

文章编号: 1004-0374(2013)01-0106-07

睾丸酮丛毛单胞菌降解石油污染物的研究进展

赫法贵¹, 任政华², 弭晓菊¹, 崔继哲^{1*}

(1哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨150025;

2中山大学生命科学学院, 广州510275)

摘要: 睾丸酮丛毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*) 是一种环境中常见的细菌, 因其能够降解类固醇污染物而得名, 近年来发现该菌对其他多种环境污染物也有良好的降解能力。概述睾丸酮丛毛单胞菌降解多环芳烃、取代芳烃、杂环芳烃等多种石油污染物的基本路径以及降解过程中的关键酶及其编码和调控基因的研究新进展, 为对相关毒物环境污染的微生物修复治理提供参考。

关键词: 睾丸酮丛毛单胞菌; 石油污染物; 微生物降解

中图分类号: Q939.9; X172 **文献标志码:** A

Advances in degradation of petroleum pollutants by *Comamonas testosteroni*

HE Fa-Gui¹, REN Zheng-Hua², MI Xiao-Ju¹, CUI Ji-Zhe^{1*}

(1College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China;

2College of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: *Comamonas testosteroni* is gram-negative, strict aerobes and frequently occurs in diverse habitats. It was named based on its ability to metabolize steroids. In recent years, it was found that *Comamonas testosteroni* strains are able to utilize many other kinds of environmental pollutants as sole carbon and energy sources. This review summarized the research advances on the bacterial biodegradation pathways of petroleum pollutants, such as polycyclic aromatic hydrocarbon, substituted aromatics, and heterocyclic aromatics; and the key enzymes and genes involved in the biodegradation pathways. It should provide a reference for the relevant microbial environmental pollution remediation.

Key words: *Comamonas testosteroni*; petroleum pollutants; microbial biodegradation

石油污染的生物修复是国际环境修复领域研究的热点之一^[1]。近年来, 全球石油需求量持续增长, 石油工业飞速发展, 但随之而来的石油污染不断增加, 已对环境和人类健康造成了严重危害^[2]。石油及石油衍生产品中含有的多环芳烃、取代芳烃以及杂环芳烃等芳香烃类污染物具有毒性和致畸、致癌、致突变的“三致”作用, 渗入环境后可以通过生物链富集, 对自然环境和人类健康造成了严重危害。生物修复技术是利用生物的生长代谢过程对有机污染物进行降解转化的方法, 具有安全可靠、修复成本低的特点^[3-4], 目前该技术逐渐成为清除和治理石油污染的新方向。其中, 微生物降解技术可以将环境中的石油污染物降解成二氧化碳或转化成为无

害物质, 具有广阔的应用潜力, 受到广泛重视^[4]。

睾丸酮丛毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*), 也曾被称为假单胞丛毛菌 (*Pseudomonas testosteroni*), 是一种严格需氧的革兰氏阴性杆菌, 在自然界中广泛分布, 对不同环境具有很好的生态和生理适应性。但是 *Comamonas* 不能像 *Pseudomonas* 一样很好地利用糖类物质生长, 因此, 将它们分别命名为两个菌种^[5]。睾丸酮丛毛单胞菌能以类固醇 (如睾丸酮、孕酮和胆汁酸) 为唯一碳源和能源, 完全消化这类

收稿日期: 2012-07-11; 修回日期: 2012-09-01

基金项目: 黑龙江省高校科技创新团队研究计划; 哈尔滨师范大学科技创新团队研究计划(KJTD-2011-2)

*通信作者: E-mail: shiccc1@yahoo.com.cn

底物, 具有降解类固醇化合物的功能并因此而得名^[6-9]。近些年来发现该菌对石油污染物中的多环芳烃有较好的降解作用, 并且对环境其他芳香烃类有机污染物, 如苯胺、喹啉、苯酚等也能有效降解^[10]。同时, 在重金属污染土壤的生物修复中也能起到一定的作用^[11], 这为将其应用于此类污染物的降解提供了可能。

1 睾丸酮丛毛单胞菌降解多环芳烃

石油及石油衍生产品中的多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是一类具有两个或两个以上芳环的化学物质, 主要包括萘、菲、蒽、芘、苝、苯并[α]芘等, 它们广泛分布于自然环境中, 是主要的环境和食品污染物^[12]。多环芳烃的物理性质和化学性质随芳香环数目即相对分子质量的变化而改变, 例如, 其化学反应活性、水溶性、挥发性等会随分子量的增加而减小。因此, 各种多环芳烃的转运、分配、在环境中的代谢结局以及对生物系统的影响都有所不同^[13]。很多微生物可以快速降解一些简单的多环芳烃, 例如萘、菲、蒽, 而对四环的苝和屈的降解速率则相对较慢。对微生物降解萘和菲途径的研究已有近五十年的历史, 萘是结构最简单、溶解度最大的多环芳烃, 常被作为研究微生物对多环芳烃降解的模式分子; 菲含有可以形成环氧化物的 bay- 区和 k- 区, 常以此为结构模型研究具有致癌性的多环芳烃的 bay- 区和 k- 区的分解机制^[13]。

