

网络出版时间:2012-07-18 10:10

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120718.1010.006.html

1 株高氯·马拉硫磷降解菌的分离鉴定及培养

邓振山¹, 南 婧¹, 张海州², 李 军³, 韦革宏⁴

(1 延安大学 生命科学学院, 陕西 延安 716000; 2 陕西省延长油田生物工程有限公司, 陕西 安塞 717400;

3 延安市微生物研究所, 陕西 延安 716000; 4 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 【目的】分离能够降解高氯·马拉硫磷的菌株, 并对其降解特性进行初步研究, 以探寻高氯·马拉硫磷无公害降解方法。【方法】利用富集及驯化培养方法, 从长期施用并受高氯·马拉硫磷严重污染的土壤中, 分离筛选出 1 株能够高效降解高氯·马拉硫磷的菌株; 在形态特征和生理生化鉴定的基础上, 对其 16S rDNA 序列进行分析, 并研究了其对高氯·马拉硫磷的降解特性和最佳摇床培养条件。【结果】获得了 1 株能以高氯·马拉硫磷作为惟一碳源和氮源生长的菌株, 经形态特征观察、生理生化特性鉴定和 16S rDNA 序列分析, 初步鉴定其属于假单胞菌属; 系统发育树显示, 该菌株与荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的相似性最高, 为 99.79%, 因此确定其为荧光假单胞菌。该菌株最佳摇床培养条件为: 培养基初始 pH 值 8.0, 摇床转速 180 r/min, 培养时间 24 h, 培养温度 30 ℃。在此培养条件下, 培养 2 d 的菌株对 500 mg/L 高氯·马拉硫磷的降解率达到 67%。【结论】分离菌株对高氯·马拉硫磷有明显的降解作用, 可试用于高氯·马拉硫磷污染土壤的微生物修复。

[关键词] 高氯·马拉硫磷; 荧光假单胞菌; 降解; 培养条件优化

[中图分类号] X592

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)08-0179-06

Isolation, identification of a beta-cypermethrin malathion degrading bacterium and optimization of its cultural conditions

DENG Zhen-shan¹, NAN Jing¹, ZHANG Hai-zhou², LI Jun³, WEI Ge-hong⁴

(1 Life-science Department, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China;

2 Bioengineering Co., LTD. of Yanchang Oilfield, Ansai, Shaanxi 717400, China;

3 Yan'an Institute of Microbiology, Yan'an, Shaanxi 716000, China;

4 College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The study was done to obtain beta-cypermethrin malathion degrading strains, investigate the degradation effect, and explore the non-pollution control methods. 【Method】A strain was isolated from pesticide polluted soil with a long-term application of beta-cypermethrin malathion by the method of enrichment and domestication. The traditional morphology, physiological and chemical characteristics and 16S rDNA gene sequence analysis were applied to the bacteria classification. Moreover, the characteristics of degrading beta-cypermethrin malathion and the optimum shaker cultivation conditions were also studied. 【Result】It can grow by using beta-cypermethrin malathion as the sole source of carbon and nitrogen, the strain was identified by morphology performance, physiological and chemical characteristics and phylogenetic analysis, the strain was identified preliminarily as the *Pseudomonas*; phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of the strain had the highest sequence identity with *P. fluorescens*

* [收稿日期] 2011-12-29

[基金项目] 陕西省科技统筹创新工程项目(2012KTCG02-02)

[作者简介] 邓振山(1969—), 男, 陕西黄陵人, 讲师, 博士, 主要从事植物病害综合防治和环境微生物研究。

E-mail: zhenshandeng214@yahoo.com.cn

(99.79%)。Based on 16S rDNA sequence analysis as well as physiological and biochemical property, this strain was identified as *P. fluorescens*. Further investigation indicated that the optimum shaker cultivation conditions obtained were initial pH 8.0, shaker revolution 180 r/min, culture time 24 h and culture temperature 30 °C. Under the optimum the shaker cultivation conditions, the strain could degrade 67% beta-cypermethrin malathion (500 mg/L) within 2 days. 【Conclusion】 It can be seen this bacterium has a striking effect on degradation of beta-cypermethrin malathion. The research provides theoretical basis for utilizing microbial remediation the beta-cypermethrin malathion contaminated soil and the best way to resolve herbicide residues.

