

## 堆肥过程中的微生物研究进展\*

牛俊玲<sup>1</sup> 高军侠<sup>1</sup> 李彦明<sup>2</sup> 李国学<sup>2\*\*</sup>

(1. 郑州航空工业管理学院资源与环境研究所 郑州 450015; 2. 中国农业大学资源与环境学院 北京 100094)

**摘要** 堆肥是由群落结构演替非常迅速的多个微生物群体共同作用而实现固体废物资源化、无害化的动态过程。本文在综合国内外文献资料的基础上,结合本实验室的研究工作,从堆肥过程中微生物群落的演替、有机物降解菌的选育应用、变性梯度凝胶电泳(DGGE)在堆肥微生物研究中的应用等方面介绍了现代堆肥过程中微生物研究的进展及存在问题,并且指出堆肥过程中微生物菌系组成变化复杂和实验手段有限是限制本研究的主要因素,今后应重视利用分子生物学方法进行微生物的研究工作,并根据微生物之间的协同关系有目的地构建降解多种有机废弃物的高效稳定复合菌系,以适应复杂的堆肥环境。

**关键词** 堆肥 微生物 有机物降解 纤维素降解菌 有机污染物降解菌 变性梯度凝胶电泳

**Evaluation of the role of microorganisms in composting.** NIU Jun-Ling<sup>1</sup>, GAO Jun-Xia<sup>1</sup>, LI Yan-Ming<sup>2</sup>, LI Guo-Xue<sup>2</sup>  
(1. Institute of Resources and Environment, Zhengzhou Institute of Aeronautical Industry Management, Zhengzhou 450015, China; 2. College of Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094, China), *CJEA*, 2007, 15(6): 185~189

**Abstract** Composting is a dynamic and delicately coordinated process of rapid successive actions of a number of microbial colonies. Through analysis of large volumes of information and field research, this article introduced the development and research setbacks in microorganismic composting process. The succession of microbial community, selection and application of organic material microorganismic biodegradation and application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) were used to study microbes in composting. The main restricting factors were experimentation method and complexity of microbial colonies. It is concluded that emphasis should be placed on the utilization of molecular biological methods in studying composting, and also on highly efficient, complex and stable microbial communities to degrade more than one kind organic material. Microbial community should be selected and constructed based on relationships among microbes to enhance adaptability to the complex conditions of composting in order to attain community dominance.

**Key words** Composting, Microorganism, Organic material degradation, Cellulose-degradating microbe, Organic pollutant-degradating microbe, Denaturing gradient gel electrophoresis

(Received April 27, 2006; revised Sept. 14, 2006)

随着人类社会的发展、科学技术的进步,人们越来越认识到资源和环境对人类的重要性。有机固体废物潜在的利用价值也开始为人们所认识,这不仅在于其蕴藏着大量的能源物质(C素),也在于其拥有丰富的作物所需营养物质(N、P、K和微量元素)。堆肥化过程是地球表面生态过程的一部分,地球表面残留的枯枝落叶、杂草、树皮和其他半固体的有机物不断分解后再进一步参与到物质和能量的循环中。现代的堆肥化就是在人工控制下,在一定的水分、C/N比和通风条件下,通过微生物的发酵作用,将有机固体废物(包括农业废物、污泥和城市生活垃圾等)转变为腐殖质含量丰富、对环境不构成危害的有机肥料的生物化学处理过程。

为加快有机固体废物的降解速度,提高堆肥的腐殖化程度,近年来国内外学者对堆肥过程微生物现象进行了一系列理论和实践的研究。但由于堆肥中的微生物菌系复杂,在整个过程中的菌种组成变化较大,用常规的实验方法和手段难以完全认识,所以极大地限制了对这方面的研究。本文根据国内外研究报道,结合本实验室的研究工作,从堆肥化过程中微生物群落的演替、有机物降解菌的选育应用、变性梯度凝胶电泳(DGGE)在堆肥微生物研究中的应用等方面介绍了现代堆肥化过程中微生物研究的进展及存在问题,并

\* 教育部博士点专项基金(20050019037)和河南省科技攻关项目(072102190009)资助

\*\* 通讯作者

收稿日期:2006-04-27 改回日期:2006-09-14

且指出堆肥化过程中微生物菌系组成变化复杂和实验手段有限是限制本研究的主要因素,今后应重视利用分子生物学方法进行微生物的研究工作,并根据微生物之间的协同关系有目的地构建降解多种有机废弃物的高效稳定复合菌系,以适应复杂的堆肥环境。

