



# PHÂN LẬP MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN PHÂN HỦY DIBENZOFURAN TỪ ĐẤT NHIỄM DIOXIN Ở A LƯỚI, THỪA THIÊN HUẾ

Dương Đức Hoàng Sinh<sup>1</sup>, Trần Vũ Ngọc Thi<sup>1</sup>, Lê Thị Hà Thanh<sup>1</sup>, Phạm Thị Ngọc Lan<sup>1</sup>,  
Nguyễn Hoàng Lộc<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Huy<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Viện nghiên cứu Hoạt chất sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế,  
77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

<sup>2</sup> Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, Phú Thượng, Phú Vang,  
Thừa Thiên Huế, Việt Nam

**Tóm tắt.** Nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập một số chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy dibenzofuran, một dẫn xuất của dioxin, từ đất nhiễm dioxin ở A Lưới, Thừa Thiên Huế. Các mẫu đất được thu nhận từ 5 địa điểm khác nhau trên nền sân bay Aso cũ. Từ các mẫu đất đã thu được 3 chủng vi sinh vật sinh trưởng và phát triển mạnh trên môi trường tối thiếu bổ sung dibenzofuran làm nguồn carbon. Phân tích trình tự 16S rDNA của các chủng phân lập được cho thấy chúng tương đồng cao với *Enterobacter cloacae* (99%), *Staphylococcus* sp. (99%) và *Achromobacter* sp. (100%). Vì thế, chúng được đặt tên là *Enterobacter cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5 và *Achromobacter* sp. DF6. Các dữ liệu trình tự nucleotide đã được đăng ký trên GenBank với mã số lần lượt là MG774409, MG774408 và MG774410.

**Từ khóa:** *Achromobacter* sp. DF6, dibenzofuran, dioxin, *Enterobacter cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5

## 1 Đặt vấn đề

Dioxin là một nhóm các hợp chất hữu cơ vòng thơm chứa gốc chlorine gồm dibenzo-*p*-dioxin, dibenzofuran và coplanar biphenyl. Những nghiên cứu trước đây cho thấy dioxin có độc tính mạnh đối với sức khỏe con người, gây ra các triệu chứng như đột biến, ung thư và mất sớm ở trẻ em [6, 13]. Dioxin có chu kỳ tự phân hủy dài và thuộc nhóm gây ô nhiễm nghiêm trọng đến môi trường. Trong các dẫn xuất của dioxin thì 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD) chứa đa gốc chlorine có độc tính mạnh nhất, còn các dẫn xuất như dibenzo-*p*-dioxin đơn chlorine và dibenzofuran đơn chlorine có độc lực thấp hơn [17]. Dioxin có thể được xử lý bằng phương pháp hóa lý như nung nhiệt độ cao, quang phân hủy, sử dụng các hợp chất có hoạt tính thủy phân và khử mạnh. Tuy nhiên, việc ứng dụng các phương pháp trên thực tế vẫn còn nhiều thách thức [6].

\* Liên hệ: [ndhuy@gmail.com](mailto:ndhuy@gmail.com)

Gần đây, phương pháp xử lý sinh học bằng thực vật, vi khuẩn và vi nấm được đề xuất và nhận được nhiều quan tâm của các nhà nghiên cứu trên thế giới do khả năng phân hủy mạnh cấu trúc dioxin và các hợp chất tương tự dioxin, qua đó loại bỏ độc tính của chúng [3, 6, 16, 18]. Nhiều vi sinh vật đất được thông báo có khả năng phân hủy dioxin như *Janibacter terrae* [11], *Comamonas* sp. [10], *Sphingomonas* sp. [1, 2], *Pseudomonas* sp. [7, 9], *Ralstonia* sp. [20] và *Burkholderia* sp. [1, 15].

