

高效芘降解细菌的筛选、鉴定及其基本特性研究

王 蕾^{1,2}, 聂麦茜², 杨学福³, 曹 雯², 杨玉珍¹, 廖慧彬¹

(1. 陕西省环境监测中心站, 陕西 西安 710054; 2. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院,
陕西 西安 710055; 3. 西安工业大学建筑工程学院, 陕西 西安 710032)

摘 要:以多环芳烃为唯一碳源梯度驯化, 从焦化废水底泥中分离筛选出 2 株疏水性高效芘降解细菌 CY4 和 HY7. 通过 16S rDNA 基因序列分析, 初步鉴定 CY4 为杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*), HY7 为施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*). 降解性能试验结果表明, 这两株菌可利用底物谱较为广泛, 包括水杨酸等多环芳烃转化产物, 吡啶等杂化芳烃, 多环芳烃和葡萄糖; 其中 CY4 菌对芘的 5 d 降解率达 35.40%, HY7 菌对芘的 5 d 降解率达 36.32%.

关键词:芘; 降解菌; 疏水性; 底物谱; 降解率

中图分类号: X132

文献标志码: A

文章编号: 1006-7930(2011)06-0859-05

在多环芳烃(PAHs)的微生物降解研究中, 能够合成多环芳烃加氧酶的菌种的分离筛选尤为重要^[1]. 从遗传机制看, 为在污染环境中生存, 细菌之间可发生基因水平转移或细菌的染色体内进行基因重排、突变、复制等, 以使其能抵抗污染物的毒性, 并可利用有机污染物碳源生长^[2]. 因此, 多环芳烃污染环境中存在种类繁多的能代谢多环芳烃的微生物, 这为人们直接从污染区样品中获得多环芳烃降解菌提供了依据. 迄今已分离出多种降解 PAHs 的细菌^[3], 但遗憾的是这些研究多针对萘、菲等三环以下的低分子量 PAHs 展开. 而芘分子是四环的、分子量较高, 且许多致癌多环芳烃分子中含有其结构, 因此, 高分子量多环芳烃的研究工作中, 芘常被用作典型多环芳烃分子^[4]. 本研究选取焦化废水排水沟底泥为菌源, 通过驯化筛选分离出多环芳烃降解菌, 研究其基本特性和对芘的降解能力, 在此基础上, 利用 16S rDNA 片段扩增方法, 对 2 株高效降解菌种属进行鉴定, 发现在多环芳烃的降解研究中, 国内外对这两株菌鲜见报道, 其中一株菌对芘的降解在国内外属首次报道.

1 材料与方法

1.1 优良菌源

取陕西省富平焦化厂焦化废水排水沟底泥作为菌源. 底泥为亮黑色, 粘稠呈半流体状, 有刺激性气味, 且表面有油性物质.

1.2 主要试剂和主要培养基

芘丙酮标准溶液: 准确称量 0.250 0 g 芘(分析纯), 用 50.0 mL 丙酮溶解并定容, 芘浓度为 5.0 g/L. 蒽菲芘混合丙酮溶液: 准确称取蒽、菲、芘各 0.250 0 g, 放入同一个棕色容量瓶, 用 50.0 mL 丙酮溶解定容, 其中蒽、菲、芘浓度分别为 5.0 g/L, 低温保存备用. 吡啶、吡啶、喹啉水溶液: 无菌条件下, 分别将 0.1 g 吡啶、0.1 mL 吡啶或喹啉用无菌水溶解, 定容至 50.0 mL, 其浓度均为 2 g/L. 磷酸盐缓冲液(PBS)参见文献[4]. 无机盐培养基(MS)参见文献[4], 测得此培养基 pH 为 7.4. 多环芳烃菌驯化培养基: 在无机盐培养基中加入一定量的吡啶、吡啶、喹啉、蒽菲芘作为唯一碳源. 多环芳烃菌筛选分离培养基: 在无机盐培养基中加入 2% 的琼脂, 121℃ 灭菌 30 min, 在无菌操作下加入蒽菲芘, 摇匀, 倒成平板备

收稿日期: 2011-03-01 修改稿日期: 2011-10-15

基金项目: 陕西省教育厅专项项目(07JK290)

作者简介: 王 蕾(1983-), 女, 陕西商洛人, 博士, 难降解有机物的微生物处理技术及环境监测数据综合分析.