微生物对萘和菲的分解代谢途径具有许多共性。以恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) G7 为例, 其 NAH7 质粒含有编码分解代谢萘和菲的酶基因^[14], 降解萘的基因存在于两个操纵子中, 上游操纵子 (*nahAaAbAcAdBFCEd*) 中 *nahAaAbAcAd* 编码的萘加双氧酶、*nahF* 编码的水杨醛脱氢酶使萘转化成水杨酸; 下游操纵子 (*nahGTHINLOMKJ*) 中 *nahG* 编码的水杨酸羟化酶, 可将上游代谢产物水杨酸裂解成儿茶酚, 儿茶酚再经过由 *nahH* 编码的儿茶酚 2,3- 或 1,2- 加双氧酶催化后形成可进入三羧酸循环的小分子物质乙酰辅酶 A、丙酮酸等; 也可在水杨酸 -5- 羟化酶 (*nagGH* 编码) 作用下形成龙胆酸^[15]。调节基因 *nahR* 位于两个操纵子之间, 其产物 (NahR) 对两个操纵子起正调节作用^[16]。

睾丸酮丛毛单胞菌也具备降解萘和菲等多环芳烃的能力, 其相关基因的组成和序列都与 *P. putida* G7 的 NAH 质粒的 *nah* 基因相似, 尤其是睾丸酮丛

毛单胞菌 GZ42 降解萘的 *nag* 基因的各个元件的排列和 *Pseudomonas* 中所发现的 *nah* 基因具有很高的相似性, 只是在碱基序列上有一些不同^[17]。这些与 *nah* 相似性很高的基因通常被称为“经典的 *nah-like* 基因”^[18]。GZ42 对萘和菲的降解途径和 *P. putida* G7 的降解途径相似, 都是从加双氧酶进攻芳环使芳环双氧化形成具有相应的邻二苯酚结构单元的芳香化合物开始的, 然后通过催化邻二苯酚结构单元的间裂解或邻裂解达到最终降解多环芳烃的目的。

研究发现, 菲的降解途径和萘的降解有很多相同点, *nah-like* 基因在菲的降解过程中也起很大作用。菲在加双氧酶 (*phdAc* 基因编码)、顺-二氢二醇脱氢酶 (*phdB* 基因编码) 以及异构酶 (*phdD* 基因编码) 等酶的催化下形成 1- 羟基-2- 萘甲酸进入其他降解途径而被彻底分解, 这些基因和 *nah* 基因有一定的相似性^[10,19], 而 *phd* 基因与 *nah* 基因结构间的差异使得新的降解菲的途径被发现^[13]。

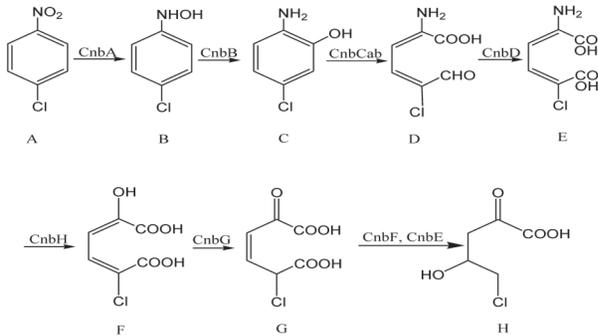
2 睾丸酮丛毛单胞菌降解取代芳烃

取代芳烃通常含有甲基、卤素、硝基等官能团, 在化石燃料、原油以及石油衍生物产品中含量丰富。氯代硝基苯 (chloronitrobenzene, CNB) 是一类毒性较大的芳香族卤代化合物, 由于氯和硝基的同时取代使氯代硝基苯的芳环不易于活化, 导致比单取代芳香烃更难以降解。苯酚是重要的基本有机化工原料, 苯酚衍生物如卤代酚、硝基酚、烷基酚可用于医药、农药、石油添加剂以及多种化工原料的生产。多氯联苯 (polychlorinated biphenyl, PCB) 在石油生产中可以作为石油冷凝剂。氯代硝基苯、苯酚、多氯联苯等取代芳烃进入自然环境后会通过生物链进入动物体和人体并富集、浓缩、放大, 可对环境和人类健康造成严重危害。目前对睾丸酮丛毛单胞菌降解这些取代芳香烃类毒性化合物所涉及的代谢途径已有一定的认识。