## 1 堆肥中的微生物生态学过程

堆肥是由群落结构演替非常迅速的多个微生物群体共同作用而实现的动态过程,是微生物与其周围环境(包括有机物、C/N、温度、水分、pH 和通气量)相互影响和相互作用的结果,所以对该过程微生物生态学过程进行监控有利于有效地管理堆肥过程。许多早期研究用传统的培养基培养方法分别描述堆肥过程中细菌、真菌、放线菌的变化情况。指出细菌总数的变化是高-低-高变化趋势,高温期的细菌种类少于其他时期;真菌数在整个堆肥过程中一直呈下降趋势;而放线菌数虽然比细菌总数约低两个数量级,但其变化规律与细菌非常相似,也呈高-低-高的趋势。说明腐熟后的堆肥腐殖质含量丰富,C/N 比低,细菌、放线菌含量很高,施入土壤可增加土壤中的微生物数量,促进土壤微生物活性<sup>[1,2,3]</sup>。用传统方法分离、描述堆肥中的各种微生物,最大缺陷在于不能了解难培养的微生物菌种,而这些难分离培养的微生物很可能在堆肥过程中起主导作用。尤其在易利用物质已消耗完的堆肥过程后期,可能存在那些不能或不可培养的微生物。如厌氧嗜热菌比较难培养,但即使是好氧堆肥过程中也不可避免地存在厌氧环境。因此现代分子生物学研究的手段与方法在微生物生态学的研究中越来越多地受到重视,已应用于堆肥中微生物变化的大量研究中<sup>[5,6,17]</sup>。

Ishii 等<sup>[18]</sup>采用分子生物学中的变性梯度凝胶电泳分析法(DGGE)对堆肥过程中微生物群落的演替进行了较详细的研究。研究将堆肥化过程分为 4 个阶段:常温(0~4d)、高温(4~13d)、冷却(13~32d)、腐熟(32~45d)。4 个阶段分别以不同的温度和 pH 值为明显特征。分析表明在常温阶段,堆肥物料中有高浓度的有机酸,尤其是乳酸,此阶段出现的微生物多数是具有发酵能力的细菌,能快速分解易降解的有机物,细胞数目迅速增多。在高温阶段,随着 pH 值和温度升高,能发酵的细菌消失,与嗜热芽孢杆菌有关的微生物出现,这个阶段因为发生了蛋白水解,所以 pH 的增加可能由氨引起,随着温度升高,水解蛋白和产氨的细菌增加,但很快消失。在冷却阶段出现了梭状芽孢杆菌类的专性厌氧菌,降解残余的复杂有机物,说明在此阶段的堆肥物料中出现了厌氧环境。此后的腐熟阶段出现了与节杆菌属有关的微生物,而这个属的大部分种都属于土壤微生物,说明堆肥过程后期的物料与土壤类似,属贫养状态。由于分离困难,以前有关温度下降后微生物类群的研究很少,Ishii 等的研究为此提供了重要信息,并为今后堆肥过程中的微生物分离工作提供了有利线索。Sabine Peters 等<sup>[19]</sup>用基于小亚基 rRNA 基因剖面的单链多态性 PCR 技术检测了高温堆肥中微生物菌群的演替规律,结果与 Ishii 等的基本一致。

## 2 堆肥中有机物降解菌的选育及应用

### 2.1 纤维素降解菌的选育应用

随着人口的不不断膨胀,农业废弃物越来越多,包括稻草、谷物秸秆、水稻壳、甘蔗渣、动物粪便,日常生活的废弃纤维产品,如废纸及其他废纸产品等也不断增加,用这些废弃物生产肥料或土壤改良剂,越来越受到人们的关注。由于纤维素具有水不溶性的高结晶结构,外围又被木质素层包围,而木质素的完整坚硬外壳使其水解为可利用的糖类或细胞蛋白相当困难。所以深入研究并充分利用微生物对纤维素的降解作用,加速木质纤维素转化为腐殖质是堆肥充分腐熟的关键<sup>[4]</sup>。