用. 富集培养基: 即牛肉膏蛋白胨培养基(NB), 参见文献[4].

1.3 实验方法

1.3.1 菌源的预处理和菌的驯化方法

预处理: 从陕西富平焦化厂焦化废水排水沟中取回底泥, 在自制反应器中搅拌处理 20 min, 再曝气活化 24 h. 菌的驯化: 采用逐步提高碳源浓度的梯度驯化方法, 取预处理后的底泥上清液 10 mL 加入到 40 mL 多环芳烃菌液体驯化培养基中. 在 30℃、160 r/min 生物摇床上好氧震荡培养, 培养一个周期(7 d)后从中取出 10 mL 加入到含有较高浓度驯化碳源的新鲜液体培养基中, 进入下一个培养周期, 如此持续培养 7 个周期. 驯化碳源浓度梯度见表 1.

表 1 多环芳烃降解菌驯化周期的碳源梯度浓度

Tab. 1 The gradient carbon concentration for acclimating and screening PAHs strains

Variety carbon sources	Gradient carbon concentration from 1st to 7th weeks/mg · L ⁻¹						
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th
Anthracene, phenanthrene and pyrene	5	10	15	m20	25	30	35
Indole	2	4	6	8	10	12	15
Pyridine	2	4	6	8	10	12	15
Quinoline	2	4	6	8	10	12	15
Glucose	15	10	5	0	0	0	0
Total amount	26	32	38	44	55	66	80

1.3.2 优良菌种的分离和筛选方法

用平板涂布法和平板划线分离法分离和筛选优良菌^[5]: 在无菌条件下, 取 0.1 mL 第 7 周期的驯化培养液, 接种到筛选分离培养基平板上, 37℃ 恒温培养 24 h, 挑取长势良好的菌落接种于另一筛选培养基的平板中培养. 对获得的优势菌落反复划线分离, 直至得到纯种菌.

1.3.3 菌悬液的制备方法

菌悬液的制备参见文献[4], 制成的备用菌悬液稀释 10 倍后测定 $OD_{600nm} = 0.8$.

1.3.4 菌体表面疏水性的测定方法

细胞表面疏水性(Cell Surface Hydrophobicity, CSH)采用细菌粘着碳烃化合物法测定^[6].

1.3.5 优良菌对芘的降解性能测定

利用好氧振荡法研究优势菌对芘的生物降解, 具体方法为: 在 150 mL 锥形瓶中加入 18 mL 无机盐培养基, 准确加入 0.2 mL 5.0 g/L 的芘丙酮溶液, 放入 30℃、160 r/min 恒温摇床振摇 45 min(使丙酮尽量挥发), 取下加 2 mL 一定浓度的菌悬液, 使芘初始浓度为 50 mg/L, 最后以 8 层纱布封口, 重新放入摇床振摇, 定时取样, 并用环己烷萃取, 紫外分光光度法测定芘含量. 实验以不加菌悬液为空白对照组.

1.3.6 优良菌可利用碳源实验方法^[7]

在无菌条件下将受试菌种接入灭菌后的富集培养基中, 培养一定时间后, 取 1 mL 培养液无菌条件下接入含不同碳源的等体积无机盐培养基中, 各碳源浓度均为 25 mg/L, 以不加菌的含相同碳源浓度的无机盐培养基设为对照, 测定接种初始培养液的 OD_{600nm} , 在 30℃、160 r/min 生物摇床上好氧避光培养, 测定 90 h 时 OD_{600nm} , 样品与对照均设 3 个平行样. 用 90 h 时的 OD_{600nm} 扣除对照和初始 OD_{600nm} 后得到 ΔOD_{600nm} , 以 ΔOD_{600nm} 为依据评价菌种对受试碳源的利用状况.

