

XÁC ĐỊNH GIEN MÃ HOÁ DIOXYGENAZA TỪ CHỦNG VI KHUẨN PHÂN HUỖ DIBENZOFURAN *TERRABACTER* SP. DMA PHÂN LẬP TỪ ĐẤT NHIỄM CHẤT DIỆT CỎ CHỨA DIOXIN TẠI ĐÀ NẴNG

NGUYỄN BÁ HỮU, ĐẶNG THỊ CẨM HÀ

Viện Công nghệ sinh học

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phân lập vi khuẩn

Đất nhiễm chất diệt cỏ tại căn cứ quân sự cũ của Mỹ ở sân bay Đà Nẵng được lấy ở độ sâu từ 5-20 cm. Vi khuẩn sử dụng DBF được phân lập theo phương pháp làm giàu trên môi trường khoáng (g/l): 0,05 g Ca(NO₃)₂, 1 g (NH₄)₂SO₄, 0,2 g MgSO₄·7H₂O, 0,01 g Fe-NH₄ xitrat, 14 g Na₂HPO₄, 2 g KH₂PO₄ và 3 mM DBF ở 30°C với tốc độ lắc 200 vòng/phút. Tiếp tục lặp lại đến lần làm giàu thứ 3 và gặt dịch huyền phù vi sinh vật trên môi trường khoáng thạch chứa DBF. Sau khoảng 7 ngày nuôi cấy, nhỏ 1 vài giọt dung dịch 2,3-dihydroxybiphenyl (2,3-DHB) 100 μM lên các khuẩn lạc. Khuẩn lạc chuyển màu vàng được tách sạch và thử lại khả năng sử dụng DBF trên môi trường muối khoáng dịch.

2. Xác định trình tự gen mã hóa 16S rARN

Lấy 1 khuẩn lạc chủng DMA chuyển vào eppendorf 1,5 ml chứa 100 μl đệm Tris-Cl 10 mM, pH 8,0, đun sôi 15 phút, sau đó ly tâm 10 phút ở 12.000 vòng/phút. Hút 5 μl dịch phía trên và nhân gen mã hóa 16S rARN với cặp mồi 27F và 1492R. Sản phẩm PCR được làm sạch theo kit QIAgen. Trình tự nucleotit của đoạn gen mã hóa 16S rARN được xác định trực tiếp trên máy xác định trình tự nucleotit tự động ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer với bộ hoá chất BigDye Terminator của Perkin-Elmer và sử dụng các mồi 27F, 530F, 945F, 518R, 1087R và 1492. Trình tự nucleotit được xử lý trên phần mềm Sequencher version 4.0.5. Mức độ tương đồng của đoạn gen 16S rARN chủng DMA được so sánh với các trình tự gen mã hóa 16S rARN trên ngân hàng dữ liệu GenBank và Ribosome Database Project (RDP). Cây phát

Trong chiến tranh Việt Nam, các chất diệt cỏ (hỗn hợp của 2,4-dichlorophenoxyaxetic axít (2,4-D) và 2,4,5-trichlorophenoxyaxetic axít (2,4,5-T)) chứa dioxin (DD) được quân đội Mỹ phun, rải xuống nhiều vùng ở miền Trung và Nam Việt Nam. Hiện nay, đất tại một số “điểm nóng” ở các căn cứ quân sự trước đây của Mỹ vẫn bị ô nhiễm nặng các chất diệt cỏ kể trên, DD, dibenzofuran (DBF) và các hợp chất tương tự. Phương pháp phân huỷ sinh học để tẩy độc các điểm nóng ở Đà Nẵng đang được sử dụng và cho kết quả rất khả quan [3]. So với các phương pháp lý, hoá và cơ học, phương pháp xử lý sinh học có giá thành thấp và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả và áp dụng rộng rãi ở các “điểm nóng” khác cần có các nghiên cứu sâu về sự đa dạng, khả năng phân huỷ sinh học và các gen tham gia quá trình phân huỷ các chất độc trên của tập đoàn vi sinh vật bản địa. Trong số các chất độc trên, các hợp chất DD và DBF được chú ý do tính độc cao của chúng, đặc biệt là 2,3,7,8-TCDD/DBF. Quá trình phân huỷ hiếu khí DBF và DD diễn ra theo hai cơ chế: Oxi hoá vị trí bên và vị trí góc của nhân thơm, trong đó oxi hoá đầu tiên ở vị trí góc được thực hiện bởi tiểu đơn vị alpha angular dioxygenaza được quan tâm hơn cả, vì con đường này chuyển hoá hoàn toàn DBF và DD [1, 4]. Một số chủng vi khuẩn Gram dương thuộc các chi *Terrabacter*, *Janibacter*, *Microbacterium* và *Rhodococcus* có khả năng sử dụng DBF và DD theo một hoặc hai cơ chế oxi hoá kể trên [4]. Trong nghiên cứu này, chủng vi khuẩn DMA sử dụng DBF được phân lập theo phương pháp làm giàu, định tên dựa trên so sánh gen mã hóa 16S rARN và xác định gen mã hóa enzym angular dioxygenaza.