2.1 氯代硝基苯(CNB)的降解

睾丸酮丛毛单胞菌 CNB-1 是从被氯代硝基苯污染的活性污泥中分离出来的, 可以 4- 氯硝基苯 (4-CNB) 为唯一的碳源和氮源, 其降解 4-CNB 过程的酶都是由位于 pCNB1 质粒上的 *cnb* 基因簇家族编码^[20], 该基因家族包括 *cnbR-orf1-cnbCaCbDEFGHI* 和 *cnbB-orf2-cnbA* 两个基因簇。降解过程中的关键酶硝基还原酶 (CnbA) 由 *cnbA* 编码; 5- 氯-2- 氨基苯酚-1,6- 加双氧酶以及相应的环裂解酶由 *cnbCa*、*cnbCb* 基因共同编码。*cnbH* 编码的氨基粘糠酸脱氨

酶催化 2-氨基-5-氯粘康酸脱去氨基成为 2-羟基-5-氯粘康酸。由这些酶参与的可能降解途径如图 1 所示。



A, 4-氯硝基苯; B, 1-羟基氨基-4-氯苯; C, 2-氨基-5-氯苯酚; D, 2-氨基-5-氯粘康酸半醛; E, 2-氨基-5-氯粘康酸; F, 2-羟基-5-氯粘康酸; G, 2-氯-5-氧代-己-3-烯二酸; H, 5-氯-4-羟基-2-氧代戊酸。CnbA, 硝基还原酶; CnbB, 苯基羟胺变位酶; CnbCab, 5-氯-2-氨基苯酚-1,6-加双氧酶; CnbD, 氨基粘康酸半醛脱氨酶; CnbH, 氨基粘康酸脱氨酶; CnbG, 4-草酰丁烯酸异构酶; CnbF, 4-草酰丁烯酸脱羧酶; CnbE, 2-氧-4-戊酸水合酶

图1 *Comamonas testosteroni* CNB-1降解4-氯硝基苯的途径^[20]

氯代硝基苯在 CnbA 和 CnbB 催化下生成 2-氨基-5-氯苯酚, 2-氨基-5-氯苯酚经 CnbCab、CnbD 的作用氧化为 2-氨基-5-氯粘康酸, 2-氨基-5-氯粘康酸这个重要的中间产物的去向是十分重要的。睾丸酮丛毛单胞菌 CNB-1 中 *cnbZ* 基因编码的 2-氨基-5-氯粘康酸脱氨酶 (CnbZ) 与 *cnbH* 编码的氨基粘康酸脱氨酶的功能相同, 在 CnbZ 的催化下 2-氨基-5-氯粘康酸也可以脱去氨基成为 2-羟基-5-氯粘康酸从而进入其他代谢途径^[21]。CNB-1 已成功用于修复被 CNB 污染过的土壤^[20,22-24]。

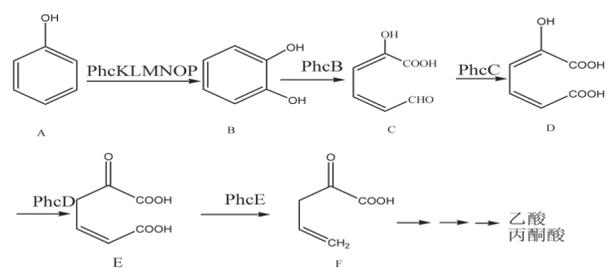
CNB-1 的突变体 CNB-2 由于缺失质粒 pCNB1, 不能利用 4-氯硝基苯生长^[5,20,23]。但是, CNB-2 可以利用其他很多化合物如芳香化合物、短链的脂肪酸等作为碳源, 还可以利用硝酸盐和铵盐作为氮源^[5]。CNB-2 全基因组的测序已经完成, CNB-2 中的 *aphA* 基因编码儿茶酚-2,3-加双氧酶, *aphB* 基因编码苯酚间裂解途径中的酶使 CNB-2 可以利用芳香化合物生长; *Bla* 基因编码的苯甲酰辅酶 A 连接酶家族以及 *box* 基因编码的苯甲酰辅酶 A 氧化酶等可以在许多重要的中间产物进入三羧酸循环等反应提供能量的过程中起到辅助作用。CNB-2 还具有

很多蛋白伴侣, 可以帮助 CNB-2 克服毒性侵害^[5]。这样的生物学功能显示出了睾丸酮丛毛单胞菌可以有效降解环境中的芳香族污染物并对不断变化的各种生态环境具有一定的生物适应性。

