

# 耐盐性毒死蜱降解菌 HY-1 的产酶培养基及 发酵条件优化

段海明<sup>1</sup> 王开运<sup>1\*</sup> 于彩虹<sup>2</sup>

(1. 山东农业大学植物保护学院 山东 泰安 271018)

(2. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院 北京 100083)

**摘要:** 为了明确生化处理和微生物降解的关系,通过增加耐盐菌的比例可以提高农药废水生化处理效果。从农药厂废水中分离到 1 株耐盐性毒死蜱降解菌——蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus* HY-1),以从该菌中提取到的降解酶比活力为指标,进行产酶培养基和发酵条件的优化研究。通过单一因素试验和正交试验,对细菌 HY-1 的产酶培养基和发酵条件进行了优化。运用 SPSS 软件进行结果分析,所获优化培养基配方为:葡萄糖 6.0 g/L,胰蛋白胨 2.2 g/L,  $K_2HPO_4$  2.0 g/L,  $KH_2PO_4$  0.2 g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1 g/L, NaCl 0.1 g/L 和微量元素溶液 2 mL/L。得到菌株发酵培养的最佳优化条件为:种子液培养时间为 16 h,发酵培养时间为 18 h,接种量为 1% (V/V),发酵培养基初始 pH 值为 7.0。氯化钠浓度为 0–30 g/L 时降解酶比活力不受影响,这是已报道的耐盐性最强的一株毒死蜱降解菌。

**关键词:** 毒死蜱, 降解酶, 培养基, 发酵条件优化, 耐盐菌

## Optimized culture medium and fermentation conditions for enzyme production by the salt-tolerant chlorpyrifos-degrading bacterium HY-1

DUAN Hai-Ming<sup>1</sup> WANG Kai-Yun<sup>1\*</sup> YU Cai-Hong<sup>2</sup>

(1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

(2. School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China)

**Abstract:** In order to improve the treatment effect of wastewater from pesticide enterprise, it is necessary to study the salt-tolerant characteristics and fermentation conditions of the degrading bacterium. A chlorpyrifos-degrading bacterium *Bacillus cereus* HY-1 was isolated in laboratory from pesticide

wastewater. The optimal fermentation medium and fermentation conditions of HY-1 were selected by single factor and orthogonal test, and the amount of enzyme produced by HY-1 was estimated based on the specific activity of the enzyme. The experimental results were analyzed by the SPSS system. The optimal composition of the culture medium included glucose 6.0 g/L, tryptone 2.2 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/L, NaCl 0.1 g/L, trace elements solution 2 mL/L. The optimal fermentation conditions of HY-1 were that incubation time of the seed culture was 16 h, fermentation time was 18 h, inoculum amount was 1% ( $V/V$ ), initial pH 7.0. The specific activity of the degrading enzyme was not affected while the sodium chloride concentration of the fermentation medium increased from 0 g/L to 30 g/L. To the best of our knowledge, this is the most extremely salt-tolerant bacterium reported that could degrade chlorpyrifos.

**Keywords:** Chlorpyrifos, Degrading enzyme, Culture medium, Fermentation condition optimization, Salt-tolerant bacterium

毒死蜱为高效、广谱、中等毒性的有机磷杀虫、杀螨剂,广泛用于粮棉、果树和蔬菜等作物防治多种害虫和害螨,也可用于防治家畜体外的寄生虫<sup>[1]</sup>。由于其作为替代 5 种高毒农药的骨干品种之一,高效价廉,使用方便,现已成为我国规模化生产的大吨位骨干品种<sup>[2]</sup>。但是,毒死蜱作为一种异源有毒物质,再加上其较高的土壤吸附性和在水体中较长的半衰期<sup>[3]</sup>,在环境中的残留也势必会逐渐增多,因此,其对环境造成的污染不容忽视。据报道,毒死蜱不仅会严重破坏农业生态环境,影响到食品安全和农产品出口创汇,更有甚者会造成人畜中毒等事故<sup>[4]</sup>。因此,如何寻求一种高效降解毒死蜱的方法已成为人们关注的热点。