sinh loài dựa trên so sánh trình tự gen mã hóa 16S rARN được thiết kế dựa trên các phần mềm Clustal X, Bioedit version 6.0.7, Gendoc, Neighbour-Joining (NJ) tree, Mega. Trình tự đoạn gen mã hóa 16S rARN được đăng ký trên GenBank.

3. Xác định trình tự đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza

a. Thiết kế môi

Trình tự các gen mã hoá enzym dioxygenaza từ các chủng vi khuẩn sử dụng DD, DBF, carbazol, các hợp chất vòng thơm đơn và đa nhân được tải từ GenBank và so sánh trên phần mềm Clustal X. Hai vùng có nhiều nucleotit tương đồng nhất được chọn làm cặp môi.

b. Xác định trình tự đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza

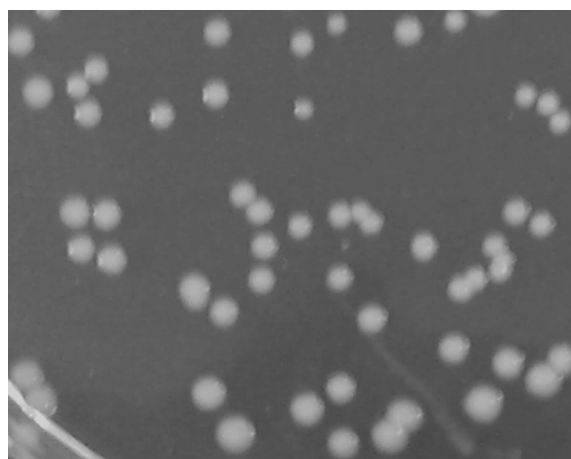
Nhiệt độ gắn môi tối ưu được kiểm tra với dải nhiệt độ từ 48°C đến 63°C với ADN của chủng vi khuẩn sử dụng DD và DBF *Sphingomonas* sp. RW1. Phản ứng PCR tiếp theo nhân đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza từ chủng DMA được thực hiện với thể tích 50 µl gồm 2,5 µl môi mỗi loại (10 µM), 1 µl hỗn hợp dNTP 12,5 mM, 5 µl đệm PCR 10 lần, 0,4 µl enzym Taq polymeraza (5 đơn vị/µl), 5 µl ADN tổng số vi khuẩn. Phản ứng được thực hiện trên máy PCR với chu trình nhiệt như sau: 95°C-5 phút, 34 chu kỳ (95°C - 1 phút, 50°C - 1 phút, 72°C - 1 phút 10 giây), 72°C - 7 phút, giữ nhiệt độ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarosa 2%, nhuộm với EtBr và quan sát dưới tia UV. Làm sạch sản phẩm PCR theo kit QIAGEN và xác định trình tự trực tiếp với cặp môi DIOX-F và DIOX-R. Xử lý, so sánh trình tự và dựng cây phát sinh như mô tả ở phần 2.2. Trình tự đoạn gen và trình tự axit amin suy diễn (theo <http://www.expasy.org>) được đăng ký trên GenBank.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