Key words: beta-cypermethrin malathion; *Pseudomonas fluorescens*; degradation; optimization of cultural conditions

高氯·马拉硫磷乳油是用高效氯氰菊酯(Beta-cypermethrin)和马拉硫磷(Malathio)复配而成的一种广谱、高效的有机磷杀虫剂,主要以触杀和胃毒方式发挥作用,其杀虫谱广、药效好而迅速,对光热稳定,因此目前在大棚蔬菜生产过程中被大量使用,由此导致其所造成的残留问题也非常普遍和严重。有机磷农药大多为神经毒素,其可通过抑制神经钠通道或乙酰胆碱酯酶,对人等非靶标生物产生直接或间接的毒性效应。因此,如何有效地降低高氯·马拉硫磷的毒性和残留带来的危害,成为人们亟待解决的问题。

微生物修复在降解及消除农药残留方面具有安全、高效等特点,是治理农药环境污染的有效生物修复途径。目前,关于有机磷农药的降解有物理法、化学法及生物降解法,而生物降解由于安全、环保成为首选途径。研究表明,微生物对土壤中残留农药的降解起着十分重要的作用,所以利用生态系统中微生物代谢类型的多样性、生化适应能力的超强性以及能迅速产生相应酶系的应急性,来快速降解各类人工合成的农药,使其完全矿化成无机物,是目前最有潜力和最有效的方法之一^[1-7]。迄今为止,人们对于高氯·马拉硫磷微生物降解菌的研究较少。因此,分离筛选能够高效降解高氯·马拉硫磷的微生物,对消除农药污染和净化环境具有重要的现实意义。

本研究通过富集和驯化培养方法,从陕北延安地区蔬菜基地的 1 块长期施用高氯·马拉硫磷的菜园土壤中,获得了 1 株以高氯·马拉硫磷为惟一碳源和氮源的高效代谢菌株,对其进行了菌种鉴定,并探讨其降解特性和最佳摇床培养条件,以期遭受高氯·马拉硫磷污染土壤的微生物修复和高效解决大棚蔬菜生产过程中的农药残留问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土样 供试土壤采自陕西省延安市宝塔区枣园镇蔬菜生产基地的 1 个长期施用高氯·马拉硫磷的菜园内,采用 5 点采样法随机取 0~20 cm 土层的土样,装入灭菌纸袋内于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.1.2 供试农药及培养基 高氯·马拉硫磷(纯度 92%)购自青岛凯信化工有限公司。富集培养基、LB 培养基和基础培养基组成见文献[7]。

1.2 降解菌株的富集与筛选

取长期施用高氯·马拉硫磷的土样 5.00 g,置于 100 mL 含 50 mg/L 高氯·马拉硫磷的富集培养基中,于 30 °C、180 r/min 摇床富集培养 7 d,然后每 7 d 以体积分数 1% 的接种量转接到相同的培养基中,连续富集转接 3 次,并逐步提高高氯·马拉硫磷的质量浓度。当富集培养液中高氯·马拉硫磷的质量浓度达到 500 mg/L 后,取 $10^{-5} \sim 10^{-8}$ 稀释度的富集培养液 0.5 mL,涂布于以高氯·马拉硫磷为惟一碳、氮源的基础培养基固体平板上,30 °C 下培养 3~4 d,待长出菌落后,挑取生长速度较快、菌落大而形态不一的菌落,再划线分离,挑选典型的单菌落,反复纯化,直到菌落表面的颜色、质地等形态特征完全一致,然后置于 4 °C 冰箱中保存备用^[5-10]。