Bài báo này trình bày kết quả phân lập các chủng vi khuẩn từ mẫu đất nhiễm dioxin ở sân bay Aso (cũ), huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế có khả năng sinh trưởng và phát triển trên môi trường tối thiểu chứa dibenzofuran. Kết quả nghiên cứu là cơ sở quan trọng cho việc ứng dụng các chủng vi khuẩn đất có khả năng phân hủy các dẫn xuất dioxin cũng như làm nguồn vật liệu cho các nghiên cứu về sinh học phân tử sau này.

## 2 Nguyên liệu và phương pháp

### 2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu nghiên cứu là các mẫu đất thu thập ở độ sâu 30 cm tại 5 địa điểm khác nhau ở sân bay Aso trước đây (16°13'38,3"N; 107°16'03,5"E; 16°13'38,7"N; 107°16'03,6"E; 16°13'39,0"N; 107°16'04,3"E; 16°13'39,2"N; 107°16'03,7"E; và 16°13'38,7"N; 107°16'04,3"E) thuộc huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế. Các thí nghiệm được tiến hành tại Viện nghiên cứu Hoạt chất sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

### 2.2 Phương pháp

#### Phân lập và sàng lọc các chủng vi khuẩn phân hủy dibenzofuran

Các chủng vi sinh vật phân hủy dibenzofuran được phân lập theo mô tả của Hong và cs. với một vài điều chỉnh [6]. Hai trăm gram đất được chuyển vào 5 mL môi trường khoáng tối thiểu MSM (3,5 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 1 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,5 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 0,1 g/L  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,05 g/L  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  + 1% dung dịch vi lượng (2,2 g/L  $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,1 g/L  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0,03 g/L  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  + 0,03 g/L  $\text{H}_3\text{BO}_3$  + 0,2 g/L  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,03 g/L  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 0,02 g/L  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,03 g/L  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); pH 7,25) có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran (Sigma, Mỹ) làm nguồn carbon và được nuôi cấy ở 30 °C với tốc độ lắc 185 vòng/phút trong 7 ngày. Sau đó, 100 µL dịch nuôi được cấy chuyển sang môi trường MSM mới có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran và nuôi cấy ở cùng điều kiện như trên. Quá trình nuôi cấy được lặp lại ba lần. Sau khi kết thúc nuôi cấy lần ba, 100 µL dịch huyền phù được trải trên môi trường MSM rắn có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran trên bề mặt đĩa và nuôi ở 30 °C trong 7 ngày. Các khuẩn lạc xuất hiện trên bề mặt môi trường được cấy chuyển vào môi trường MSM lỏng mới có bổ sung dibenzofuran ở nồng độ như trước đây và nuôi trong cùng điều kiện như các thí nghiệm phân lập và sàng lọc để xây dựng đường cong sinh trưởng, đồng thời vào môi trường LB lỏng (1% tryptone + 0,5% dịch chiết nấm men + 1% NaCl) và giữ ở -80 °C để lưu trữ mẫu.

### Xây dựng đường cong sinh trưởng

Đường cong sinh trưởng của các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy dibenzofuran được khảo sát trong bình tam giác loại 100 mL chứa 20 mL môi trường và nuôi trong 7 ngày như đã đề cập ở trên. Một mili lít dịch nuôi được thu mỗi ngày để xác định mật độ tế bào (OD600) trên máy quang phổ UV-vis (Thermo Scientific, Mỹ). OD600 = 1 tương đương  $2 \times 10^8$  CFU [12].

### Tách chiết DNA tổng số

Chủng vi khuẩn có khả năng phân giải dibenzofuran được nuôi cấy trên 5 mL môi trường LB lỏng qua đêm ở 30 °C với tốc độ lắc 180 vòng/phút. Sinh khối tế bào được thu hồi bằng ly tâm 10.000 vòng/phút trong 5 phút. DNA tổng số của chủng vi khuẩn được tách chiết bằng PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và điện di kiểm tra trên gel agarose 1% với thuốc nhuộm RedSafe™ (iNtRon, Hàn Quốc).

