

石油的开采、运输和使用导致石油中有毒有害物质--多环芳烃（PAH）的污染。我国大多数陆上油田，如胜利油田，大庆油田，长庆油田和克拉玛依油田等，都分布在土壤盐度较高的区域，氯化钠对应浓度在 5%-15%。同时，石油海底钻探和海洋运输过程中，不时有泄露事故发生，导致大量 PAH 沉积在海底和滨海湿地中，也是高盐环境（氯化钠浓度 3%-3.5%）。因此，开发能快速降解 PAH 的微生物菌剂逐渐受到了广泛关注。以此为目标，某项研究开展了富集和鉴定 PAH 嗜盐降解菌的工作。

1) 研究首先取石油污染的盐碱地土壤作为接种源，对 PAH 嗜盐降解菌进行富集培养，请写出富集培养基的配方（写出物质名称即可）。

2) 真实情况下，研究者使用菲（如图 1）作为 PAH 的代表，进行了 3 个月的富集培养，获得了菲降解嗜盐菌群。然后，取 10% 的该菌群悬浊培养液加入 90% 体积的新鲜培养基中，检测菲的降解如图 2。

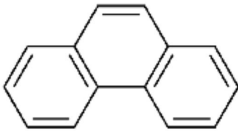


图 1. 菲分子式

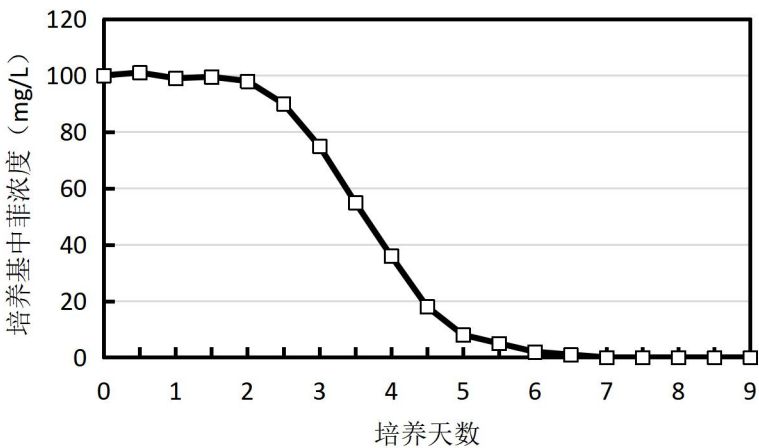


图 2. 菲降解曲线

请根据图 2 画出微生物比生长速率曲线示意图，注意横坐标需与图 2 保持基本一致，纵坐标是以微生物数量计算的比生长速率，无需标值。

3) 石油中有多种 PAH，研究者同时用同样方法检测了以上驯化后的菌群对奈（如图 3）和芘（如图 4）的降解能力（如图 5）。

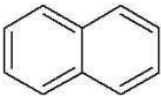


图 3. 萘分子式

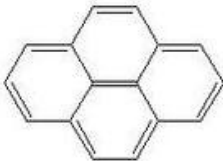


图 4. 芘分子式

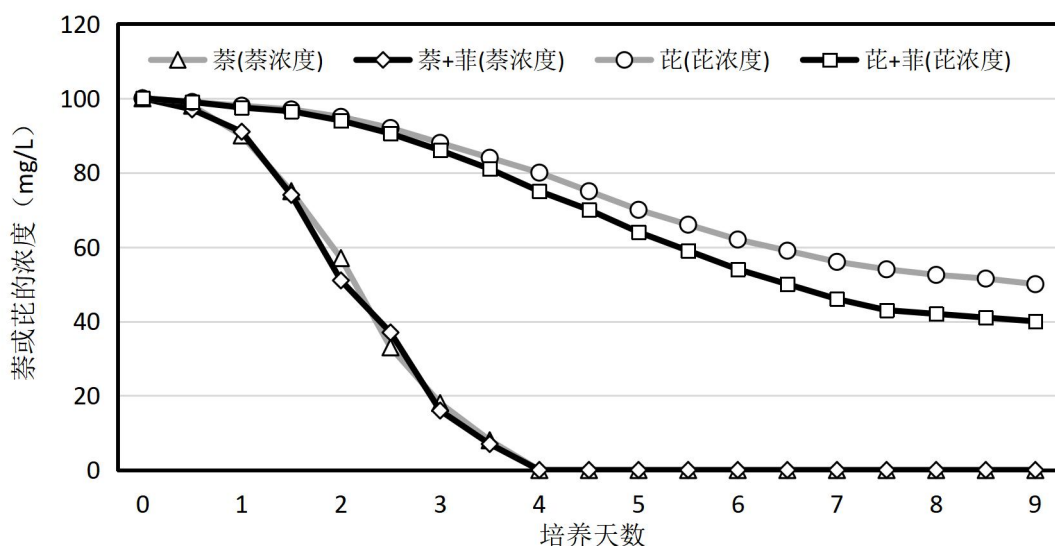


图 5. 菲驯化后菌群对萘和芘的降解。其中“萘（萘浓度）”表示培养时仅加入了萘，而“萘+菲（萘浓度）”表示在培养时同时加了萘和菲，菲起始浓度也为 100mg/L，但曲线只显示了萘的浓度。“芘（芘浓度）”，“芘+菲（芘浓度）”也是相同含义。