1.3 降解菌株的鉴定

1.3.1 形态特征及生理生化鉴定 按照文献[11]的方法,对分离的降解菌进行鉴定。

1.3.2 16S rDNA 序列鉴定 用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株的基因组,并以其为模板,进行 16S rDNA 的扩增。所用引物为 16S rDNA 通用引物,其中正向引物为 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'),反向引物为 1492R (5'-GGCTACCTTGTTACGACTT-3')。50 μ L 反应体系为:Re-

action Buffer (10×) 5.0 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 3.0 μL, dNTPs (25 mmol/L) 4.0 μL, 上、下游引物 (150 μmol/L) 各 1.0 μL, Taq 酶 (5 U/μL) 0.25 μL, 模板 2.0 μL, 补重蒸去离子水至 50.0 μL。PCR 扩增反应条件为: 95 ℃ 4 min; 94 ℃ 1 min, 54 ℃ 1 min, 72 ℃ 2 min, 32 个循环; 72 ℃ 延伸 7 min。扩增序列与 pMD18-T vector (TaKaRa) 连接后, 转化至大肠杆菌 DH5α 中, 筛选白色阳性克隆, 委托上海生物工程技术服务有限公司进行双向测序, 并用该公司提供的软件 Chrosmas 进行拼接。根据测序结果, 将扩增得到的序列在 GenBank 中进行 BLAST

表 1 分离菌株摇床培养条件的正交试验

Table 1 Orthogonal experimental design of shaker cultivation conditions

水平 Level	初始 pH Initial pH A	摇床转速/(r·min ⁻¹) Shaking speed B	培养时间/h Culture time C	培养温度/℃ Culture temperature D
1	6.0	140	24	25
2	7.0	160	48	30
3	8.0	180	72	35

1.5 菌株生长量与降解率的测定

取纯化好的菌株, 接种于 50 mL LB 液体培养基中, 于 30 ℃ 下 200 r/min 摇床培养 24~36 h 后, 将菌液离心, 用无菌水洗涤 2 次, 再加入无菌水, 测定 OD_{600 nm}, 当 OD_{600 nm} ≈ 2.00 时, 将其作为种子液, 并按体积分数 2% 的接种量接种于含 500 mg/L 高氯·马拉硫磷的基础培养基中, 于 30 ℃ 下 180 r/min 摇床培养 22 h, 每 2 h 测定 1 次菌株的生长量和高氯·马拉硫磷的残余质量浓度, 并计算菌株对高氯·马拉硫磷的降解率, 以不接菌处理作为空白对照。菌株生长量以 OD_{600 nm} 值表示^[9]; 利用高效液相色谱仪 (HPLC) 测定高氯·马拉硫磷的残余质量浓度, 计算其降解率^[9]:

高氯·马拉硫磷降解率 = (空白对照组高氯·马拉硫磷质量浓度 - 试验组高氯·马拉硫磷质量浓度) / 空白对照组高氯·马拉硫磷质量浓度 × 100%。

2 结果与分析

2.1 高氯·马拉硫磷降解菌株的分离

在长期使用高氯·马拉硫磷的菜园土壤中, 经富集驯化、筛选分离得到多株可以高效降解高氯·马拉硫磷的菌株, 并从中筛选出 1 株降解能力较强且能以高氯·马拉硫磷为惟一碳、氮源的菌株。

2.2 降解菌株的鉴定

2.2.1 形态特征及生理生化鉴定 1) 形态特征。降解菌株经培养, 所产生的菌落大小不一, 呈扁平

分析, 用 DNAMAN 6.0.40 进行序列相似性分析, 通过 Clustal-X 1.81 和 TREECONW version 1.3b 软件包, 以 Neighbor-joining 方法构建系统发育树, 用 Bootstrap (1 000 次重复) 进行检验。

1.4 菌株摇床培养条件的优化

在基础培养基上, 分别以培养基初始 pH、转速、培养时间和培养温度为考察因素, 各因素设 3 个水平, 设计 L₉ (3)⁴ 正交试验 (表 1), 进行菌株的摇床培养条件优化, 以筛选出降解高氯·马拉硫磷的最佳条件。

状, 圆形, 边缘不整齐, 能产生绿色或黄褐色的荧光色素; 革兰氏染色呈阴性, 短杆菌, 两端钝圆。透射电子显微镜观察发现, 该菌株有 6 根极生鞭毛, 能运动, 无荚膜, 大小为 (4.2~5.8) μm × (0.5~3.0) μm (图 1)。