2.2 苯酚的降解

睾丸酮丛毛单胞菌可以把苯酚及其衍生物 4-氯苯酚等用作唯一的碳源和能源并将其降解, 苯酚能够被睾丸酮丛毛单胞菌完全降解^[25-26]。其中, 睾丸酮丛毛单胞菌 R5 比其他苯酚降解菌具有更高的苯酚氧化活性^[27]。R5 中降解基因排列在操纵子 *phcKLMNOPQBCDEFGH* 上^[28], 多组分的苯酚羟化酶是苯酚降解过程的关键酶, 由 *phcKLMNOP* 基因簇编码, *phcB*、*phcC*、*phcD*、*phcE* 基因分别编码邻苯二酚-2,3-加双氧酶、2-羟基粘康酸脱氢酶、4-氧代丁烯酰变位酶和 4-氧代丁烯酰脱羧酶。

苯酚降解中的第一步即苯酚转化为邻二苯酚是关键步骤, 在苯酚羟化酶 (PhcKLMNOP) 催化下进行。邻二苯酚开环裂解由邻苯二酚-2,3-加双氧酶 (PhcB) 催化, 裂解产物 2-羟基粘康酸半醛在 2-羟基粘康酸脱氢酶 (PhcC)、4-氧代丁烯酰变位酶 (PhcD)、4-氧代丁烯酰脱羧酶 (PhcE) 等的催化下降解为三羧酸循环代谢物 (图 2)^[29]。



A, 苯酚; B, 邻二苯酚; C, 2-羟基粘康酸半醛; D, 2-羟基粘康酸; E, 4-氧代己二酸; F, 2-氧代戊烯酸

图2 *Comamonas testosteroni*降解苯酚的途径(根据文献[29]修改)

睾丸酮丛毛单胞菌 R5 中 *phcKLMNOP* 的表达受操纵子 *phcR* 调控。 *phcR* 编码的调节因子 R 蛋白调节苯酚羟化酶和加双氧酶的活性, PhcR 促使苯酚羟化酶表达, 而这种表达受 PhcS 抑制^[30]。在 *phcS* 下游的 *phcT* 基因可以促进 PhcR 的表达, 进而促进苯酚羟化酶基因的表达。在其他细菌编码苯酚羟化酶的基因簇中还没有发现 *phcT* 的同源基因^[27], 这一特殊基因的存在使睾丸酮丛毛单胞

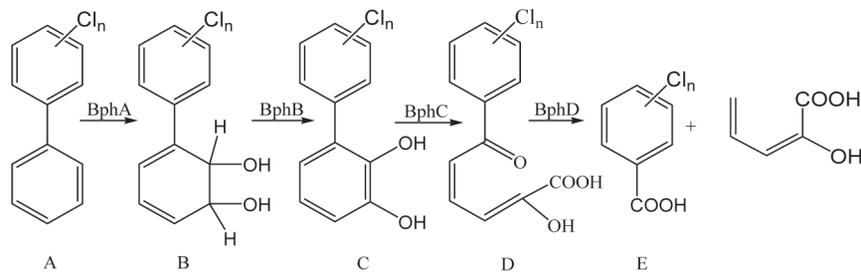
菌 R5 较其他苯酚降解菌具有更高的苯酚氧化活性, 可以更好地在环境中生存, 并占有优势地位, 有着更高的应用价值。

2.3 多氯联苯(PCBs)的降解

PCBs 的微生物降解过程存在两种不同的模式: 厌氧脱氯作用和好氧生物降解作用^[31]。厌氧的生物修复主要是通过电子供体如葡萄糖、乙酸等提供电子, 使 PCBs 在厌氧条件下还原脱氯。一般地, 稳定性高、疏水性高的高氯 (≥ 5 个氯) PCBs 主要发生厌氧脱氯作用被降解为低氯 PCBs。PCBs 经过脱氯, 可以从两方面降低环境风险: 一是从高氯转化

为低氯的 PCBs 后进一步被好氧菌降解; 二是把高氯同系物转化为不易被富集到食物链的低氯联苯。低氯的 PCBs 化学性质同样十分稳定, 但在有氧条件下, 它们能被微生物降解或转化。

睾丸酮丛毛单胞菌 TK102 降解 PCBs 的酶由 *bph* 基因簇家族编码^[32-33], 其中最主要的四类酶是联苯加双氧酶 (BphA)、二氢二醇脱氢酶 (BphB)、2,3-二羟基加双氧酶 (BphC) 和水解酶 (BphD), 分别由 *bphA*、*bphB*、*bphC*、*bphD* 基因编码。PCB 降解细菌主导的 PCBs 复合酶连续反应机制已基本明确^[35], 其代谢途径如图 3 所示^[32]。



A, 多氯联苯; B, 2,3-二氢-2,3-二羟基氯联苯; C, 2,3-二羟基氯联苯; D, 氯代-2-羟基-6-氧代-6-苯基-己-2,4-二烯酸; E, 氯代苯甲酸

图3 *Comamonas testosteroni*降解PCBs的代谢途径^[32]