图 5 的结果说明了菲驯化后菌群在 PAH 降解方面的什么特点？

4) 研究者监测了盐浓度对以上菲驯化菌群降解能力的影响，如图 6。请根据实验结果说明该菌群对不同盐浓度的适应能力，理论上如何调整驯化条件以达到对不同高盐环境更好的适应性？

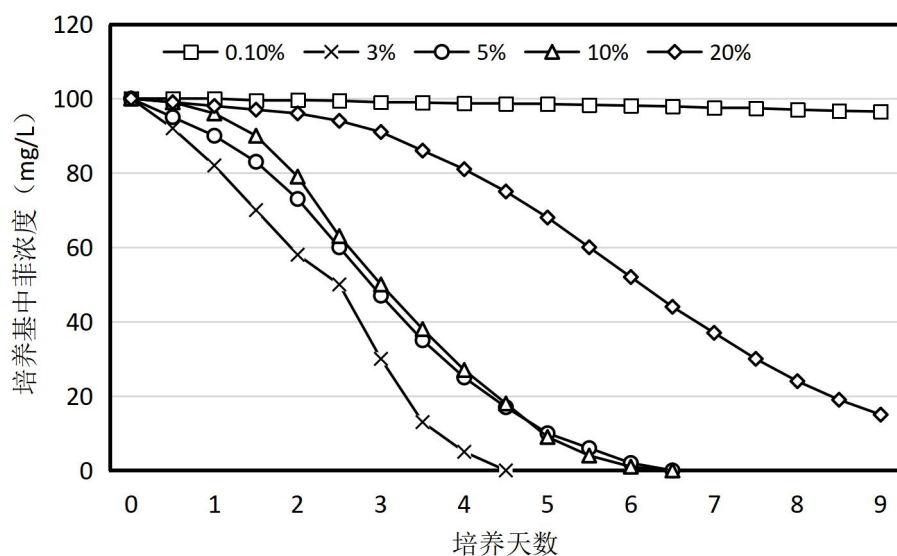


图 6. 不同盐度对驯化后菲降解菌群降解能力的影响

5) 为了鉴定菲驯化菌群的细菌种属，研究者需要先提取微生物的基因组 DNA。但是研究者图方便，使用了大肠杆菌质粒 DNA 的提取方法，认为基因组 DNA 和质粒 DNA 本质都是 DNA，应该可以使用。质粒 DNA 提取的原理为：先通过阴离子去污剂 SDS 和 NaOH 裂解细胞膜和细胞

壁，俗称碱裂解。同时 SDS 和碱可以变性蛋白质，使其去折叠成为线性多肽链，细胞内所有物质都能溶解。然后加酸中和至 pH 中性，此时所有蛋白质重新折叠，但是无法恢复到原来的天然三维构象，蛋白质的疏水面相互结合形成大量沉淀，而 DNA 不存在部分部位疏水性高的问题，仍然能很好地溶于水。因此离心取上清，通过有机溶剂（异丙醇或乙醇）即可沉淀质粒 DNA。

然而，使用了这种方法完全无法获得基因组 DNA，或者回收的 DNA 量极低。请根据课程大实验给出的基因组 DNA 提取方法进行比对，说明质粒 DNA 提取方法不能用于基因组 DNA 提取的原因。

6) 研究者从菲降解菌群中筛选出了一个菲降解菌株 (WCY1)，该菌株降解菲的速率与原降解菌群相似，然而，当使用溶解性有机碳 (DOC) 作为指标衡量时，却有很大差异 (如图 7)，请分析一下原因。

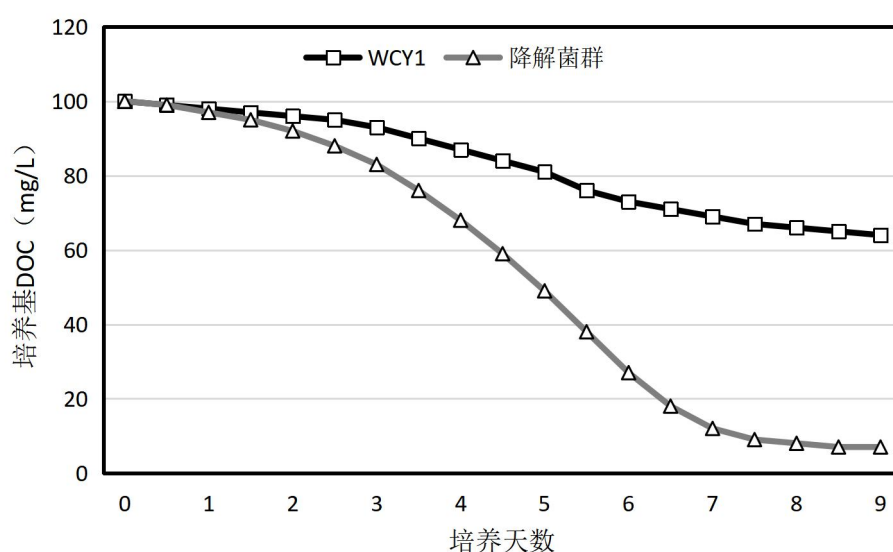


图 7. 菲降解菌株和菌群的菲降解能力

7) 研究者前期是在好氧条件下筛选的菲降解菌群，但在污染土壤深处存在厌氧环境。因此研究者又尝试了在厌氧条件下富集菲降解菌群，发现在有硫酸盐和无硫酸盐情况下富集的菌群结构差异较大。无硫酸盐时菲降解产生较多可燃性气体，有硫酸盐时菲降解产生较多不可燃气体，请写出两种情况下可能发生的化学反应方程式。