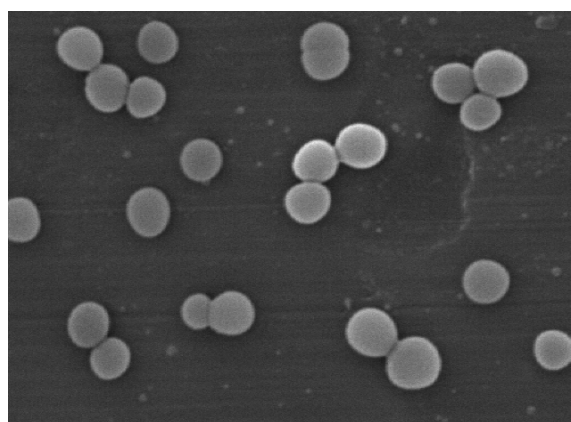
1. Phân lập và định loại vi khuẩn

Chủng vi khuẩn sử dụng DBF được phân lập như mô tả ở phần phương pháp. Sau 7 ngày nuôi cấy chủng DMA trên môi trường muối khoáng dịch thể chứa DBF, môi trường chuyển sang

màu nâu chứng tỏ có sự phân huỷ sinh học DBF. Trên môi trường muối khoáng thạch chứa DBF, khuẩn lạc chủng DMA có màu vàng chanh, lồi nhẹ, tròn tròn, kích thước khoảng 1,5-2 mm sau 7 ngày nuôi cấy (hình 1). Chủng DMA thuộc vi khuẩn Gram dương, tế bào hình cầu, kích thước 0,27-0,53 µm (hình 2).

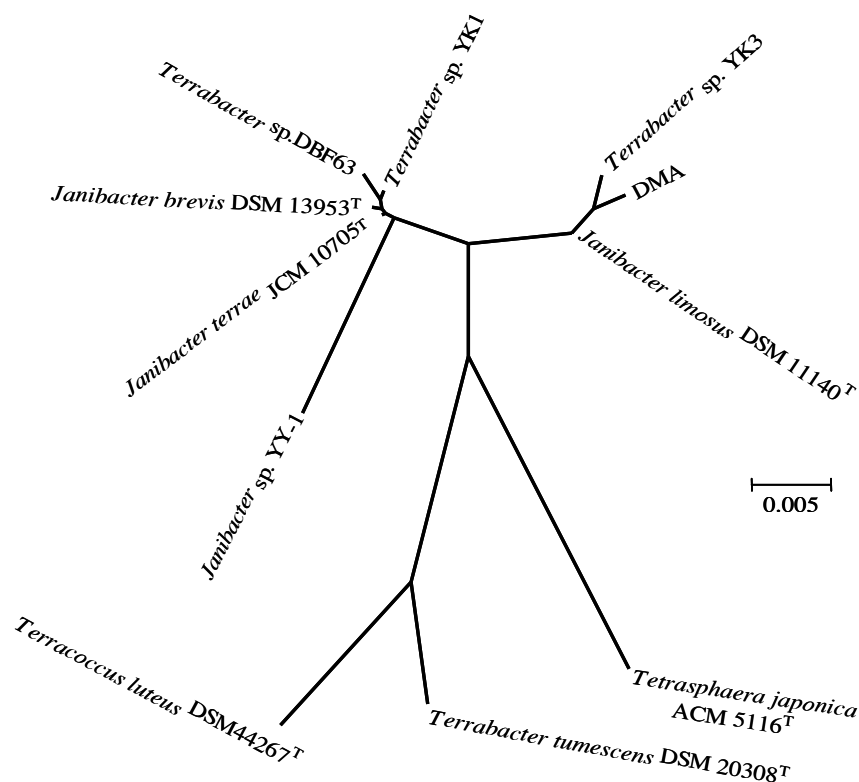


Hình 1. Khuẩn lạc chủng DMA trên môi trường khoáng thạch sau 7 ngày nuôi cấy



Hình 2. Tế bào chủng DMA dưới kính hiển vi điện tử quét JEOL với độ phóng đại 15.000 lần

ADN tổng số được tách chiết và nhân đoạn gen mã hóa 16S rARN gần 1500 bp, làm sạch và xác định trình tự. Sau khi thực hiện ghép các trình tự xác định trực tiếp với 6 môi 27F, 530F, 945F, 518R, 1087R và 1492R, đoạn gen mã hóa 16S rARN của chủng DMA có kích thước 1492 bp. Trình tự này được đăng ký trên GenBank với mã số EF065608.