微生物是影响有机磷农药在环境中降解的最主要因素,也被认为是降解有机磷农药最可靠、最高效的途径<sup>[5]</sup>。因农药工业废水中含较高的盐分,给生物降解造成了很大难度,传统的处理方法通常为稀释后再生物降解、反渗透、离子交换等方法,但使用这些方法的成本都较高,而且占用大量空间,因此开发出耐盐性高的降解菌株,具有重要的实践意义<sup>[6]</sup>。如果能筛选到耐盐性降解菌,通过增加耐盐菌的比例,可大大提高农药废水的生化处理效果。农药降解菌之所以能够降解农药,归根结底是由其分泌的酶来完成的,但是有关耐盐性毒死蜱降解菌株的产酶特性却鲜有报道。关于降解菌株营养源的筛选(碳源、氮源、无机盐、微量元素等)和发酵条件

的优化是功能菌株发酵中最为重要的工作,本试验对实验室前期筛选到的能够降解毒死蜱的菌株——蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus* HY-1)进行了胞内降解酶的提取,开展了降解菌的培养基和发酵条件优化研究,以期降解菌剂的大规模生产和农药废水处理提供技术支持,研究结果亦对阐明该菌对毒死蜱的生物降解机制及指导其生物修复具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种与培养基

**1.1.1 供试菌种:** 以本实验室分离纯化到的一株蜡状芽孢杆菌为研究对象,在 GenBank 上的登录号为 eu915687。

**1.1.2 供试药品:** 毒死蜱 (95.9%原药): 山东华阳集团提供; 石油醚: 分析纯, 天津凯通化学试剂有限公司。

**1.1.3 培养基:** 基础培养基:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g, NaCl 0.5 g, 去离子水 1 L, pH 7.0。

普通培养基: 牛肉浸膏 3.0 g, 胰蛋白胨 5.0 g, 酵母膏 1.0 g, 氯化钠 5.0 g, 去离子水 1 L, pH 7.0, 可加入 1.5%的琼脂条制成固体培养基用于菌株的平板培养。

种子液培养基: 胰蛋白胨 5.0 g, 酵母膏 5.0 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0 g, 去离子水 1 L, pH 7.0。

微量元素溶液: EDTA 2.5 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g,

ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5.0 g, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1.0 g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.4 g, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O 0.2 g, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.25 g, 蒸馏水 1 L。

## 1.2 降解菌的培养

无菌条件下将菌株 HY-1 接种到普通培养基平板上, 在 33 °C 培养 72 h。取两接菌环于 100 mL 种子液培养基中, 在 33 °C 下摇床(转速为 170 r/min 培养 16 h, 将培养好的菌株利用低温冷冻离心机在 15 °C、8 000 r/min 下离心 5 min, 收集菌体, 在 pH 为 6.8 的 0.04 mol/L 磷酸盐缓冲液(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)中洗涤 3 次, 然后用灭菌的蒸馏水重悬菌体, 调整 OD<sub>600</sub>=2.0, 然后按 2% 的接菌量转接到 100 mL 液体发酵培养基中, 170 r/min 摇培 18 h。

## 1.3 降解酶的提取

将培养好的菌株利用低温冷冻离心机在 15 °C、8 000 r/min 离心 10 min, 收集菌体, 将菌体用 pH 为 6.8 的 0.04 mol/L 磷酸盐缓冲液(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)洗涤 3 次, 再以 8 000 r/min 的速度离心 10 min; 将菌体 1:5 (将 2 g 菌体悬浮于 10 mL 磷酸盐缓冲液中) 悬浮于一定量的上述磷酸盐缓冲液中, 置于冰浴中用超声波细胞粉碎机处理 10×1 min, 功率为 280 W, 频率为破碎 5 s、间隔 5 s, 以 10 000 r/min 离心 10 min, 除去细胞碎片得降解酶粗酶液。

## 1.4 毒死蜱降解酶促反应体系的建立

取 3 mL 含 50 mg/L 毒死蜱的 0.04 mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲液, 在 28 °C 水浴中预热 10 min, 然后加入预热的粗酶液 1.0 mL 反应 1 h, 用 0.5 mL (1.0 mol/L) HCl 溶液终止酶反应, 每个处理重复 3 次, 以不加酶液为对照。计算降解酶比活力, 以最大的降解酶比活力为 100%, 推算出其它同类条件下的相对酶比活力, 从而得出降解酶的最佳培养基和发酵条件。