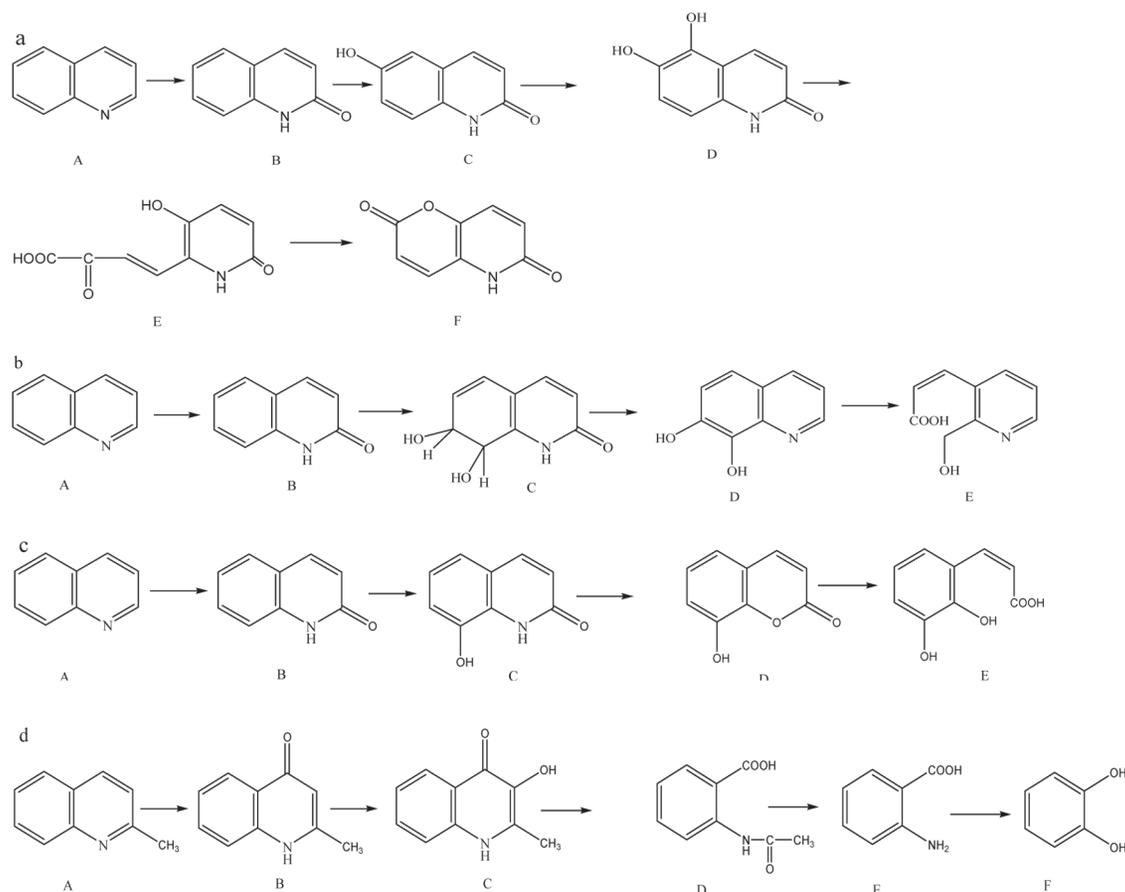
通过联苯 2,3- 加双氧酶 BphA 的作用, 分子氧在 PCBs 的无氯环或带较少氯原子环上的 2,3- 位发生反应, 形成顺二氢二醇混合物, 其中主要产物为顺 2,3- 二氢-2,3- 二羟基氯联苯; 接下来经过二氢二醇脱氢酶 BphB 的脱氢作用, 形成 2,3- 二羟基氯联苯; 然后, 在 2,3- 二羟基联苯加双氧酶 BphC 的作用下, 2,3- 二羟基氯联苯在 1,2- 位置断裂, 产生间位开环混合物 (氯代 2-羟基-6-氧-6-苯基-己-2,4-二烯酸)。间位开环混合物可在水解酶 BphD 的作用下发生脱水反应, 生成相应的氯苯甲酸和 2-羟基-2,4-二烯戊酸 (图 3)。 *bph* 基因簇的其他成员, 如 *bphE*、*bphF* 和 *bphG* 分别编码的 2-羟基-2,4-戊二烯酸氢化酶、4-羟基-2-氧戊酸醛缩酶、乙醛酸脱氢酶, 可进一步将氯苯甲酸和 2-羟基-2,4-二烯戊酸降解为丙酮酸和乙酰辅酶 A, 从而实现 PCBs 的彻底降解。睾丸酮丛毛单胞菌 B-356 中 BphA 的 α 亚基的三维结构模型已经构建成功, 通过定点诱变技术来研究酶与底物的专一性可以提高相应突变体降解氯化联苯类污染物的能力, 这对进一步研究氯化联苯类污染物的降解有着重要意义^[35]。