Hình 3. Cây phát sinh chủng loại của chủng DMA và các chủng vi khuẩn đại diện dựa trên so sánh gen mã hóa 16S rARN và sử dụng phần mềm NJ. Thước đo thể hiện 5 nucleotit khác nhau trên 1000 nucleotit so sánh

Hiện nay, các công bố cho thấy, các vi khuẩn sử dụng DD, DBF và các hợp chất tương tự phân bố trong các lớp: *Alphaproteobacteria* (*Novosphingobium*, *Porphyrobacter*, *Sphingobium*, *Sphingomonas*), *Betaproteobacteria* (*Burkholderia*, *Ralstonia* (*Wauteria*)), *Gammaproteobacteria* (*Erwinia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*), lớp *Actinobacteria* (*Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Micobacterium*, *Nocardioides*, *Rhodococcus*, *Terrabacter* - *Janibacter*) và ngành *Fimicutes* (*Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp. BU3) [2 - 4]. Kết quả so sánh trình tự gen mã hóa 16S rARN cho thấy, chủng DMA có quan hệ gần gũi với nhóm vi khuẩn Gram dương của hai chi *Janibacter* và *Terrabacter* (hình 3). Chủng DMA có mức tương đồng gen mã hóa 16S rARN cao nhất 97,3% (1391 nucleotit) với chủng *Janibacter limosus* DSM 11140^T, 97,5% (1413 nucleotit) với *Terrabacter* sp. YK7 và 96,7% (1409 nucleotit) với *Terrabacter* sp. YK3. Vi khuẩn thuộc hai chi *Janibacter* và

Terrabacter có mức độ tương đồng rất cao khi so sánh trình tự gen 16S rARN [6]. Một số chủng thuộc hai chi này có khuẩn lạc màu vàng, tròn, tế bào dạng cầu. Dựa trên các đặc điểm hình thái và kết quả so sánh trình tự đoạn gen mã hóa 16S rARN trên RDP cho thấy chủng DMA có thể được xếp vào chi *Terrabacter* và có tên là *Terrabacter* sp. DMA. Các chủng vi khuẩn sử dụng DBF và DD thuộc hai chi *Janibacter* và *Terrabacter* thường được phân lập từ các mẫu tro của nhà máy đốt rác, đất hoặc trầm tích [4]. Kết quả phân lập và định tên chủng DMA cho thấy đây là chủng vi khuẩn thuộc chi *Terrabacter* sử dụng DBF đầu tiên được phân lập từ đất nhiễm các chất diệt cỏ chứa dioxin. Tuy nhiên, để có kết luận chính xác hơn về vị trí phân loại của chủng DMA cần có thêm các nghiên cứu về đặc điểm sinh lý-sinh hoá và lai ADN-ADN.

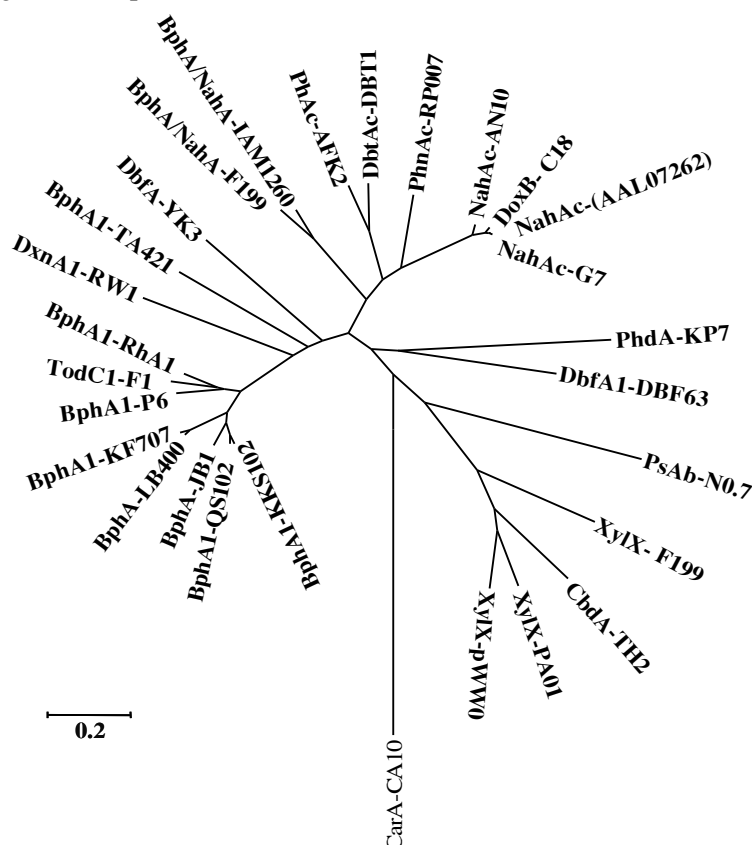
2. Xác định trình tự đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza

Hiện nay, các nghiên cứu cho thấy bước đầu tiên của quá trình oxi hoá DD, DBF và các hợp chất tương tự bởi vi khuẩn hiếu khí có sự tham gia của enzym dioxygenaza và được nghiên cứu nhiều nhất [2, 4, 8, 10]. Hai kiểu chủ yếu oxi hoá các hợp chất thơm bởi enzym dioxygenaza là:

- Gắn hai oxi ở vị trí bên (lateral dioxygenation) 1,2 và đôi khi ở các vị trí 2,3 hoặc 3,4 của một nhân thơm và chuyển hoá DD, DF sang dạng cis-dihydrodiol hợp chất này giống như ở các con đường phân huỷ sinh học naphthalen, biphenyl và các hợp chất thơm khác. Đặc điểm của kiểu phân huỷ sinh học này đó là tạo ra các sản phẩm trao đổi chất trung gian có màu vàng. Một số chất trung gian có tác động ức chế ngược lại vi khuẩn làm cho quá trình phân huỷ bị dừng lại.

- Gắn hai oxi ở vị trí góc (angular dioxygenation) 4 và 4a của nhân thơm liên kế cầu nối ete (ether) và các sản phẩm trung gian đi tiếp vào chu trình Krebs. Do vậy con đường này được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Một thành

viên trong ngành *Proteobacteria* có khả năng phân huỷ DD và DF được nghiên cứu chi tiết nhất đó là chủng vi khuẩn *Sphingomonas wittchii* RW1 [1, 10]. Enzym tham gia vào bước đầu của phân huỷ là phức đa thành phần gồm terminal hydroxylat dioxygenaza và hệ vận chuyển điện tử. Trong đó terminal hydroxylat dioxygenaza gồm dưới đơn vị lớn DxnA1 mã hoá bởi gen *dxnA1* và dưới đơn vị nhỏ DxnA2 mã hoá bởi gen *dxnA2*. Chuỗi hệ thống vận chuyển điện tử gồm ferredoxin (Fdx1) mã hoá bởi gen *fdx1* và hai reductaza (RedA1 và RedA2) mã hoá bởi gen *redA1* [1, 10]. Ngoài ra các gen tham gia mã hoá DBF angular dioxygenaza cũng được nghiên cứu nhiều ở vi khuẩn thuộc các chi *Terrabacter*, *Janibacter* và các loài *Pseudomonas resinovorans*, *Pseudomonas stutzeri*. Các gen này gồm *dbfA1* và *dbfA2* mã hoá DF 4,4a dioxygenaza, và *dbfA3* và *dbfA4* mã hoá dioxygenaza tham gia vào hệ thống vận chuyển điện tử [4], *carAc* mã hoá carbazol 1,9a-dioxygenaza [9].



Hình 4. Cây phát sinh chủng loại giữa các tiểu đơn vị enzym alpha dioxygenaza.

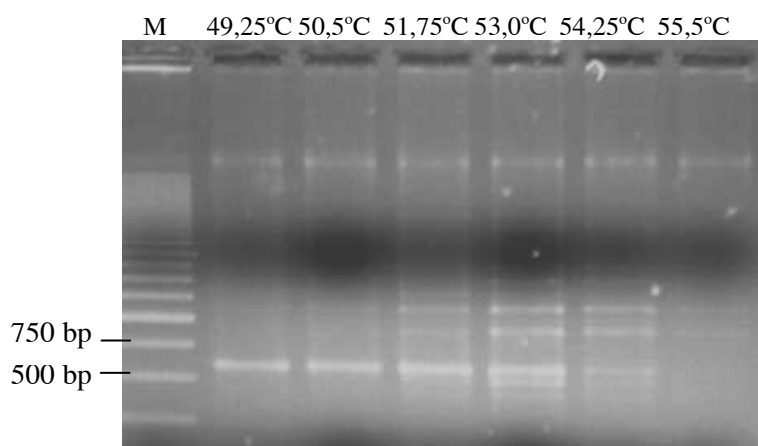
Thước đo thể hiện 2 axit amin khác nhau trên trình tự 10 axit amin so sánh