## 1.5 测定方法

菌量的测定: 采用紫外-可见分光光度计 (UV-2201, 日本岛津), 于 600 nm 固定波长下测定光密度值。

蛋白质含量测定: 样品中蛋白质含量按 Bradford 法<sup>[7]</sup>进行测定, 以牛血清白蛋白为标准蛋

白, 在 595 nm 下进行比色测定。

毒死蜱残留量测定: 在处理结束之后, 反应液用等体积的石油醚提取 2 次, 合并 2 次提取液后检测。利用毒死蜱在 λ=290 nm<sup>[8]</sup>左右处有紫外特征吸收峰的特性, 进一步通过紫外分光光度计扫描确定在 λ=292 nm 处测定样品的 OD<sub>292</sub>, 根据标准曲线计算样品中毒死蜱的含量, 从而计算出毒死蜱的去除量。

$$X = \frac{a}{b \cdot c} \quad (1)$$

式中, X: 降解酶比活力[μmol/(mg·min)]; a: 毒死蜱的去除量(μmol); b: 蛋白质的质量(mg); c: 反应时间(min)。

## 1.6 降解菌产酶培养基的优化

**1.6.1 碳源种类的选择:** 选取的碳源种类依次为葡萄糖、麦芽糖、可溶性淀粉、蔗糖和乳糖, 用基础培养基溶解。设置葡萄糖浓度为 10 g/L (以葡萄糖的含碳量为标准, 分别计算出其它碳源所需的质量)。在选择最佳碳源时, 选择酵母膏为氮源, 浓度设为 3 g/L。

**1.6.2 碳源浓度的选择:** 得出最佳碳源后, 改变碳源浓度分别为 2、4、6、8 和 10 g/L, 其余培养条件不变, 得出较适宜的碳源浓度。

**1.6.3 氮源种类的选择:** 选取的氮源种类依次为胰蛋白胨、酵母膏、牛肉浸膏、脲素、硝酸钾、硫酸铵和硝酸铵, 用基础培养基溶解。设置酵母膏的浓度为 3 g/L (酵母膏的含氮量为 7.2%, 其它氮源以此含氮量为标准, 分别计算出所需的质量)。在选择最佳氮源时, 碳源采用已得出的适宜的碳源和浓度, 其余培养条件不变, 得出较适宜的氮源。

**1.6.4 氮源浓度的选择:** 得出最佳的氮源后, 改变氮源浓度为 0.4、1.0、1.6、2.2 和 2.8 g/L, 其它培养条件不变, 得出较适宜的氮源浓度。

**1.6.5 无机盐的选择:** 在最佳碳、氮源确定后, 选用 4 种不同的无机盐进行发酵试验, 考察无机盐对降解酶比活力的影响。各浓度设定见表 1, 采用 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 的正交试验设计表进行适宜无机盐组合的筛选, 其它培养条件不变。每个处理重复 4 次。

表1 因子与水平的设置  
Table 1 Arrangement of factors and levels

水平 Level	因素 Factors			
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/L)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g/L)	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (g/L)	NaCl (g/L)
1	1.0	0.1	0.10	0.05
2	1.2	0.2	0.15	0.10
3	1.6	0.4	0.20	0.15
4	2.0	0.6	0.25	0.20

**1.6.6 微量元素溶液浓度的选择:** 向培养液中加入不同体积的微量元素溶液, 使其终浓度为 0.25、0.5、1.0、2.0 和 4.0 mL/L。比较在不同浓度的微量元素溶液条件下降解酶的比活力, 得到最适宜的微量元素溶液浓度。每个处理重复 3 次。

## 1.7 菌株发酵条件的优化

**1.7.1 种子液培养时间的选择:** 种子液培养时间分别为 10、12、14、16 和 18 h。其它发酵培养条件不变。以酶的最大比活力为 100%, 计算出相对酶比活力, 得到最佳种子液培养时间。每个处理重复 3 次。

**1.7.2 最佳发酵培养时间的选择:** 将种子液按 2% 的接种量转接于 100 mL 发酵培养基中, 分别摇瓶发酵 12、15、18、21 和 24 h, 其它培养条件不变。比较不同发酵时间对降解酶比活力的影响, 以酶的最大比活力为 100%, 计算出相对酶比活力, 得到最佳摇瓶培养时间。每个处理设 3 个重复。

**1.7.3 发酵培养基初始 pH 值的选择:** 以 1 mol/L 盐酸或氢氧化钠溶液调节培养基的初始 pH 值梯度为 5.0、6.0、7.0、8.0 和 9.0, 其它培养条件不变。比较培养液不同初始 pH 值对降解酶比活力的影响, 以酶的最大比活力为 100%, 计算出相对酶比活力, 得到培养液较适初始 pH 值。每个处理设 3 个重复。