3 睾丸酮丛毛单胞菌降解杂环芳烃

含氮杂环化合物广泛应用于石油工业中, 在石油开采、运输及储存过程中产生的落地原油及含油污水中含有杂环芳烃。喹啉及其衍生物是一类碱性含氮的杂环芳烃, 是多种工业废水, 尤其是焦化废水中常见的污染物。石油污染土壤中含有的喹啉及其衍生物已成为土壤、地表水及地下水中常见的污染物^[36-38]。

Comamonas sp. 降解喹啉及喹啉衍生物的途径通常有 4 种 (图 4): 5,6-二羟基-2(1H)喹诺酮途径 (图 4a)、7,8-二羟基-2(1H)喹诺酮途径 (图 4b)、邻氨基苯甲酸途径 (图 4c)、8-羟基香豆酸途径 (图 4d)。以上 4 种代谢途径都起始于 2 位碳上的氧化。在 5,6-和 7,8-二羟基-2(1H)喹诺酮代谢途径中, 苯环部分形成二羟基衍生物, 再发生裂解, 而吡啶环保持完整; 邻氨基苯甲酸和 8-羟基香豆酸途径中, 则是吡啶环被优先开环降解, 最终得到无氮的降解产物^[38]。

睾丸酮丛毛单胞菌 Q₁₀ 可有效降解喹啉及甲基喹啉衍生物, 尤其是 3-甲基喹啉, 通常以 5,6-二



a, 5,6-二羟基-2(1H)喹诺酮途径: A. 喹啉, B. (1H)喹诺酮, C. 6-羟基-2(1H)喹诺酮, D. 5, 6-二羟基-2(1H)喹诺酮, E. 5-羟基-(3-羧基-3-氧代丙烯基)-1H-2-吡啶酮, F. 2H-吡喃-2-酮-[3,2b]-5H-6-吡啶酮; b, 7,8-二羟基-2(1H)喹诺酮代谢途径: A. 喹啉, B. 1H-喹诺酮, C. 7,8-二羟基-7,8-二氢-2(1H)喹诺酮, D. 7,8-二羟基-2(1H)喹诺酮, E. 6-羟基-5-(2-羟基乙烯基)-1H-2-吡啶酮; c, 8-羟基香豆酸途径: A. 喹啉, B. (1H)喹诺酮, C. 8-羟基-2(1H)-喹诺酮, D. 8-羟基香豆素, E. 2,3-二羟基苯丙酸; d, 邻氨基苯甲酸途径: A. 2-甲基喹啉, B. 2-甲基-4(1H)喹诺酮, C. 3-羟基-2-甲基-4(1H)喹诺酮, D. N-乙酰-邻氨基苯甲酸, E. 邻氨基苯甲酸, F. 邻苯二酚

图4 细菌降解喹啉的途径(根据文献[38]修改)

羟基-2(1H)喹诺酮途径为主。该菌能以3-甲基喹啉为唯一的碳源和能源并将其快速有效地去除^[39-40], 是一株广泛适用的喹啉类污染物的生物降解菌, 具有重要的实用价值^[41]。

尽管不同的细菌在降解喹啉时的途径不同, 但是其降解过程中很多都会释放 $\text{NH}_3\text{-N}$ ^[42]。喹啉及其衍生物中的氮原子最终会以铵盐、硝酸盐和亚硝酸盐的形式释放到环境中从而破坏了喹啉类污染物的生物处理过程。可见, 减少氮原子在环境中的含量是十分重要的。目前, 虽然鞣醌丛毛单胞菌降解喹啉及其衍生物的机制并不十分清楚, 但是由 *nirK* 和 *nirS* 编码的亚硝酸还原酶和 *nosZ* 编码的一氧化二氮还原酶在这一生物降解过程中起到了重要的作用^[36], 可以消除含氮杂环化合物对环境的污染。

4 展望

在受石油污染环境的生物修复过程中, 微生物治理技术是当前最有效的手段之一。由于鞣醌丛毛单胞菌对一些难以被降解的多环芳烃、取代芳烃以及杂环芳烃等污染物都有较好的降解效果, 因此, 应用其降低环境中芳香烃类污染物的危害可望是一条有前景的路径。同时, 通过基因重组技术构建适应能力强、降解效率高的基因工程菌以应用于现实环境中修复石油污染也将为解决环境问题提供一个全新的视角和方法。然而, 限于天然生态系统的复杂性, 目前对鞣醌丛毛单胞菌降解能力的研究仍以实验室为主, 并且该菌降解高分子量的多环芳烃尤其是5环的苯并[α]芘的相关研究还不充分, 所