1.3.7 菌种的鉴定方法

按照细菌鉴定手册^[8], 用传统方法对受试菌进行生理生化鉴定; 与此同时, 进行分子生物学鉴定^[9]. 分子生物学具体步骤为: 收集菌体, 用 TianGen 细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 用细菌通用引物进行 PCR 扩增, 其中上游引物 27F(AgAgTTTgATCCTggCTCAg), 下游引物 1492R(ggTTACCT-

TgTTACgACTT). PCR 反应体系总容积为 $30\mu\text{L}$, 其中基因组 DNA $1.5\mu\text{L}$, dNTP (2.5mmol/L) $2.5\mu\text{L}$; $10\times\text{PCR buffer}$ $2.5\mu\text{L}$; Taq DNA 聚合酶 $0.5\mu\text{L}$; 上、下游引物各 $1\mu\text{L}$; ddH₂O $21.0\mu\text{L}$; 扩增程序: ① 94°C 5 min, ② 94°C 1 min, ③ 50°C 1 min, ④ 72°C 1 min, ⑤ 72°C 5 min; ②~④40 个循环. 基因组 DNA 和扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测. 细菌 16S rDNA 片段的测序委托北京六合华大基因科技股份有限公司完成. 测序结果登录美国的 GenBank 数据库, 通过 BLAST 功能进行基因序列同源性搜索并进行比对分析结果.

2 结果与讨论

2.1 优良菌的分离筛选

实验驯化初期加入葡萄糖作为辅助碳源, 并依次降低其浓度至零. 因为细菌对污染物的降解大多有一段适应期^[10], 葡萄糖作为速效碳源而添加能保证细菌在这段期间维持基本的生长, 而浓度上控制少量则有利于降解细菌的快速筛选. 由于筛选培养基以多环芳烃为唯一碳源, 因此, 能够在该培养基上长出来的细菌是能够利用多环芳烃碳源的菌株. 经过驯化培养、划线分离纯化后, 得到 30 余株能够利用多环芳烃碳源的菌株, 根据各菌种在筛选分离培养基中生长出来的时间和长势, 从中挑取 10 株生长快、菌落典型的菌种保存. 其代号为 HY1~HY7、CN2、CY4 及 CB9.

2.2 优良菌菌体的表面疏水性

细菌细胞表面疏水性是决定细菌非特异性黏附到各种表面及界面的最重要的参数之一, 也是影响细菌降解疏水性有机物质的主要因素之一^[6]. 该参数被用作难降解有机物降解菌筛选过程的一个重要参考信息^[11]. 多环芳烃是具有明显疏水性的化合物, 为了解 10 株降解多环芳烃菌的表面特性, 按照 1.3.4 中的实验方法, 测定了以牛肉膏蛋白胨培养基富集收集的菌体细胞表面疏水性, 结果如图 1 所示. 从图 1 看, 筛选出的 10 株菌细胞表面的疏水性各不相同, 其中 HY1 的疏水率最大, 为 92.0%; 其次是 HY2、HY3、HY5(或 CY4)、HY7, 在 50%~72% 之间, 分别为 70.4%、71.4%、61.5%、55.6%; HY6、CB9、CN2 疏水性较小, 分别为 28.0%、10.8%、5.0%. HY4 疏水率为 -1.9%, 细胞表面亲水性强.