Kết quả so sánh trình tự axit amin các tiểu đơn vị alpha của enzym dioxygenaza từ các chủng vi khuẩn hiếu khí sử dụng DD, DBF, các hợp chất nhân thơm và hợp chất tương tự cho thấy sự đa dạng của các enzym này (hình 4). Có sự khác nhau tương đối về trình tự axit amin của một số enzym alpha dioxygenaza như CarA, DbfA và DxnA1 ở các chủng vi khuẩn sử dụng DBF và DD. Từ kết quả so sánh trình tự của một số gen mã hoá tiểu đơn vị alpha của enzym dioxygenaza cho thấy hai đoạn có nhiều nucleotit tương đồng, hai đoạn này được chọn để tổng hợp cặp mồi DIOXY-F (5'-TGY ASN TAY CAY GGV TGG-3') và DIOXY-R (5'-TBV GGN CCV YKN GGV TGC C-3').

Theo lý thuyết, đoạn gen mã hoá tiểu đơn vị alpha dioxygenaza có kích thước khoảng 600 bp. Chủng *Sphingomonas* sp. RW1 là vi khuẩn hiếu khí được nghiên cứu sớm và sâu nhất về các gen tham gia phân hủy DD và DBF [1]. Trong nghiên cứu này, chủng *Sphingomonas* sp. RW1 được sử

dụng để kiểm tra, kết quả ở hình 5 cho thấy ở 7 nhiệt độ khác nhau đều có băng ADN có kích thước gần như lý thuyết. Tuy nhiên, ở nhiệt độ khoảng 50°C cho sản phẩm PCR sắc nét và đặc hiệu hơn, sản phẩm PCR này đã được xác định trình tự và có mức tương đồng 100% với trình tự đoạn gen mã hoá tiểu đơn vị alpha dioxygenaza của chủng *Sphingomonas* sp. RW1 trên ngân hàng GenBank.

Kết quả ở hình 6 cho thấy, sản phẩm PCR nhân đoạn gen mã hoá dioxygenaza từ ADN tổng số của hai chủng RW1 và DMA với nhiệt độ gần mỗi 50°C đều thu được các băng ADN có kích thước như tính toán lý thuyết. Nghiên cứu khác sử dụng cặp mồi DIOXY-F và DIOXY-R cho thấy sự tồn tại của đoạn gen mã hoá dioxygenaza trong chủng vi khuẩn BU3 sử dụng dioxin [3]. Như vậy cặp mồi DIOXY-F và DIOXY-R có thể nhận được đoạn gen mã hoá dioxygenaza từ chủng các chủng vi khuẩn sử dụng DBF và DD.

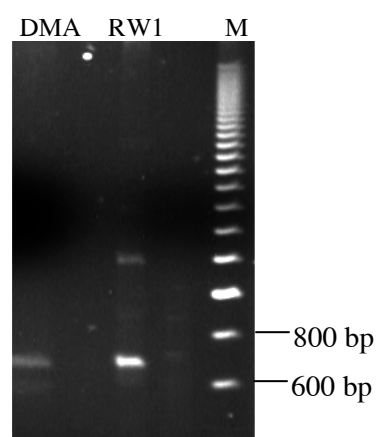


Hình 5. Sản phẩm PCR nhân đoạn gen mã hoá dioxygenaza từ chủng *Sphingomonas* sp. RW1 với các dải nhiệt độ khác nhau. M-thang ADN chuẩn X (Roche)

DMA được làm sạch và xác định trình tự trực tiếp (hình 7). Trình tự đoạn gen này và trình tự axit amin suy diễn được đăng ký trên ngân hàng GenBank với các số đăng ký EF200064 và ABM92930.

