), 2019, 36(4): 10-12.
- 10 Fan RJ, Guo SH, Li FX. Construction of petroleum-degrading bacteria and its degradation characteristics for mixed hydrocarbons[J]. J Agro-Environ Sci (农业环境科学学报), 2017, 36: 522-530.
- 11 Ma J. Isolation of PAHs-degrading bacteria and characterization of the degradation metabolites[D]. Dalian: Dalian University of Technology(大连理工大学), 2013.
- 12 Luo XF, Cheng LH, Xia MM, et al. Degradation of PAHs by *Bacillus thuringiensis*[J]. Biotechnol Bull(生物技术通报), 2019, 35(9): 125-133.
- 13 Zhao N, Zhang HX, Xie YJ, et al. Screening, identification and fermentation condition optimization of a high monacolin K producing *Monascus purpureus*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 1326-1331.
- 14 Han J, Wu ZJ, Liu ZM, et al. An α -glucosidase inhibitor-producing strain *Paenibacillus bovis* BD3526[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 1585-1590.
- 15 Koepff J, Sachs CC, Wiechert W, et al. Germination and growth analysis of *Streptomyces lividans* at the single-cell level under varying medium compositions[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2680.
- 16 Luo XF, Wang FB, Chen LH, et al. Optimization of enzymatic conditions for dehydrogenase production by a *Pseudomonas* [J]. Res Environ Sci (环境科学研究), 2018, 31: 1628-1635.
- 17 Dong TB, Wang L, Gui X, et al. Antifungal activity of the secondary metabolites of *Streptomyces* KIB-H1556[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 1434-1438.
- 18 Coker V S, Bennett J A, Telling N D, et al. Microbial engineering of nanoheterostructures: biological synthesis of a magnetically recoverable palladium nanocatalyst [J]. ACS Nano, 2010, 4: 2577-2584.
- 19 Wang T, Lan H, Tian Y, et al. Research progress on microbial degradation mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Chem Bioeng(化学与生物工程), 2016, 33(2): 8-14.
- 20 Cheng MH. Screening and degradation characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria under hypoxia[D]. Shanghai: Donghua University(东华大学), 2014.