2.3 优良菌对芘的降解能力

10 株优良菌随时间对芘的去除效果见图 2, 可以看出各菌对芘均有一定的降解能力, 且随着降解时间的延长, 降解转化率逐渐升高. 研究中发现随培养时间增加, 培养液由含有颗粒物的不透明乳白色(不溶性的芘所致)逐渐变成均匀的乳浊液, 颗粒物逐渐消失, 培养液颜色加深, 这和刘艳峰等的研究一致^[12]. 5 d 后有 7 株菌的去除率在 30% 以上, 2 株菌的去除率在 35% 以上, 按照去除率从大到小, 依次为 HY7 菌(36.32%)、CY4 菌(35.40%)、HY6 菌(32.14%)、CN2 菌(32.02%)、HY3 菌(31.92%)、CB9 菌(30.52%)、HY2 菌(30.10%). HY4 菌的芘去除率最小 < 20%, 可能是由于 HY4 菌表面亲水性强, 不利于其和疏水性的多环芳烃接触造成的.

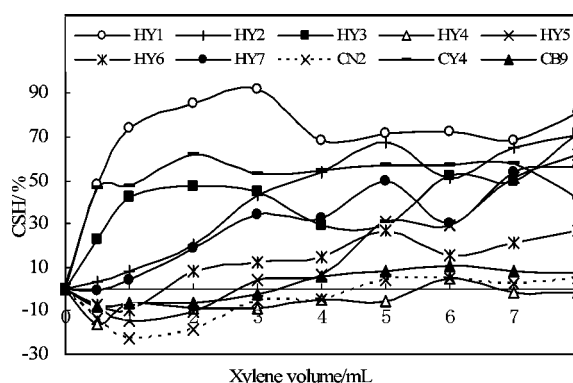


图 1 牛肉膏蛋白胨培养的菌体表面疏水性

Fig. 1 The Cell Surface Hydrophobicity of strains cultured from NB medium

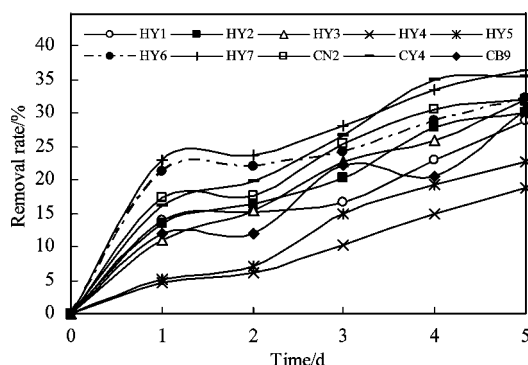


图 2 10 株优良菌对芘的降解率

Fig. 2 The biodegradation rate of pyrene by ten predominant strains

2.4 优良菌可利用碳源的研究结果

PAHs 污染环境中,复杂的多底物混合态形式往往会影响微生物的生理习性及微生物对混合组分中单个底物的利用,进而影响相应的降解效率.能够利用多种底物的微生物,在实际的生物修复过程中可能会有更好的环境适应能力,进而更好的发挥作用.另外,不同生长碳源条件下,表达的多环芳烃氧化酶不同,菌体表面性质可能不同,从而影响菌对多环芳烃的降解能力^[7].本研究结果表明,CY4 菌和 HY7 菌在受试碳源中生长的最旺盛,具有利用水杨酸、邻苯二酚、邻苯二甲酸、1-羟基-2-萘酸等多环芳烃中间产物的能力,能够利用苯酚和杂环芳烃(包括吡啶、吡啶、喹啉)及多环芳烃(萘、菲、蒽),在葡萄糖中生长良好,表现出较宽的底物谱,如表 2 所示.

2.5 优良菌的鉴定结果

以上研究发现 CY4 菌和 HY7 菌对蒽的去除率最高,疏水性也较高,并且具有广泛的底物谱,是 2 株具有 PAHs 降解潜力的优势菌,因此,对这 2 株菌进行了生理生化和分子生物学鉴定.