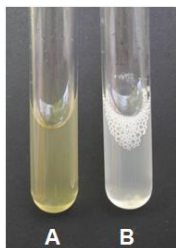
### Định danh vi khuẩn bằng phân tích trình tự 16S rDNA

Trình tự 16S rDNA của vi khuẩn được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi đa năng 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') [5]. Trình tự nucleotide vùng 16S rDNA được so sánh với dữ liệu trình tự nucleotide trên Ngân hàng gen thế giới (GenBank, Mỹ). Cây phát sinh loài dựa trên so sánh trình tự 16S rDNA được xây dựng bằng phần mềm Mega7 [14].

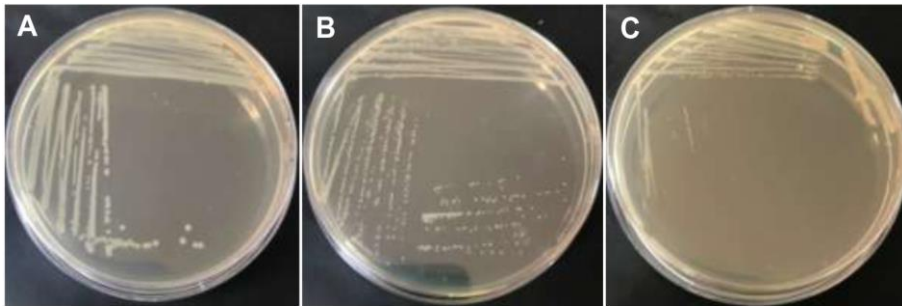
## 3 Kết quả

### 3.1 Phân lập và sàng lọc các chủng vi khuẩn phân hủy dibenzofuran

Mẫu đất được ủ với môi trường tối thiểu có bổ sung dibenzofuran làm nguồn carbon và cấy chuyển 3 lần để sàng lọc. Kết quả ở Hình 1 cho thấy ống nghiệm chứa mẫu đất trên môi trường MSM bổ sung dibenzofuran có màu vàng trong khi mẫu nuôi cấy đối chứng có màu trắng đục. Các ống nghiệm có dịch nuôi cấy màu vàng đặc trưng chứng tỏ có sự chuyển hóa dibenzofuran thành các chất trung gian làm dịch nuôi cấy chuyển sang màu vàng [9].



**Hình 1.** Màu sắc dịch nuôi cấy ở lần thứ 3 sau 7 ngày. A: môi trường MSM có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran; B: đối chứng không bổ sung dibenzofuran

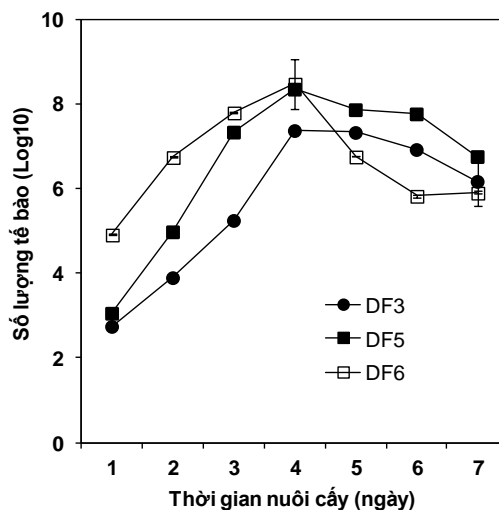


**Hình 2.** Hình thái khuẩn lạc của 3 chủng vi khuẩn trên đĩa thạch chứa môi trường MSM có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran A: chủng vi khuẩn DF3; B: chủng vi khuẩn DF5; C: chủng vi khuẩn DF6

Kết quả nuôi cấy trên đĩa thạch cho thấy khuẩn lạc có số lượng lớn khoảng gần 200 khuẩn lạc/đĩa. Tuy nhiên, phần lớn các khuẩn lạc có hình thái tương tự và có thể chia thành 3 nhóm chính theo đường kính: nhóm ~ 1 mm có hình tròn, bờ viền trơn và màu trắng (ký hiệu DF3, Hình 2A); nhóm < 0,5 mm có bề mặt trơn và màu trắng đục (DF5, Hình 2B); và 0,5 mm < nhóm < 1 mm có bề mặt trơn và màu vàng (DF6, Hình 2C).