以, 也有必要深入研究微生物对这些污染物的降解性能、在环境中的适应性及成本效益等因素。据此, 可进一步采取综合对策, 强化和加速生物修复过程, 以达到降低或消除石油污染的目的。

[参 考 文 献]

- [1] 王菲, 苏振成, 杨辉, 等. 土壤中多环芳烃的微生物降解及土壤细菌种群多样性. 应用生态学报, 2009, 20(12): 3020-6
- [2] 廉景燕, 哈莹, 黄磊, 等. 石油污染土壤物化修复前后生物毒性效应. 环境科学, 2011, 32(3): 871-4
- [3] 胥九兵, 迟建国, 邱维忠, 等. 微生物菌剂对石油污染土壤的修复研究. 环境工程学报, 2011, 5(6): 1414-8
- [4] 刘五星, 骆永明, 王殿玺. 石油污染场地土壤修复技术及工程化应用. 环境监测管理与技术, 2011, 23(3): 47-51
- [5] Ma YF, Zhang Y, Zhang JY, et al. The complete genome of *Comamonas testosteroni* reveals its genetic adaptations to changing environments. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(21): 6812-9
- [6] Linares M, Prunedo-Paz JL, Reyna L, et al. Regulation of testosterone degradation in *Comamonas testosteroni*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2008, 112(1-3): 145-50
- [7] Horinouchi M, Kuritaa T, Hayashi T, et al. Steroid degradation genes in *Comamonas testosteroni* TA441: isolation of genes encoding $\alpha\Delta^4(5)$ -isomerase and 3α - and 3β -dehydrogenases and evidence for a 100 kb steroid degradation gene hot spot. J Steroid Biochem Mol Biol, 2010, 122(4): 253-63
- [8] Leu YL, Wang PH, Shiao MS, et al. A novel testosterone catabolic pathway in bacteria. J Bacteriol, 2011, 193(17): 4447-55
- [9] Gong W, Kisiela M, Schilhabel MB, et al. Genome sequence of *Comamonas testosteroni* ATCC 11996, a representative strain involved in steroid degradation. J Bacteriol, 2012, 194(6): 1633-4
- [10] 肖嘉俊, 陆贻通. 土壤微生物降解多环芳烃菲的研究进展. 科技通报, 2009, 25(5): 673-9
- [11] Xiong J, Li D, Li H, et al. Genome analysis and characterization of zinc efflux systems of a highly zinc-resistant bacterium, *Comamonas testosteroni* S44. Res Microbiol, 2011, 162 (7): 671-9
- [12] Ding GC, Heuer H, Zuhlke S, et al. Soil type-dependent responses to phenanthrene as revealed by determining the diversity and abundance of polycyclic aromatic hydrocarbon ring-hydroxylating dioxygenase genes by using a novel PCR detection system. Appl Environ Microbiol, 2010, 76 (14): 4765-71
- [13] Seo JS, Keum YS, Li QX. Bacterial degradation of aromatic compounds. Int J Environ Res Public Health, 2009, 6(1): 278-309
- [14] Coitinho JB, Costa DM, Guimarães SL, et al. Expression, purification and preliminary crystallographic studies of NahF, a salicylaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas putida* G7 involved in naphthalene degradation. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun, 2012, 68 (Pt1): 93-7
- [15] Masahiro S, Hirokazu Y, Akira O, et al. Genomic and functional analysis of the IncP-9 naphthalene-catabolic plasmid NAH7 and its transposon Tn4655 suggests catabolic gene spread by a tyrosine recombinase. J Bacteriol, 2006, 188 (11): 4057-67
- [16] Becker PD, Royo JL, Guzman CA. Exploitation of prokaryotic expression systems based on the salicylate-dependent control circuit encompassing nahR/P_{sal}::xylS2 for biotechnological applications. Bioeng Bugs, 2010, 1(4): 244-51
- [17] Daane LL, Harjono I, Zylstra GJ, et al. Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria associated with the rhizosphere of salt marsh plants. Appl Environ Microbiol, 2001, 67 (6): 2683-91
- [18] 郑乐, 刘宛, 李培军. 多环芳烃微生物降解基因的研究进展. 生态学杂志, 2007, 26 (3) : 449-54
- [19] 张丹, 李兆格, 包新光, 等. 细菌降解萘、菲的代谢途径及相关基因的研究进展. 生物工程学报, 2010, 26(6): 726-34
- [20] Wu JF, Jiang CY, Wang BJ, et al. Novel partial reductive pathway for 4-chloronitrobenzene and nitrobenzene degradation in *Comamonas* sp. strain CNB-1. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(3): 1759-65
- [21] Liu L, Wu JF, Ma YF, et al. A novel deaminase involved in chloronitrobenzene and nitrobenzene degradation with *Comamonas* sp. strain CNB-1. J Bacteriol, 2007, 189(7): 2677-82
- [22] Liu L, Jiang CY, Liu XY, et al. Plant-microbe association for rhizoremediation of chloronitroaromatic pollutants with *Comamonas* sp. strain CNB-1. Environ Microbiol, 2007, 9(2): 465-73
- [23] Zhang Y, Wu JF, Zeyer J, et al. Proteomic and molecular investigation on the physiological adaptation of *Comamonas* sp. strain CNB-1 growing on 4-chloronitr-obenzene. Biodegradation, 2009, 20(1): 55-66
- [24] Ma YF, Wu JF, Wang SY, et al. Nucleotide sequence of plasmid pCNB1 from *Comamonas* strain CNB-1 reveals novel genetic organization and evolution for 4-chloronitrobenzene degradation. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(14): 4477-83
- [25] Turek M, Vilimkova L, Kremlackova V, et al. Isolation and partial characterization of extracellular NADPH-dependent phenol hydroxylase oxidizing phenol to catechol in *Comamonas testosteroni*. Neuro Endocrinol Lett, 2011, 32 (Suppl 1): 137-45
- [26] Tobajas M, Monsalvo VM, Mohedano AF, et al. Enhancement of cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol induced with phenol and glucose as carbon sources by *Comamonas testosteroni*. J Environ Manage, 2012, 95 (Suppl): S116-21
- [27] Teramoto M, Ohnishi K, Harayama S, et al. An AraC/XylS family member at a high level in a hierarchy of regulators for phenol-metabolizing enzymes in *Comamonas testosteroni* R5. J Bacteriol, 2002, 184(14):