对 CY4 菌和 HY7 菌提取的基因组 DNA 和利用细菌通用引物进行 16S rDNA PCR 扩增后的电泳监测结果如图 3 所示,从图中可以看出泳道 4、5 约在 1 500 bp 处各有一条清晰的特异性条带,没有杂带出现,表明实验过程没有受到 DNA 污染. CY4 菌 16S rDNA 测序,得到全长 1 217 bp 的基因序列,根据测序峰图截取可信序列 27~1 202 bp,登录美国 GenBank 数据库通过 BLAST 功能进行基因序列同源性搜索,对比发现 CY4 菌的 16S rDNA 序列和基因库已知菌株的相似性达到 97%,结合生理生化特性可以判定 CY4 为杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*). HY7 菌 16S rDNA 测序,得到全长 883 bp 的基因序列,根据测序峰图截取可信序列 18~872 bp,登录美国 GenBank 数据库通过 BLAST 功能进行基因序列同源性搜索,对比发现 HY7 菌的 16S rDNA 序列和基因库已知菌株的相似性达到 95%,结合其生理生化特性可以判定 HY7 菌为施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*).

虽然气单胞菌和假单胞菌都是已知的能够降解多环芳烃的细菌常见属,但针对杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)的多环芳烃降解国内外文献中尚未见报道,针对施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)降解多环芳烃的研究国内外也少有报道.邵宗泽等^[13]从厦门储油码头油污水中分离得到了一株施氏假单胞菌,其对萘有较高的降解能力,但对蒽的 7 d 降解率仅为 8.75%,而本研究获得的 HY7 菌对蒽 5 d 降解率就可达 36.32%;另有 Agnieszka Mrozik 等^[14]分离出一株施氏假单胞菌但仅研究了其对萘的降解过程.

3 结 论

以 PAHs 为唯一碳源梯度驯化,从焦化废水底泥中分离筛选得到 2 株疏水性高效蒽降解菌.其中

表 2 CY4 和 HY7 可利用碳源生长情况
Tab. 2 The growing substrates of CY4 and HY7 strain

Growing substrates	ΔOD_{600nm}	
	CY4 strain	HY7 strain
Salicylic acid	0.236	0.354
Catechol	0.329	0.346
Phthalic acid	0.074	0.234
1-hydroxyl-2-naphthoic acid	0.033	0.147
Phenol	0.337	0.310
Glucose	0.582	0.575
Indole	0.124	0.218
Pyridine	0.122	0.110
Quinoline	0.154	0.136
Anthracene	0.132	0.143
Phenanthrene	0.157	0.186
Pyrene	0.090	0.101

注: ΔOD_{600nm} 表示 90 h 后和开始时培养液的 OD 值差值;黑体数字表示 $\Delta OD_{600nm} > 0.2$ 生长较快

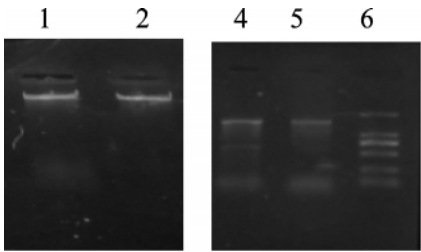


图 3 CY4 菌和 HY7 菌基因组 DNA 和 16S rDNA 扩增电泳图

(1、2 泳道依次为 CY4 菌和 HY7 菌的基因组 DNA;4、5 泳道依次为 CY4 菌和 HY7 菌的 16S rDNA;6 泳道为 DL2000 Marker)

Fig. 3 Gelose gelatin electrophoresis after 16S rDNA amplification of CY4 and HY7 (Lane 1 and lane 2 were genomic DNA of CY4 strain and HY7 successively; lane 4 and lane 5 were 16S rDNA of CY4 strain and HY7 successively; lane 6 was DL2000 Marker)