图 1 高氯·马拉硫磷降解菌株的透射电镜观察 (示极生鞭毛, ×8 000)

Fig. 1 Transmission electron micrograph of a beta-cypermethrin malathion degrading bacterium (Showing flagellum, ×8 000)

2) 生理生化特性。该菌株可氧化葡萄糖产酸, 无胞外淀粉酶活性, 氧化酶阳性, 过氧化氢酶阳性, V.P. 反应阳性, 吡噪反应阴性, 其他生理生化特性测定结果详见表 2。该菌株最低生长温度 4 ℃, 最适生长温度 28 ℃, 最高生长温度 40 ℃。依据伯杰氏细菌鉴定手册^[11], 初步鉴定其属于假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)。

表 2 高氯·马拉硫磷降解菌株的生理生化特征测定结果

Table 2 The results of physiological and chemical characteristics of the degradation strain

试验项目 Test items	结果 Result	试验项目 Test items	结果 Result
革兰氏染色 Gram stain	—	麦芽糖 Maltose	+
形状 Cell shape	杆状 Rod	D-甘露糖 D-Mannose	+
孢子 Endospores	—	D-果糖 D-Fructose	+
运动性 Motility	+	乳糖 Lactose	+
过氧化氢酶 Catalase	+	肌糖 Inositol	+
色素 Pigmentation	+	蔗糖 Sucrose	+
脲酶 Urease	—	D-木糖 D-Xylose	+
L-阿拉伯糖 L-Arabinose	+	甲基红试验 M. R. test	+
D-甘露糖 D-Galactose	+	V. P. 试验 V. P. test	+

注：+，表示阳性或存在；—，表示阴性或不存在。
Note: +. Denotes positive or present; —. Denotes negative or absent.

2.2.2 16S rDNA 序列鉴定 该菌株 16S rDNA 序列的 PCR 扩增结果表明,扩增产物长度为 1 428 bp (图 2)。其在 GenBank 中的登录号为 GU201849。相似性比对结果表明,该菌株的 16S rDNA 序列与荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的相似性最高,达 99.79%。目前,细菌分类学家的共识是,当某 2 个细菌的 16S rRNA 的相似性大于 95%时,可将其归为同一属^[7]。

将分离所得菌株的 16S rDNA 序列与 GenBank 中其他相关菌种的 16S rDNA 序列进行比对,构建系统发育树,结果见图 3。由图 3 可以看出,该菌株与荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)在同一分支上。结合形态学特征和生理生化特性鉴定结果,可以确定该菌株属于假单胞菌属的荧光假单胞菌。

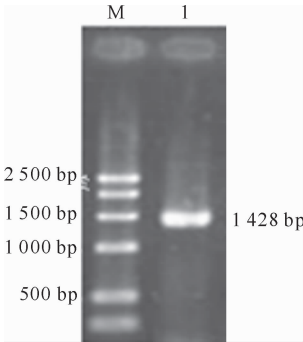


图 2 高氯·马拉硫磷降解菌株 16S rDNA 序列的 PCR 扩增结果

M. 标样;I. 16S rDNA 序列的 PCR 扩增片段

Fig. 2 The results of 16S rDNA gene amplified from the degrading strain of beta-cypermethrin malathion degrading