纤维素酶(Cellulase)是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称。至今,已有很多关于纤维素酶生产菌的报道,其中有细菌、放线菌和丝状真菌等,但已报道的对纤维素作用较强的菌株多是木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)、枝顶孢霉属(*Acremonium*)的菌株<sup>[20]</sup>。纤维素的微生物降解中一个重要课题就是不断选育出具有高降解功能的新菌株。王淑军等<sup>[5]</sup>研究了纤维素菌株分离筛选方法,并采用此方法成功地分离筛选出具有较高酶活性的菌株。纤维素生物降解中,因为细菌纤维素酶的活性普遍低于真菌,细菌方面的研究与真菌比相对较少。所以,至今关于纤维素酶生产菌的报道中,对纤维素分解作用较强的菌株多是真菌菌株,特别是 *Trichoderma viride* 及其近缘的菌株,细菌较少。而且它们几乎都是以纯培养方法分离和筛选的,对自然结构的纤维素分解能力有限。

植物细胞壁的化学成分主要为木质纤维素,其中木质素占 16%~20%,木质素由芳香烃的衍生物以 C—C 键、—O—键纵横交联在一起,其侧链由于半纤维素以共价键结合形成一个十分致密的网络结构将纤维素紧紧包裹在里面,以屏蔽效应阻碍了纤维素酶吸附纤维素分子。自然状态下彻底降解纤维素要依赖于

纤维素分解菌、半纤维素分解菌及木质素分解菌等多种微生物的共同作用,因此,分解纤维素类大分子物质应充分重视多种微生物之间的协同效应。最近,分离筛选分解多种木质素、纤维素的混合菌开始引起了人们的高度重视,通过诱变作用提高混合菌群产酶效果方面的研究已有报道。吴元喜等<sup>[7]</sup>报道,绝大部分微生物单株发酵降解基质中粗纤维的能力低于组合菌混合发酵,而且纤维素分解菌的分解效率很大程度上依赖于木质素分解菌的分解能力。史玉英等<sup>[7]</sup>用滤纸平板法结合摇床培养筛选到2个纤维素分解能力较强、由真菌和细菌组成的混合菌M1和M2,发现混合菌分解纤维素的能力明显强于其中任何一个单一菌株。郭鹏等<sup>[8]</sup>通过诱变技术提高了混合菌及1株嗜碱性芽孢杆菌V1-1-3的产酶能力。崔宗均和Haruta<sup>[9,21]</sup>等将酸碱反应不同的菌群优化组合,筛选和驯化了高效而稳定的纤维素分解菌复合系(MC1),其不仅滤纸分解率为史玉英等结果的约2倍,对各种天然纤维素材料具有强烈的分解能力,而且同一培养体系在连续投放滤纸情况下可保持20d以上的分解能力,说明该复合系由多种处于协同关系的微生物组成,其反应产物互相利用和中和,形成了较稳定的自然循环系统,该系统一旦形成,不易被外界杂菌所破坏。席北斗等<sup>[10]</sup>从堆肥、马粪、果园土、污泥等原料筛选出活性较高的纤维素分解菌,采用紫外诱变技术培育优良菌株,然后利用培育的纤维素分解菌、EM菌及两者的混合菌种作堆肥对比试验,通过对堆肥过程中温度、微生物数量、出口气体浓度的检测,证明堆料中接种微生物菌剂可以提高有益微生物的群体数目和质量,使微生物群落之间相互协同,形成复杂而稳定的生态系统,从而增强微生物的降解活性,使堆肥温度迅速升高并维持较长的时间,提高堆肥效率。国外一些研究者<sup>[22,23]</sup>也为纤维素酶的利用开辟了一条新途径,他们首先从自然界筛选出具有高效纤维素酶菌株,然后从中分离克隆纤维素酶基因,转化到生长速度快、发酵周期短的大肠杆菌中,大量生产纤维素酶。因此有目的地构建稳定的复合菌系将是环境微生物应用的一条有效途径。

## 2.2 有机污染物降解菌的选育应用

随着化学、石油、制药、杀虫剂等工业的发展,化学品生产的种类和数量与日俱增,这些化学品在生产、运输、再加工、使用等过程中,不可避免要进入到环境中,造成严重的化学污染。多种有机污染物因其性质稳定、难降解、易积累、毒性大等特点而受到世界各国的普遍关注。20世纪90年代开始,国外有人尝试利用堆肥法处理被有机污染物污染的土壤<sup>[12,24,27]</sup>。研究堆肥中有机污染物的微生物降解过程,有目的地筛选构建污染物降解菌,对减少施用堆肥产品可能对生态环境和人畜健康带来的负效应,缩短对有机污染土壤生物修复的时间都具有重要意义。