HY7 菌对芘的 5 d 降解率达 36.32%,CY4 菌对芘的 5 d 降解率达 35.40%。优良菌对碳源的可利用性试验表明,CY4 菌和 HY7 菌的利用底物谱较为广泛。其可以利用水杨酸、邻苯二酚、邻苯二甲酸、1-羟基-2-萘酸等多环芳烃转化产物,能够利用苯酚和吡啶、吡啶、喹啉等杂化芳烃,能够利用蒽、菲、芘等多环芳烃,在葡萄糖中生长良好。生理生化及分子生物学鉴定结果表明,CY4 为杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*),HY7 为施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*),其中 *Aeromonas salmonicida* 菌株对多环芳烃的降解研究目前国内外未见报道,*Pseudomonas stutzeri* 菌株对多环芳烃的降解研究国内外鲜见报道。

参考文献 References

- [1] 唐玉斌,毛莉,吕锡武,等.一株蒽降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J].环境科学与技术,2007,30(9):11-13.
TANG Y B, MAO L, LÜ X W, et al. Isolation and identification of a Fungous strain degrading anthraene and its degradation characteristics[J]. Environmental Science and Technology, 2007, 30(9):11-13.
- [2] 王蕾,聂麦茜,苏君梅,等. PAHs 代谢物对 PAHs 生物降解的影响作用[J]. 西安建筑科技大学学报:自然科学版,2010,42(1):77-82.
WANG L, NIE M Q, SU J M, et al. Effects of natural metabolic mixtures of anthracene or phenanthrene on biodegradation kinetics of anthracene or phenanthrene[J]. J. of Xi'an Univ. of Arch. & Tech.: Natural Science Edition, 2010, 42(1):77-82.
- [3] SEO S J, KEUM Y S, HU Y, et al. Degradation of phenanthrene by Burkholderia sp. C3; initial 1, 2- and 3, 4-dioxygenation and meta- and ortho-cleavage of naphthalene-1,2-diol[J]. Biodegradation, 2007, 18(1):123-131.
- [4] 王蕾,聂麦茜,王志盈,等.外加碳源对优良菌降解芘的影响实验研究[J].水处理技术,2009,35(6):24-31.
WANG L, NIE M Q, WANG Z Y, et al. The influence of exotic carbon source on pyrene biodegradation by predominant strains [J]. Technology of Water Treatment, 2009, 35(6): 24-27.
- [5] 马放,任南琪,杨基先.污染控制微生物学实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2002.
MA F, REN N Q, YANG J X. Pollution Control Microbiology Experiment [M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2002.
- [6] CASTELLANOS T, ASCENCIO F, BASHAN Y. Cell-surface hydrophobicity and cell-surface charge of *Azospirillum* spp. [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997(24):159-172.
- [7] ZHAO H P, WANG L, REN J R, et al. Isolation and characterization of phenanthrene-degrading strains *Sphingomonas* sp. ZP1 and *Tistrella* sp. ZP5[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 152(3):1293-1300.
- [8] Buchanan R E, Gibbons N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京:科学出版社,1984.
Buchanan R E, Gibbons N E. Bergey's manual of determinative Bacteriology [M]. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984.
- [9] 李全霞,范丙全,龚明波,等.降解芘的分枝杆菌 M11 的分离鉴定和降解特性[J].环境科学,2008,29(3):763-768.
LI Q X, FAN B Q, GONG M B, et al. Isolation, identification of a pyrene-degrading strain *Mycobacterium* sp. M11 and its degrading characteristics[J]. Environmental Science, 2008,29(3):763-768.
- [10] 郭楚玲,郑天凌,洪华生.多环芳烃的微生物降解与生物修复[J].海洋环境科学,2000,19(3):24-29.
GUO C L, ZHENG T L, HONG H S. Biodegradation and bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Marine Environmental Science, 2000, 19(3):24-29.
- [11] 吴伟,余晓丽,黎小正,等.芽孢杆菌与假单胞菌的疏水性及其应用[J].中国环境科学,2003,23(2):152-156.
WU W, YU X L, LI X Z, et al. Hydrophobicity of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. and its application [J]. China Environmental Science, 2003, 23(2):152-156.
- [12] 刘艳锋,周作明,李小林,等.芘降解菌的分离纯化及其降解性能测定[J].华侨大学学报:自然科学版,2008,29(2):267-269.
LIU Y F, ZHOU Z M, LI X L, et al. Isolation and purification of pyrene degrading strains and measurement of their degradation capability [J]. Journal of Huaqiao University: Natural Science, 2008, 29(2): 267-269.