- 3941-6
- [28] Yu HY, Peng ZX, Zhan YH, et al. Novel regulator MphX represses activation of phenol hydroxylase genes caused by a XylR/DmpR-type regulator MphR in *Acinetobacter calcoaceticus*. PLoS One, 2011, 6(3): e17350
- [29] Chen YX, Liu H, Chen HL. Characterization of phenol biodegradation by *Comamonas testosteroni* ZD4-1 and *Pseudomonas aeruginosa* ZD4-3. Biomed Environ Sci, 2003, 16: 163-72
- [30] Teramoto M, Harayama S, Watanabe K. PhcS represses gratuitous expression of phenol-metabolizing enzymes in *Comamonas testosteroni* R5. J Bacteriol, 2001, 183(14): 4227-34
- [31] Aken BV, Correa PA, Schnoor JL. Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: new trends and promises. Environ Sci Technol, 2010, 44(8): 2767-76
- [32] Hiraoka Y, Yamada T, Tone K, et al. Flow cytometry analysis of changes in the DNA content of the polychlorinated biphenyl degrader *Comamonas testosteroni* TK102: effect of metabolites on cell-cell separation. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(10): 5104-12
- [33] Hiraoka Y, Kimbara K. Rapid assessment of the physiological status of the polychlorinated biphenyl degrader *Comamonas testosteroni* TK102 by flow cytometry. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(4): 2031-5
- [34] 帅建军, 熊飞, 彭日荷, 等. 多氯联苯的生物修复. 遗传, 2011, 33(3): 219-27
- [35] Baig MS, Manickam N. Homology modeling and docking studies of *Comamonas testosteroni* B-356 biphenyl-2, 3-dioxygenase involved in degradation of polychlorinated biphenyls. Int J Biol Macromol, 2010, 46(1): 47-53
- [36] Bai YH, Sun QH, Zhao C, et al. Quinoline biodegradation and its nitrogen transformation pathway by a *Pseudomonas* sp. strain. Biodegradation, 2010, 21(3): 335-44
- [37] Bai YH, Sun QH, Zhao C, et al. Bioaugmentation treatment for coking wastewater containing pyridine and quinoline in a sequencing batch reactor. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 87(5): 1943-51
- [38] Cui MC, Chen FZ, Fu JM, et al. Microbial metabolism of quinoline by *Comamonas* sp.. World J Microbiol Biotechnol, 2004, 20(6): 539-43
- [39] 崔明超, 陈繁忠, 傅家谟, 等. 喹丸酮从毛单胞菌对喹啉类化合物的降解. 环境化学, 2004, 23(1): 66-70
- Chen FZ, Cui MC, Fu JM, et al. Biodegradation of quinoline by freely suspended and immobilized cells of *Comamonas* sp strain Q10. J Gen Appl Microbiol, 2003, 49(2): 123-8
- [40] 崔明超, 李丽, 陈繁忠, 等. 喹丸酮从毛单胞菌对喹啉的微生物降解途径的研究. 环境科学学报, 2004, 24(1): 171-3
- [41] Bai YH, Sun QH, Zhao C, et al. Simultaneous biodegradation of pyridine and quinoline by two mixed bacterial strains. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 82(5): 963-73