通过微生物可降解的污染物种类大致可分为多环芳烃(PAHs)、有机染料和颜料、表面活性剂、农药、酚类和卤代烃等。刘庆余等<sup>[12]</sup>通过发酵池处理城市污泥试验发现,污泥中毒性有机物的去除,非生物因素(如挥发、自行转化等)影响是很小的,起决定性作用的是以细菌、放线菌为主的微生物的综合作用,且其对甲苯、乙苯、邻苯二甲酸酯、 $\gamma$ -666、 $op'$ -DDT等降解效果更显著。污染物的化学结构也在很大程度影响堆肥对其的去除效果,如李国学等<sup>[13]</sup>利用高温堆肥,研究比较了堆肥过程中有机氯农药六六六和滴滴涕及其异构体和衍生物的降解特点,结果表明,堆肥处理对滴滴涕及其衍生物的生物降解能力相对较强,其中 $o, p'$ -DDT、 $p, p'$ -DDD和 $p, p'$ -DDT的去除率可达100%,而六六六4种异构体的去除率大小顺序为 $\delta$ -666 $>$  $\gamma$ -666 $>$  $\alpha$ -666 $>$  $\beta$ -666。

至今,国内外已分离出不少可降解某有机污染物的纯种菌株,并利用它们揭示污染物的降解途径与机理,这是将生物技术有效地应用于环境的基础。近两年来国外报道的新降解菌株有:降解1,2,3,4-四氯苯的*Pseudomonas chlororaphis*<sup>[25]</sup>、降解2,6-二氯苯酚的*Ralstonia sp.*RK1<sup>[26]</sup>,能降解甲苯的*Mycobacterium* T103、T104<sup>[27]</sup>等。在代谢途径及代谢中间物的研究方面,Casellas等<sup>[28]</sup>通过对*Arthrobacter sp.*F101降解芴的研究,发现了新的中间物及关键酶活性,提出了芴代谢的新途径,即通过在1,2位的双加氧反应后裂环降解。Sandermann等<sup>[29]</sup>在试图优化1木腐霉*Phanerochaete chrysosporium*矿化3,4-二氯苯胺发酵条件时,意外发现了新的中间物并分析确认其为N-3,4-二氯苯基-酮戊二酰基-酰胺,以此推出了该中间物的生成途径并进一步推测它会转化为琥珀酰亚胺。国内关于高温堆肥中微生物对有机污染物的降解的研究,大多集中在利用土著微生物研究污染物的可降解性,如陈勇等<sup>[14]</sup>利用已分离的细菌和白腐真菌研究其对堆肥中多环芳烃的降解,结果表明白腐真菌降解效果较佳。张文娟等<sup>[15]</sup>用实验室模拟方法,研究了堆肥处理对污染土壤中4—6环PAHs的降解。结果表明,去除率顺序为荧蒽 $>$ 苯并蒽 $>$ 苯并芘 $>$ 苯并荧蒽 $>$ 苯并芘,并且随着污染负荷增加,高浓度的污染物对微生物产生极大的毒害作用,抑制微生物对污染物的降解。在有机污染物生物降解研究中,人们发现混合培养菌的降解效果明显高于单株培养菌<sup>[30,31]</sup>。这种具有协同降解

作用的微生物群称为共生菌群(Consortia)。但目前对于具有协同关系的菌株的筛选和组合还是一个随机过程,其协同作用的机制有待进一步研究。Biotrol 公司(Chaska, MN)使用明尼苏达大学的专利技术,用以黄杆菌(*Flavobacterium*)为主的共生菌作为强化菌剂,成功地处理 PCP(五氯酚钠)污染的土壤<sup>[30]</sup>。所以在堆肥有机污染物的降解研究中,要充分利用微生物的共代谢作用,加强对共生菌群的分离筛选和构建方面的研究。

### 3 变性梯度凝胶电泳在堆肥微生物研究中的应用

目前,虽然大多数研究者仍采用传统的培养方法分离和纯化堆肥过程中的各种微生物,研究其特性和演替规律,但一些新的分析方法和新技术也被逐渐采用。如应用 Biolog system 方法分离、筛选堆肥中属于专性或兼性嗜热芽孢杆菌<sup>[32]</sup>,用磷脂脂肪酸方法间接推测微生物的种类和特性<sup>[33]</sup>。然而这些方法仅限于可以培养的微生物,现代分子生物学中的变性梯度凝胶电泳分析方法不仅适用于通过普通培养方法得到的微生物,还能够分离到难以或无法用常规方法培养的细菌或厌氧菌,以及混合微生物群落中含量很低的 DNA 序列,该技术无需培养,不受培养基的影响,非常适用于堆肥这种复杂环境中的微生物分析,已引起越来越多研究者的重视。