So sánh trình tự đoạn gen nhân lên từ chủng DMA cho thấy, sản phẩm PCR nhân được có mức tương đồng cao 97% với gen mã hoá tiểu đơn vị alpha angular dioxygenaza của các chủng *Rhodococcus* sp. DFA3, *Terrabacter* sp.

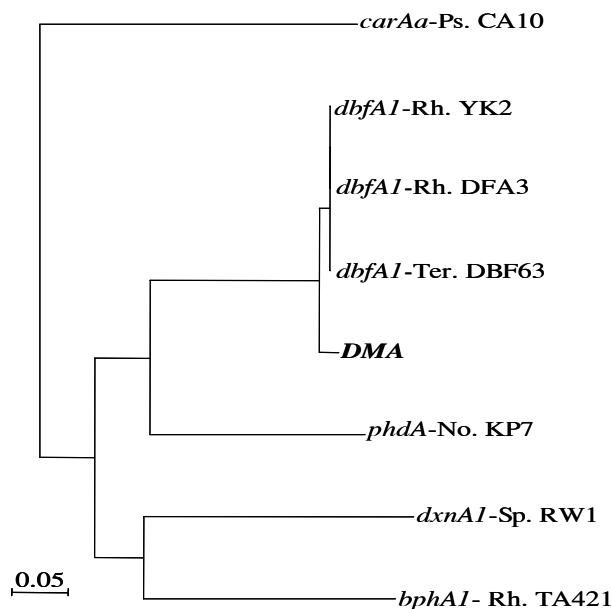
DBF63, *Rhodococcus* sp. YK2; 96% với gen mã hoá tiểu đơn vị alpha putative terminal dioxygenaza của chủng *Mycobacterium* sp. YK18. Hai chủng *Rhodococcus* sp. DFA3 và *Rhodococcus* sp. YK2 có khả năng phân hủy DBF [5], trong khi đó chủng *Terrabacter* sp. DBF63 có khả năng phân hủy cả DBF và DD [7]. Kết quả trên cũng phù hợp với kết quả phân loại cho thấy chủng DMA thuộc chi *Terrabacter*.



Hình 6. Sản phẩm PCR nhân đoạn gen mã hoá dioxygenaza từ chủng RW1 và DMA. M: thang ADN 200 bp (Promega)

cgatctgatcgggtgtacctcgcgcagataccgtctacaatggcgcgagctggacaagtctcgg
 D L I G V P R A D T V Y N G E L D K S R
 ctaggtctgaagaccgttccgcgggtggagaactacaagggcttcatcttcgccaattgg
 L G L K T V P R V E N Y K G F I F A N W
 gacaaggacgccatcccgcctggtggactatctcggcgcgcgaccagctctggtatttggac
 D K D A I P L V D Y L G A D Q L W Y L D
 ctggccttcgagggcctctcggcgggctcgcgaggtgatcggccccacgatgaagttcgg
 L A F E A P L G G L E V I G P T M K F R
 atcaaggccaactggaagctggcggcggagaacttcgcggcgcgacgactaccacgtgctc
 I K A N W K L A A E N F A G D D Y H V L
 tacacacatgggtcggccttccagatcggcttcctccc
 Y T H G S A F Q I G F L

Hình 7. Trình tự nucleotit của đoạn gen mã hoá tiểu đơn vị alpha của enzym dioxygenaza và trình tự axit amin suy diễn nhân lên từ ADN chủng *Terrabacter* sp. DMA và cặp môi DIOXY-F và DIOXY-R



Hình 8. Cây phát sinh chủng loại giữa một số trình tự đại diện mã hoá tiểu đơn vị enzym alpha dioxygenaza và trình tự nhân lên từ chủng DMA sử dụng cặp môi DIOXY-F và DIOXY-R. Thước đo thể hiện 5 nucleotit khác nhau trên trình tự 100 nucleotit so sánh.