### 3.2 Đường cong sinh trưởng các chủng vi khuẩn phân lập

Đường cong sinh trưởng của 3 chủng vi khuẩn DF3, DF5 và DF6 trên môi trường MSM có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran được trình bày ở Hình 3. Nhìn chung, cả 3 chủng đều đạt sinh khối tế bào cực đại sau khoảng 4 ngày nuôi cấy với mật độ dao động từ  $\log_{10} = 7,3$  đến  $\log_{10} = 8,5$  CFU/mL. Kết quả này chứng tỏ các chủng vi khuẩn nói trên đã sinh trưởng mạnh trên môi trường có dẫn xuất của dioxin là dibenzofuran, vì vậy đây là các chủng có nhiều tiềm năng ứng dụng sau này.

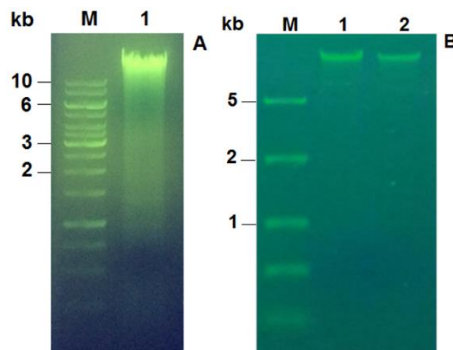


**Hình 3.** Đường cong sinh trưởng của 3 chủng vi khuẩn DF3, DF5 và DF6 trên môi trường MSM có bổ sung 0,5 mM dibenzofuran

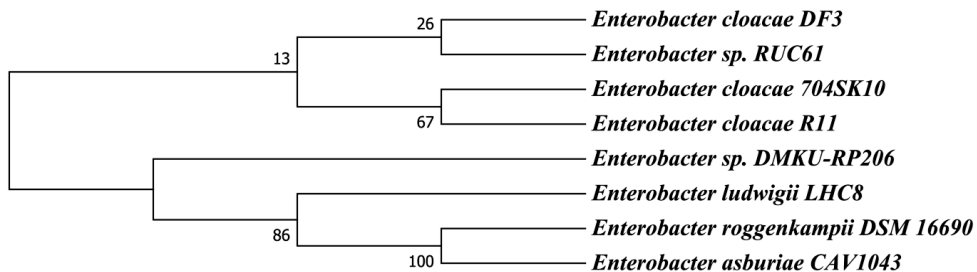
### 3.3 Định danh phân tử các chủng vi sinh vật

DNA tổng số từ 3 chủng vi khuẩn DF3, DF5 và DF6 được tách chiết và kiểm tra trên gel agarose 1% (Hình 4). Kết quả cho thấy chúng có chất lượng tốt không bị đứt gãy và lẫn RNA tổng số; hàm lượng DNA khá cao khoảng 60 ng/μL. Nhìn chung, DNA tổng số đảm bảo chất lượng cho khuếch đại PCR các trình tự 16S rDNA.