**1.7.4 接种量的选择:** 以 0.5%、1%、2%、4% 和 6% (V/V) 的接种量把调整 OD<sub>600</sub>=2.0 的菌悬液转接到发酵培养基中, 其它培养条件不变。比较不同接种量对酶比活力的影响, 以酶的最大比活力为 100%, 计算出相对酶比活力, 得到最佳接种量。每个处理设 3 个重复。

**1.7.5 高盐对降解酶比活力的影响:** 设置 0、20、30、50 和 70 g/L 5 个 NaCl 浓度, 其它条件为上述经优化

后的条件, 比较不同 NaCl 浓度对酶比活力的影响, 以酶的最大比活力为 100%, 计算出相对酶比活力, 得到高盐对酶比活力的影响, 每个处理设 3 个重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳源及其浓度的选择

碳源是菌体合成自身骨架的主要物质来源, 是影响菌体细胞生长和代谢产物合成的关键因素, 而且不同种类的碳源决定了产酶的量 and 种类<sup>[9]</sup>。当选取的 5 种碳源含碳量相同时, 葡萄糖为产酶最适碳源, 其次为麦芽糖、可溶性淀粉、蔗糖和乳糖, 可以看出单糖比多糖更容易促使菌体产酶。由图 1 可见, 当浓度为 6.0 g/L 的葡萄糖作为碳源时, 降解酶比活力最高, 过高或过低的葡萄糖浓度都不利于降解酶的产生。这是由于糖浓度过低不能提供足够的物质来源和能源; 而糖浓度过高一方面会引起发酵液中渗透压过高, 使细胞失水, 生长受到抑制, 另一方面糖浓度过高会使代谢产生的葡萄糖酸增加, 发酵液 pH 值降低, 不利于降解酶的产生。因此, 6.0 g/L 的葡萄糖为最佳浓度的碳源。

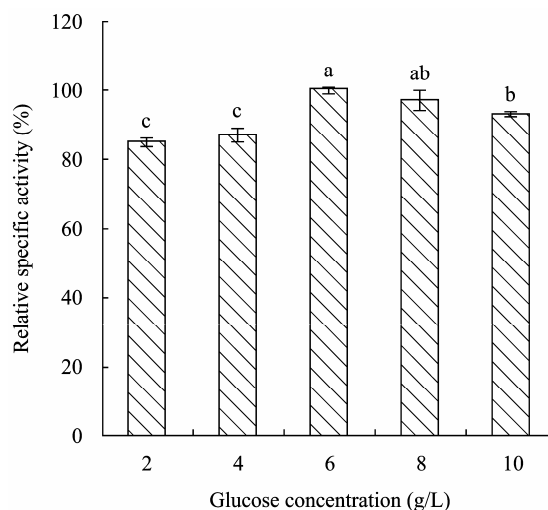


图1 葡萄糖浓度对酶比活力的影响

**Fig. 1 Effect of glucose concentration on the specific activity**  
注: 数据之间的显著性差异用 Duncan 检验, 同一柱状图(折线图)上标的字母不同表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 字母相同表示处理间差异不显著 ( $P > 0.05$ ). 下同。

Note: Data in the graph were tested by Duncan's test. Data that in the graph followed by the same letters was not significantly different at 0.05 level. The same as below.

## 2.2 不同氮源及其浓度的选择

固定葡萄糖浓度为 6 g/L, 考察不同氮源种类对降解酶比活力的影响。当所选氮源的含氮量相同时, 胰蛋白胨为其最适氮源, 这可能与胰蛋白胨在合成菌体蛋白时比较容易被利用有关, 其与 Marlida 等的报道相一致<sup>[10]</sup>。其它氮源的降解酶比活力依次为牛肉膏、酵母膏、脲素、硝酸钾、硫酸铵和硝酸铵。可以看出, 有机氮源更有利于菌株产酶, 菌株利用脲素产酶的能力处于有机氮源和无机氮源之间, 而张利<sup>[11]</sup>研究的毒死蜱降解菌-哈夫尼菌属 (*Hafnia* sp.) 利用有机氮源和无机氮源的能力相当, 这可能为菌株的差异所致。由图 2 可见, 不同胰蛋白胨浓度对降解酶比活力影响较大, 当胰蛋白胨的浓度较低时, 降解酶的比活力较低, 说明低浓度的氮源对产酶不利。随着胰蛋白胨浓度的升高, 酶的比活力也随之增加。当胰蛋白胨浓度达到 2.2 g/L, 降解酶比活力达到最大 ( $P<0.05$ )。