(下转第 881 页)

Optimization design of settlements planning and design under eco-concept in the new socialist countryside

——with rural settlements in Guanzhong Region as an example

LIU Qi-bo¹, LI Hui-ling², ZHOU Na², LIU Qi-hong¹

(1. Architecture Department, Chang'an University, Xi'an 710061, China;

2. Xi'an Architectural Design-research Institute, Xi'an 710054, China)

Abstract: Construction of new design scheme in new rural settlements should be closely around the “people-oriented and environment-centric” design concept under eco concept, in building a sustainable living environment system in the countryside. This paper, through a large number of field research and scientific research, used rural settlements in Guanzhong area as an example, and proposed optimization design pattern of settlements planning and design under eco concept in socialism rural settlement. A typical village—Donghan Village in Huxian County is taken as an example, in keeping with the practice of the optimized design patterns. It would have certain theoretical and practical guiding significance for the sustainable development of rural settlements.

Key words: *eco concept; new rural settlements; people-oriented; saving and environmental protection; optimum design*

Biography: LIU Qi-bo, Associate Professor, Ph. D., Xi'an 710061, P. R. China, Tel: 0086-13572508860, E-mail: lucy@chd.edu.cn

(上接第 863 页)

- [13] 邵宗泽, 许 晔, 马迎飞, 等. 2 株海洋石油降解细菌的降解能力[J]. 环境科学, 2004, 25(5): 133-137.
SHAO Z Z, XU Y, MA Y F, et al. Isolation and identification of two marine bacteria with hydrocarbon-biodegradation activity [J]. Environmental Science, 2004, 25(5): 133-137.
- [14] MROZIK A, LABUZEK S, PIOTROWSKA-SEGET Z. Changes in fatty acid composition in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas stutzeri* during naphthalene degradation [J]. Microbiological Research, 2005(2): 149-157.

Isolation identification of highly efficient degradation bacteria of pyrene and its basic characteristics

WANG Lei^{1,2}, NIE Mai-qian², YANG Xue-fu³, CAO Wen², YANG Yu-zhen¹, LIAO Hui-bin¹

(1. Shaanxi Environmental Monitoring Center, Xi'an, 710054, China;

2. School of Envi. and Muni. Eng., Xi'an Univ. of Arch. & Tech., Xi'an 710055, China;

3. Department of Civil Eng., Xi'an Tech. Univ., Xi'an 710032, China)

Abstract: Two highly efficient degradation hydrophobic strains were successfully isolated and screened from the bottom sludge of coke-plant waste water by the PAH-sole-carbon source gradient concentration domestication. According to the analysis of its 16S rDNA gene sequence, CY4 strain was identified as *Aeromonas salmonicida* which was a new strain in PAHs biodegradation reports to the best of our knowledge, while HY7 was identified as *Pseudomonas stutzeri* which was seldom reported. The results indicated that the two strains could utilize extensive substrates, including PAHs intermediates such as salicylic acid, hybrid aromatic hydrocarbon such as indole, PAHs and glucose. And the five days pyrene degradation rate was up to 35.40% by CY4 strain and up to 36.32% by HY7 strain.

Key words: *pyrene; degradation strains; cell surface hydrophobicity; substrates; biodegradation rate*

Biography: WANG Lei, Ph. D., Xi'an 710055, P. R. China, Tel: 0086-15991716973, E-mail: yimi003@sina.com