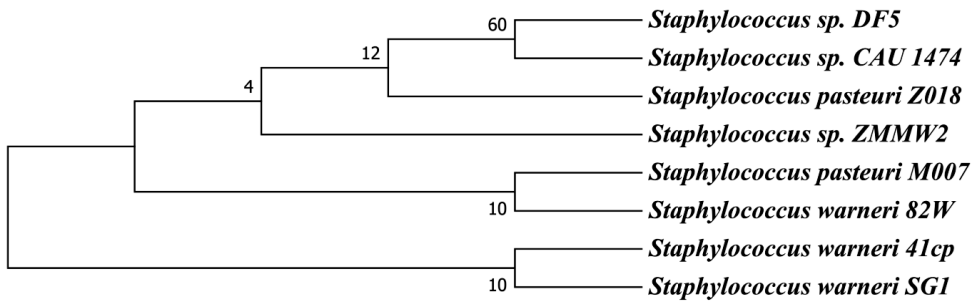
Trình tự nucleotide đoạn 16S rDNA của 3 chủng vi khuẩn DF3, DF5 và DF6 sau khi xác định chính xác bằng kỹ thuật giải trình tự nucleotide được đăng ký trên GenBank với mã số tương ứng là MG774409, MG774408 và MG774410. So sánh dữ liệu ở GenBank cho thấy trình tự 16S rDNA của chủng DF3 tương đồng 99% với chủng *Enterobacter cloacae* 704SK10 (CP022148) và *E. cloacae* R11 (CP019839) nên chủng này được đặt tên là *E. cloacae* DF3 (Hình 5). Trình tự 16S rDNA của chủng DF5 tương đồng 99% với chủng *Staphylococcus* sp. ZMMW2 (MH263650), 99% với chủng *S. pasteurii* M007 (MG255966) và 99% với chủng *Staphylococcus* sp. CAU1474 (MG460587), do đó chúng được đặt tên là *Staphylococcus* sp. DF5 (Hình 6). Tương tự, trình tự 16S rDNA của chủng DF6 tương đồng 100% với chủng *Achromobacter ruhlandii* SCCH3:ACH 33-1365 (CP017433) và cũng tương đồng 100% với chủng *A. xylooxidans* TTB1 (KU708865) và chủng *Achromobacter* sp. GKA-1 (EU520399) nên chúng được đặt tên là *Achromobacter* sp. DF6 (Hình 7).



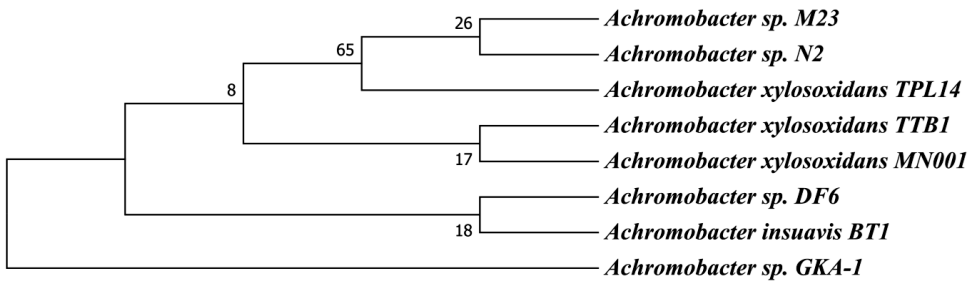
**Hình 4.** Hình ảnh điện di DNA tổng số của 3 chủng vi khuẩn trên agarose gel 0,8% Đường 1A: DF3, đường 1B: DF5, và đường 2B: DF6. M: các thang chuẩn kích thước DNA (hình A: thang 1kb chuẩn (Thermo Scientific, Mỹ), hình B: thang 5kb chuẩn (Thermo Scientific, Mỹ))



**Hình 5.** Cây phả hệ của chủng DF3 với các chủng vi khuẩn tương tự từ cơ sở dữ liệu của GenBank



Hình 6. Cây phả hệ của chủng DF5 với các chủng vi khuẩn tương tự từ cơ sở dữ liệu của GenBank



Hình 7. Cây phả hệ của chủng DF6 với các chủng vi khuẩn tương tự từ cơ sở dữ liệu của GenBank

Nghiên cứu cộng đồng vi sinh vật phân lập từ đất nhiễm dioxin ở sân bay Đà Nẵng bằng cách so sánh trình tự 16S rDNA, Nguyễn Bá Hữu và cs. cho thấy chúng thuộc 8 họ bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroides*, *Sphingobacteria* và *Bacilli* [8]. Phùng Khắc Huy Chú và cs. cũng đã phân lập được 5 chủng vi khuẩn khác nhau từ đất nhiễm dioxin ở phía Tây Nam sân bay Biên Hòa [4]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ngoài các chủng *Burkholderia cepacia* DF2 và DF4 [19], đất nhiễm dioxin ở sân bay Aso còn có 3 chủng vi khuẩn khác là *E. cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5, *Achromobacter* sp. DF6.