III. KẾT LUẬN

Kết quả phân loại dựa trên so sánh gen mã hóa 16S rARN và một số đặc điểm hình thái cho thấy, chủng DMA sử dụng DBF, phân lập từ đất nhiễm chất diệt cỏ chứa dioxin tại căn cứ quân sự cũ của Mỹ ở sân bay Đà Nẵng là vi khuẩn Gram dương và thuộc chi *Terrabacter*. Chủng vi

khủng này được đặt tên là *Terrabacter* sp. DMA. Cặp môi DIOXY-F, DIOXY-R đã được thiết kế và nhân được đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza từ chủng DMA. Trình tự đoạn gen mã hoá enzym dioxygenaza của chủng DMA có mức tương đồng cao 97% với gen mã hoá tiểu đơn vị alpha angular dioxygenaza của các chủng *Rhodococcus* sp. DFA3, *Terrabacter* sp.

DBF63, *Rhodococcus* sp. YK2; 96% với gien mã hoá tiểu đơn vị alpha putative terminal dioxygenaza của chủng *Mycobacterium* sp. YK18.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện bởi kinh phí của đề tài cấp nhà nước (Nghiên cứu, phát triển công nghệ phân huỷ sinh học và kỹ thuật nhả chậm làm sạch ô nhiễm chất độc hoá học trong đất) thuộc chương trình 33 và quỹ học bổng DAAD (Cộng hoà Liên bang Đức).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Armengaud J. et al.**, 1998: J. Bacteriol., 180: 3954-66.
2. **Bunz P. V., S. Schmidt.**, 1997: Biotechnol. Advances, 15: 621-632.
3. **Đặng T. C. H. và cs.**, 2004: Báo cáo nghiệm thu đề tài nhà nước “Nghiên cứu, phát triển công nghệ phân huỷ sinh học và kỹ thuật nhả chậm làm sạch ô nhiễm chất độc hoá học trong đất” thuộc chương trình 33, Trung tâm Thông tin khoa học và công nghệ Quốc gia. Bộ Khoa học và Công nghệ.
4. **Hiraishi A.**, 2003: Microbes Environ., 18: 105-125.
5. **Iida T. et al.**, 2002: Biosci. Biotechnol. Biochem., 66: 1462-1472.
6. **Lang E. et al.**, 2003. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 53: 1999-2005
7. **Mona L. et al.**, 1993: Appl. Microbiol. Biotechnol., 59: 285-289.
8. **Nojiri H., T. Omori.**, 2002: Biosci. Biotechnol. Biochem., 66: 2001-2016.
9. **Sato, S. I. et al.**, 1997: J. Bacteriol., 179: 4850-4858.
10. **Wittich R. M.**, 1998: Appl. Microbiol. Biotechnol., 49: 489-499.

CHARACTERIZATION OF GENE ENCODED FOR DIOXYGENASE IN DIBENZOFURAN DEGRADING *TERRABACTER* SP. STRAIN DMA ISOLATED FROM HERBICIDE/DIOXIN CONTAMINATED SOIL IN DANANG

NGUYEN BA HUU, DANG THI CAM HA

SUMMARY

The dibenzofuran degrading bacterium DMA strain was isolated from heavy herbicide/dioxin contaminated soil in a US former military base at Danang airport. Colony of DMA is lemon yellow, round, slight convex and 1.5 - 2 mm diameter after 7 days of incubation in mineral medium containing dibenzofuran. Cells were Gram-positive, cocci shaped, with diameter ranging from 0.27 - 0.53 μm . 16S rDNA sequence analysis indicated that strain DMA was closely related to *Janibacter limous* DSM 11140^T (97.3%), *Terrabacter* sp. YK7 (97.5%) and *Terrabacter* sp. YK3 (96.7%). Based on morphological characteristics and analysis of 16S rARN gene sequence, DMA strain should be placed in genus *Terrabacter* and named *Terrabacter* sp. DMA. The primer pair DIOXY-F và DIOXY-R were designed based on comparison of many genes encoded for alfa subunit dioxygenase from aromatic hydrocarbon, dibenzofuran and dioxin degrading bacteria. The PCR product amplified from total DNA of DMA strain was showed high similar levels 97% to *dhfA1* genes in *Rhodococcus* sp. DFA3, *Terrabacter* sp. DBF63 and *Rhodococcus* sp. YK2; 96% to gene encoded alpha putative terminal dioxygenaza in *Mycobacterium* sp. YK18. All of these Gram-positive bacterial strains are able to degrade dibenzofuran.

Ngày nhận bài: 17-1-2007