M. Marker; I. Segment of 16S rDNA

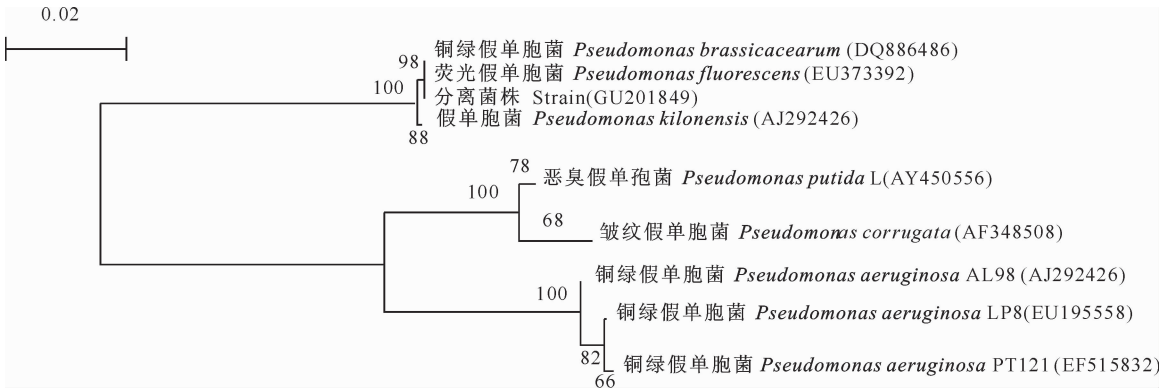


图 3 邻接法构建的菌株 16S rDNA 序列的系统发育进化树
系统发育树分支上的数值表示可信度,标尺表示分支距离

Fig. 3 Phylogenetic tree generated by the neighbor-joining method based on 16S rDNA sequences of selected strains
Bootstrap values (1 000 replicates) are indicated above the branches. Strain obtained are labeled in bold. Bar:0.02 sequence divergence

2.3 菌株摇床培养条件的优化

由表 3 和表 4 可知,各因素对菌株降解高氯·马拉硫磷的影响大小依次是 A>C>B>D,且初始

pH 可极显著($P<0.01$)影响其降解效果,而其他 3 个因素的影响均不显著($P>0.05$)。从表 3 还可以看出,该菌株摇床培养的最佳条件为 A3B3C1D2,即

初始 pH8.0,摇床转速 180 r/min,培养时间 24 h,培养温度 30 ℃。

表 3 分离菌株摇床培养条件的正交试验结果

Table 3 Orthogonal test result of shaker cultivation conditions on the isolated strains					
试验编号 Test number	初始 pH Initial pH A	摇床转速/(r·min ⁻¹) Shaking speed B	培养时间/h Culture time C	培养温度/℃ Culture temperature D	降解率/% Degradation rate
1	1	1	1	1	15.6
2	1	2	2	2	15.0
3	1	3	3	3	3.9
4	2	1	2	3	12.3
5	2	2	3	1	3.7
6	2	3	1	2	31.4
7	3	1	3	2	34.9
8	3	2	1	3	37.0
9	3	3	2	1	33.1
K ₁	0.070	0.209	0.280	0.175	
K ₂	0.158	0.141	0.156	0.226	
K ₃	0.350	0.228	0.142	0.177	
R	0.280	0.087	0.138	0.051	

表 4 分离菌株摇床培养条件正交试验结果的方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal experiment design of shaker cultivation conditions on the isolated strains					
因素 Factors	平方和 SS	自由度 df	F 值 F value	F 临界值 Critical value	显著性 Significance
初始 pH Initial pH	0.123	2	24.600	19.000	显著 Significance
摇床转速 Shaking speed	0.013	2	2.600	19.000	不显著 Not significance
培养时间 Culture time	0.035	2	7.000	19.000	不显著 Not significance
培养温度 Culture temperature	0.005	2	1.000	19.000	不显著 Not significance

2.4 菌株生长与其对高氯·马拉硫磷降解率的关系

图 4 显示,该菌株能够有效降解高氯·马拉硫磷,菌株生长量的增多与其对高氯·马拉硫磷的降解率总体呈正相关。

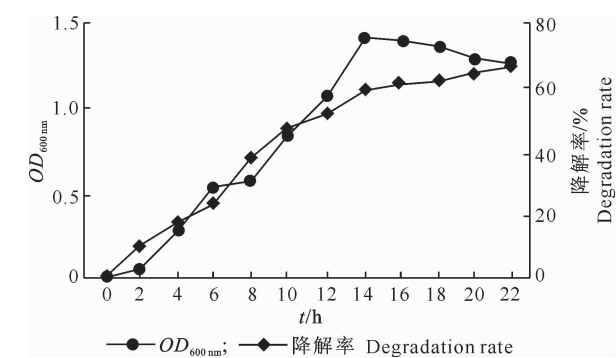


图 4 菌株生长与其对高氯·马拉硫磷降解率的关系

Fig. 4 Relationship between the growth of strain and its ability to remove beta-cypermethrin malathion