#### 4 Kết luận

Đã phân lập được 3 chủng vi khuẩn có hình thái khác nhau sinh trưởng trên môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung dibenzofuran từ đất nhiễm dioxin ở sân bay Aso cũ. Định danh phân tử bằng kỹ thuật giải trình tự 16S rDNA cho thấy chúng tương đồng cao với *Enterobacter*, *Staphylococcus* và *Achromobacter*. Trên cơ sở đó, các chủng này được đặt tên lần lượt là *E. cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5, và *Achromobacter* sp. DF6.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này nhận được tài trợ của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Thừa Thiên Huế qua đề tài khoa học và công nghệ cấp tỉnh (Mã số THH.2016-KC.03).

## Tài liệu tham khảo

1. Arfmann H., Timmis K. N., Wittich R. (1997), Mineralization of 4-chlorodibenzofuran by a consortium consisting of *Sphingomonas* sp. strain RW1 and *Burkholderia* sp. strain JWS. *Applied and Environmental Microbiology* 63(9): 3458–3462.
2. Chai B., Tsoi T. V., Iwai S., Liu C., Fish J. A., Gu C., Johnson T. A., Zylstra G., Teppen B. J., Li H., Hashsham S. A., Boyd S. A., Cole J. R., Tiedje J. M. (2016), *Sphingomonas wittichii* strain RW1 genome-wide gene expression shifts in response to dioxins and clay. *PloS One* 11(6): e0157008.
3. Chang Y. S. (2008), Recent developments in microbial biotransformation and biodegradation of dioxins. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 15(2–3): 152–171.
4. Phùng Khắc Huy Chú, Đào Thị Ngọc Ánh, Lê Việt Hưng, Đinh Thị Thu Hằng, Đặng Thị Cẩm Hà (2012), Phân lập, phân loại chủng vi khuẩn BHNA1 và xác định gene *tfdA* mã hóa cho enzyme phân hủy 2,4-d từ đất nhiễm chất diệt cỏ/dioxin thuộc khu vực Tây Nam sân bay Biên Hòa. *Tạp chí Độc học* 21: 3–11.
5. Fredriksson N. J., Hermansson M., Wilén B. M. (2013), The choice of PCR primers has great impact on assessments of bacterial community diversity and dynamics in a wastewater treatment plant. *PLoS One* 8(10): e76431.
6. Hiraishi A. (2003), Biodiversity of dioxin-degrading microorganisms and potential utilization in bioremediation. *Microbes Environ* 18(3): 105–205.
7. Hong H. B., Nam I. H., Murugesan K., Kim Y. M., Chang Y. S. (2004), Biodegradation of dibenzo-p-dioxin, dibenzofuran, and chlorodibenzo-p-dioxins by *Pseudomonas veronii* PH-03. *Biodegradation* 15(5): 303–313.
8. Nguyễn Bá Hữu và Đặng Thị Cẩm Hà (2008), Nghiên cứu sự biến động cấu trúc của tập đoàn vi sinh vật trong quá trình xử lý đất bị nhiễm chất diệt cỏ chứa đi-ô-xin ở quy mô hiện trường bằng công nghệ phân hủy sinh học. *Tạp chí Công nghệ sinh học* 30(1): 55–61.
9. Jaiswal P. K., Kohli S., Gopal M., Thakur I. S. (2011), Isolation and characterization of alkalotolerant *Pseudomonas* sp. strain ISTDF1 for degradation of dibenzofuran. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 38(4): 503–511.
10. Ji X., Xu J., Ning S., Li N., Tan L., Shi S. (2017), Cometabolic degradation of dibenzofuran and dibenzothiophene by a naphthalene-degrading *Comamonas* sp. JB. *Current Microbiology* 74(12): 1411–1416.
11. Jin S., Zhu T., Xu X., Xu Y. (2006), Biodegradation of dibenzofuran by *Janibacter terrae* strain XJ-1. *Current Microbiology* 53(1): 30–36.
12. Kim D. J., Chung S. G., Lee S. H., Choi J. W. (2012), Relation of microbial biomass to counting units for *Pseudomonas aeruginosa*. *Afr J Microbiol Res* 6(21): 4620–4622.
13. Kishida M., Imamura K., Takenaka N., Maeda Y., Viet P. H., Kondo A., Bandow H. (2010), Characteristics of the abundance of polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in sediment samples from selected Asian regions in Can Gio, Southern Vietnam and Osaka, Japan. *Chemosphere* 78(2): 127–133.
14. Kumar S., Stecher G., Tamura K. (2016), MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33(7): 1870–1874.
15. L'Abbee J. B., Barriault D., Sylvestre M. (2005), Metabolism of dibenzofuran and dibenzo-p-dioxin by the biphenyl dioxygenase of *Burkholderia xenovorans* LB400 and *Comamonas testosteroni* B-356. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67(4): 506–514.