变性梯度凝胶电泳(DGGE)是普通凝胶电泳上发展起来的 DNA 分离技术。与普通凝胶电泳相比,DGGE 技术具有更高的准确性和精确度,能够分离分子大小相同,但碱基顺序不同的 DNA 分子,快速、灵敏,可以直接用于细菌染色体基因分析<sup>[16,34]</sup>。

Ishii 等人<sup>[18]</sup>采用 PCR 扩增和 DGGE 技术,对微生物 16S DNA 进行扩增、分离,得到分离的 DNA 条带,并对不同条带的碱基序列进行分析,利用数据库检索,选择同源性较近的菌株构建系统发育树,研究高温好氧堆肥过程中微生物的种类和数量变化规律。Haruta 等人<sup>[21]</sup>也利用 DGGE 技术对从堆肥中筛选到高效、稳定的纤维素降解菌系 MCl,进行条带 PCR 扩增产物碱基顺序分析,发现条带 A 属于 *C. ermosuccinogenes*,为严格厌氧菌,这种菌存在于各种生活环境中,能够利用寡糖通过发酵产生乙酸盐、乳酸盐和氢气,然而不能利用纤维素和木聚糖进行生长。进行条带 C、D 和 E 之间顺序相似,来自于同一菌株的不同操纵子,属于 *Brevibacillus* sp.,是严格好氧菌,可利用各种糖产生酸,与条带 C~E 相对应的细菌可能与糖消耗和初期有机酸的产生有关,它们所利用的糖来自于稻草的降解。B 和 F 分别属于 *Bordetella* sp. 和 *Pseudoxanthomonas*。*Bordetella* 属细菌严格好氧或兼性厌氧,不能水解蔗糖的非发酵性细菌,不能利用葡萄糖、木糖或纤维二糖;*Pseudoxanthomonas* 属细菌是好氧菌。DGGE 分析结果表明,好氧及兼性好氧菌可以与严格厌氧菌共存于同一微生物菌系中,这表明通过代谢活动和代谢产物,这些微生物之间保持非常密切的关系,而条带 D 和 F 之间也具有某种关联。

### 4 堆肥过程中微生物研究的方向

堆肥中存在着大量难以用传统方法培养的微生物,它们可能是厌氧菌或营养条件苛刻,或者菌种本身是未知的,但是这些菌种可能在堆肥过程中发挥着重要作用,尤其对难降解有机物的分解是必不可少的。因此,今后应充分利用分子生物学方法进行菌种分离和鉴定,在种或属的水平上跟踪堆肥过程中所有重要菌群的变化、演替规律,以便全面深入认识堆肥过程的本质,为堆肥技术和工艺的研究提供理论基础。另一方面,堆肥过程的实质决定了单一的细菌、真菌、放线菌群体,无论其活性多高,在加快堆肥化进程,实现堆肥产品无害化,防止出现二次污染方面的作用都比不上多种微生物群体的共同作用。因此目前的发展趋势是根据微生物之间的协同关系有目的地组合功能微生物和伴生菌,构建分解效率高、优势强和效果稳定的微生物组合,并对其在复杂堆肥环境中的适应能力和功能发挥进行深入的研究,对推进我国有机废弃物的资源化、无害化进程具有重要的现实意义和较高的理论价值。

### 参 考 文 献

- 1 李国学,张福锁.固体废物堆肥化与有机复混肥生产.北京:化学工业出版社,2000.75~97
- 2 丁文川,李宏,郝以琼,等.污泥好氧堆肥主要微生物类群及其生态规律.重庆大学学报(自然科学版),2002,25(6):113~116
- 3 陈世和,张所明,宛玲.城市生活垃圾堆肥处理的微生物特性研究.上海环境科学,1989,8(8):17~21
- 4 席北斗,刘鸿亮,白庆中,等.堆肥中纤维素和木质素的生物降解研究现状.环境污染治理技术与设备,2002,3(3):19~23
- 5 王淑军,杨从发,陈静.固态降解农作物秸秆纤维素菌株分离筛选方法的研究.淮海工学院学报,1999,8(1):42~45
- 6 吴元喜,张晓昱,胡佳华,等.木质纤维素分解菌筛选及木质纤维素降解.华中农业大学学报,1997,16(6):614~617