由图 4 可知,菌体在最初的 2 h 内虽然生长缓慢,但高氯·马拉硫磷已被迅速降解;经过一段时间的诱导及耐受过程,菌株会利用高氯·马拉硫磷为碳源和能源进行快速生长,4 h 后菌株进入对数生长期,生长迅速,对高氯·马拉硫磷的降解速率亦逐

渐升高;14 h 后菌株进入生长稳定期,菌体生长量保持平稳,这一阶段降解速率也逐渐变慢;18 h 后菌株进入生长衰退期,菌体活细胞减少;到 22 h 时,菌株对高氯·马拉硫磷的降解率达到最大值,不再变化。推断可能是在降解后期产生了相关的代谢产物,反馈性地抑制了菌株对高氯·马拉硫磷的降解。

经测定,该菌株 2 d 内对 500 mg/L 高氯·马拉硫磷的降解率达 67%,表明其对高氯·马拉硫磷有高效的降解作用。

3 结论与讨论

本研究首次从陕北延安地区蔬菜基地长期施用高氯·马拉硫磷的菜园土壤中分离获得 1 株细菌,该菌能以高氯·马拉硫磷作为惟一碳、氮源生长,对其具有较高的降解率,在初始 pH 为 8.0、摇床转速 180 r/min、培养时间 24 h、培养温度 30 ℃的条件下,其在 2 d 内对质量浓度为 500 mg/L 高氯·马拉硫磷的降解率达 67%。李超等^[7]从长期施用噻嗪酮的稻田土壤中分离到 1 株能够降解噻嗪酮的细菌,在接种量为 2%的条件下,7 d 内对 50 mg/L 噻嗪酮的降解率为 68.2%,本研究结果与该结果基本一致。与其他文献的研究结果^[5-8]相比,本研究所获分离菌的降解速度更快。若要将本研究分离的菌株

应用于实际工程中,还应考虑影响降解率的各种环境条件,以加快其降解速度,发挥最佳效益。

依据 16S rDNA 同源性序列分析结果,结合形态特征、生理生化特性等特征分析,本研究所分离菌株被鉴定为荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)。目前,分离的高氯·马拉硫磷降解菌多属于假单胞菌属、节杆菌属、黄杆菌属和根瘤菌属^[12-15],且以革兰氏阴性菌(G⁻菌)居多,它们借助外壁层脂多糖的保护,可以免受有机磷农药的毒害,是土壤中的优势菌,这对于环境保护有重要意义,具有较大的实际应用前景。

本研究中菌株的降解结果是在实验室条件下测得的,基于农药在自然环境中复杂的物理、化学及生物学反应,其实际降解情况及降解高氯·马拉硫磷的代谢途径和机理,还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 张青,周国强. 农药对我国农产品污染的现状及控制对策[J]. 洛阳大学学报,2007,22(2):46-49.
Zhang Q,Zhou G Q. Status quo and control measures of China's agricultural pesticide pollution [J]. Journal of Luoyang University,2007,22(2):46-49. (in Chinese)

[2] Rani N L,Lalithakumari D. Degradation of methylparathion by *Pseudomonas putida* [J]. Can J Microbiol,1994,40(11):1000-1006.

[3] 高仙灵,卢慧星,李国婧,等. 有机磷生物修复研究进展[J]. 中国生物工程杂志,2007,27(3):127-131.
Gao X L,Lu H X,Li G J,et al. Progress of bioremediation of organophosphate [J]. China Biotechnology,2007,27(3):127-131. (in Chinese)

[4] 戴青华,张瑞福,蒋建东,等. 一株三唑磷降解菌 mp-4 的分离鉴定及降解特性的研究[J]. 土壤学报,2005,42(1):111-112.
Dai Q H,Zhang R F,Jiang J D,et al. Isolation, identification and characterization of triazophos degrading bacterium mp-4 [J]. Acta Pedologica Sinica,2005,42(1):111-112. (in Chinese)