16. Lopez-Echartea E., Macek T., Demnerova K., Uhlik O. (2016), Bacterial biotransformation of pentachlorophenol and micropollutants formed during its production process. *Int J Environ Res Public Health* 13(11): E1146.
17. Nojiri H., Omori T. (2002), Molecular bases of aerobic bacterial degradation of dioxins: involvement of angular dioxygenation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 66(10): 2001–2016.
18. Rodenburg L. A., Krumins V., Curran J. C. (2015), Microbial dechlorination of polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins, and -furans at the Portland Harbor Superfund site, Oregon, USA. *Environmental Science & Technology* 49(12): 7227–7235.
19. Thi TVN, Sinh DDH, Thanh LTH, Huy ND, Shintani M, Kimbara K, Loc NH (2018) Cloning, expression and characterization of catechol 1,2-dioxygenase from *Burkholderia cepacia*. *Biotechnologia* (đăng in).
20. Wesche J., Hammer E., Becher D., Burchhardt G., Schauer F. (2005), The bphC gene-encoded 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase is involved in complete degradation of dibenzofuran by the biphenyl-degrading bacterium *Ralstonia* sp. SBUG 290. *Journal of Applied Microbiology* 98(3): 635–645.

## ISOLATION OF SOME BACTERIAL STRAINS FROM DIOXIN-CONTAMINATED SOIL IN A LUOI, THUA THIEN HUE

**Duong Duc Hoang Sinh<sup>1</sup>, Tran Vu Ngoc Thi<sup>1</sup>, Le Thi Ha Thanh<sup>1</sup>, Phạm Thị Ngọc Lan<sup>1</sup>,  
Nguyen Hoang Loc<sup>1</sup>, Nguyen Duc Huy<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Bioactive Compounds, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue, Hue, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Hue University, Phu Thuong, Phu Vang, Thua Thien Hue, Vietnam

**Abstract.** This study presents the results of the isolation of some bacterial strains that are able to degrade dibenzofuran, a dioxin derivative, from the dioxin-contaminated soil in A Luoi district, Thua Thien Hue province. Soil samples were collected at 5 different sites of the old Aso airbase. Three bacteria strains were found to grow well on the basal minimal medium supplemented with dibenzofuran as a carbon source. The analysis of 16S rDNA sequences of the isolates showed that they were highly similar to *Enterobacter cloacae* (99%), *Staphylococcus* sp. (99%) and *Achromobacter* sp. (100%). Thus, they were named as *Enterobacter cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5, and *Achromobacter* sp. DF6. The nucleotide sequence data were registered on the GenBank with accession numbers of MG774409, MG774408, and MG774410, respectively.

**Keywords:** *Achromobacter* sp. DF6, dibenzofuran, dioxin, *Enterobacter cloacae* DF3, *Staphylococcus* sp. DF5