- 7 史玉英,沈其荣,娄无忌,等.纤维素分解菌群的分离和筛选.南京农业大学学报,1996,19(3):59~62
- 8 郭鹏,陈敏,陈中豪.高效降解木质素优势混合菌的诱变选育研究.广东工业大学学报,1997,14(4):30~34
- 9 崔宗均,李美丹,朴哲,等.一组高效稳定纤维素分解菌复合系MC1的筛选及功能.环境科学,2002,23(3):36~39
- 10 席北斗,刘鸿亮,孟伟,等.高效复合微生物菌群在垃圾堆肥中的应用.环境科学,2001,22(5):122~126
- 11 刘庆余,谢君,周颖辉,等.城市污泥发酵处理中微生物对有机物的降解.中国环境科学,1995,15(3):215~218
- 12 田雷,白云玲,钟建江.微生物降解有机污染物的研究进展.工业微生物,2000,30(2):46~50
- 13 李国学,孙英.高温堆肥对六六六(HCH)和滴滴涕(DDT)的降解作用研究.农业环境保护,2000,19(3):141~144
- 14 陈勇,郑向群,张丛,等.降解菌对堆肥中多环芳香烃降解作用的初步研究.农业环境保护,2000,19(1):53~55
- 15 张文娟,沈德中,张从.堆制处理过程中的多环芳香烃降解.应用与环境学报,1999,5(6):605~609
- 16 张彤,方汉平.微生物分子生态技术:16S rRNA/DNA方法.微生物学通报,2003,30(2):97~101
- 17 Herrmann R.F., Shann J.F. Microbial community change during the composting of municipal solid waste. Microbial Ecology, 1997, 33(1): 78~85
- 18 Ishii K., Fukui M., Takii S. Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. Journal of Applied Microbiology, 2000, 89(5): 768~777
- 19 Peters S., Koschinsky S., Schwieger S., et al. Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(3): 930~936
- 20 Mastry H.G. Utilization of Egyptian rice straw in production of cellulases and microbial protein; effect of various pretreatments on yields of protein and enzyme activity. J. Sci. Food Agric., 1983, 34: 725~732
- 21 Haruta S., Cui Z., Huang Z., et al. Construction of a stable microbial community with high cellulose-degradation ability. Applied Microbiology Biotechnology, 2002, 59(3/4): 529~534
- 22 Srinivasan C., Boominathan K., Reddy C.A. Demonstration of laccase in the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(12): 4274~4277
- 23 Sakai K., Ymauchi T., Nakasu T., et al. Biodegradation of cellulose acetate by *Neisseria sicca*. Biosci. Biotech. Biochem., 1996, 60(10): 1617~1622
- 24 Gupta G., Tao J. Bioremediation of gasoline contaminated soil using poultry litter. Environmental Health, 1992, 31(9): 2395~2407
- 25 Potrawfke T., Timmis K.N., Wittich R.M. Degradation of 1,2,3,4-Tetrachlorobenzene by *Pseudomonas chlororaphis* RW71. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(10): 3798~3806
- 26 Steinle P., Stucki G., Stettler R., et al. Aerobic mineralization of 2,6-Dichlorophenol by *Rhizotonia* sp. strain RKL. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(7): 2566~2571
- 27 Tay S.T.L., Hemond H.F., Polz M.F., et al. Two new mycobacterium strains and their roles in toluene degradation in a contaminated stream. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(5): 1715~1720
- 28 Casellas M., Grifoll M., Bayona J.M., et al. New metabolites in the degradation of fluorine by *Arthrobater* sp. Strin F101. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(3): 819~826
- 29 Sandermann H.J.R., Heller W., Hertkorn N., et al. New intermediate in the mineralization of 3,4-Dichloroaniline by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*ss. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(7): 3305~3312
- 30 Grosser R.J., Warshawshy D., Vestl J. Indigenous and enhanced mineralization of pyrene in soil. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(2): 3462~3469
- 31 Mcfarland M.J., Qiu X.J. Removal of benzo[a] pyrene in soil composting systems amended with the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of Hazardous Materials, 1995, 42(1): 61~70
- 32 Fang M., Wong J.W.C. Changes in thermophilic bacteria population and diversity during composting of coal fly ash and sewage sludge. Water, Air and Soil Pollution, 2000, 124(3/4): 333~343
- 33 Carpenter-Boggs L., Kennedy A.C., Reganold J.P. Use of phospholipid fatty acids and carbon source utilization patterns to track microbial community succession in developing compost. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(10): 4062~4064
- 34 Muyzer G., De Waal E., Uitterlinden A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695~700