[5] 于彩虹,张显涛,宋英男,等. 2 株乙酰甲胺磷降解菌的分离鉴定及降解特性研究[J]. 环境工程学报,2010,4(11):2623-2630.
Yu C H,Zhang X T,Song Y N,et al. Isolation, identification and degradation characteristics of two acephate degrading bacteria [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering,2010,4(11):2623-2630. (in Chinese)

[6] 尚轶,沈慧敏,杨顺义,等. 草甘膦降解菌的分离及其降解效能研究[J]. 湖北农业科学,2011,50(9):1770-1772.
Shang Y,Shen H M,Yang S Y,et al. Screening and isolation of bacteria degrading herbicide glyphosate and its degradation efficiency [J]. Hubei Agricultural Sciences,2011,50(9):1770-1772. (in Chinese)

[7] 李超,潘荣清,唐超西,等. 噻嗪酮降解菌 BF3 的分离、鉴定及降解特性[J]. 中国环境科学,2011,31(6):965-970.
Li C,Pan R Q,Tang C X,et al. Isolation,identification and characterization of a buprofezin-degrading bacterium BF3 [J]. China Environmental Science,2011,31(6):965-970. (in Chinese)

[8] 华菊玲,邱星辉,黄瑞荣,等. 甲基对硫磷降解菌 P-29 的筛选及降解特性研究[J]. 江西农业学报,2007,19(2):66-67.
Hua J L,Qiu X H,Huang R R,et al. Screening of MP degrading enzyme strain and characteristic of MP degradation [J]. Acta Agriculturae Jiangxi,2007,19(2):66-67. (in Chinese)

[9] 解秀平,同艳春,刘萍萍,等. 甲基对硫磷彻底降解菌 X4 的分离、降解性及系统发育研究[J]. 微生物学报,2006,46(6):979-983.
Xie X P,Yan Y C,Liu P P,et al. Isolation,degradation and phylogenetic analysis of methylparathion degradative strain X4 [J]. Acta Microbiologica Sinica,2006,46(6):979-983. (in Chinese)

[10] 林秀,侯振安,赵思峰,等. 一株多菌灵高效降解菌的分离鉴定及特性[J]. 生态学杂志,2011,30(7):1479-1483.
Lin X,Hou Z A,Zhao S F,et al. A high efficient carbendazim-degrading bacterial strain: Its isolation and identification [J]. Chinese Journal of Ecology,2011,30(7):1479-1483. (in Chinese)

[11] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京:科学出版社,2004.
Buchanan R E,Gibson N E. Bergey's manual of systematic bacteriology [M]. 8th edition. Beijing: Science Press,2004.

[12] 张婵,廖晓兰. 有机磷农药的微生物降解技术研究进展[J]. 广西农业科学,2010,41(10):1079-1082.
Zhang C,Liao X L. Research progress on technologies for microbial degradation of organophosphorus pesticide [J]. Journal of Southern Agriculture,2010,41(10):1079-1082. (in Chinese)

[13] 何霞,白红娟. 微生物降解有机磷农药残留的研究进展[J]. 山西化工,2011,31(4):27-29.
He X,Bai H J. A review on microbial degradation of residues of organophosphorus pesticide [J]. Shanxi Chemical Industry,2011,31(4):27-29. (in Chinese)

[14] 张金花,刘亚光,任金平,等. 环境中有机磷农药降解方法的研究进展[J]. 吉林农业科学,2009,31(4):37-40.
Zhang J H,Liu Y G,Ren J P,et al. Progress of studies on degradation of organic phosphorus pesticides in the environment [J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences,2009,31(4):37-40. (in Chinese)

[15] 吴松青,彭艳,黄张敏,等. 有机磷农药的微生物修复回顾与前景展望[J]. 中国农学通报,2008,24(5):343-346.
Wu S Q,Peng Y,Huang Z M,et al. Progress in the studies on application of organic phosphorus microbial remediation [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2008,24(5):343-346. (in Chinese)