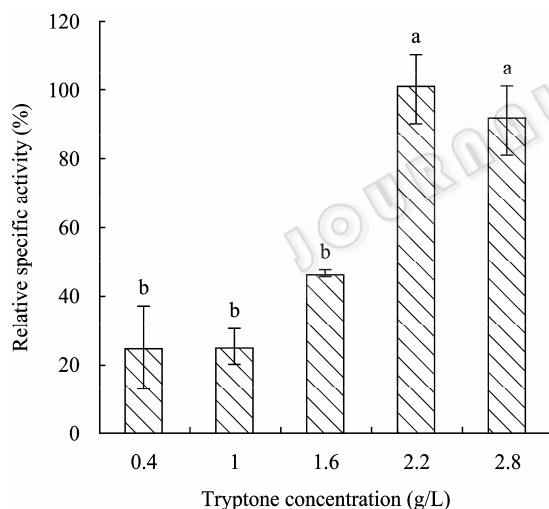


图 2 不同胰蛋白胨浓度对酶比活力的影响

Fig. 2 Effect of tryptone concentration on the specific activity

## 2.3 不同无机盐对降解酶比活力的影响

无机盐既是微生物生长的必需物质, 又是维持溶液渗透压的物质, 另一方面也是某些酶的辅酶或激活剂, 并对膜的通透性和其他生命活动有重要作用。不同无机盐对降解酶比活力影响的正交试验结果, 经 SPSS13.0 数据分析软件方差分析结果表明:

$K_2HPO_4$  ( $F=2.186$ ,  $df=3$ ,  $P=0.269$ )、 $KH_2PO_4$  ( $F=1.485$ ,  $df=3$ ,  $P=0.377$ )、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ( $F=5.322$ ,  $df=3$ ,  $p=0.102$ ) 和  $NaCl$  ( $F=0.468$ ,  $df=3$ ,  $P=0.726$ ) 对降解酶比活力的影响都没有达到显著水平, 但是影响次序依次为  $MgSO_4 \cdot 7H_2O > K_2HPO_4 > KH_2PO_4 > NaCl$ 。降解酶比活力最高的组合为:  $K_2HPO_4$  2.0 g/L,  $KH_2PO_4$  0.2 g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1 g/L 和  $NaCl$  0.1 g/L。

## 2.4 微量元素浓度的选择

当微量元素溶液在培养液中的浓度为 2.0 mL/L 时, 降解酶的比活力达最高。这可能是因为微量元素作为生长因子, 随着其浓度的升高能够提高降解酶的产量。当微量元素溶液浓度达到 4.0 mL/L 时, 降解酶比活力有所下降, 这是因为高浓度的微量元素对细菌有毒害作用, 抑制了产酶。

## 2.5 种子液培养时间的选择

当种子液培养时间在 14 h 以内时, 降解酶比活力增长缓慢, 比活力较低, 当达到 16 h 时, 降解酶比活力达到最大。这说明, 种子液的培养时间会导致菌龄的差异性, 而菌龄对发酵培养及产物形成非常重要, 菌龄太短的菌体接种后往往出现前期生长缓慢, 整个发酵周期延长, 降解酶开始形成时间推迟; 过老的菌体接种后会导致酶生产能力的下降, 菌体过早自溶等。因此, 确定种子液的培养时间为 16 h。

## 2.6 发酵时间的选择

由图 3 可知, 在培养 12 h 时, 酶比活力较低, 随着培养时间的延长, 降解酶比活力逐渐升高, 在 18 h 时达到最高值, 其后随发酵时间的延长, 降解酶的比活力开始迅速下降, 24 h 时下降到最大比活力的 1/4。这说明, 菌株的发酵培养时间对产酶的影响较大, 培养时间过长可造成降解酶的比活力下降 ( $P<0.05$ )。由此可以确定, 最佳发酵培养时间为 18 h。

## 2.7 发酵培养基初始 pH 值的选择

在 pH 为 5 时, 降解酶的比活力较低, 说明菌株不适于在酸性环境中产酶。当培养液初始 pH 为 7 时, 降解酶比活力最高。当 pH 为 6–9 时都有利于降解酶的产生。这说明降解菌的产酶 pH 值较为宽泛, 且最适合于在偏中性环境中产生。

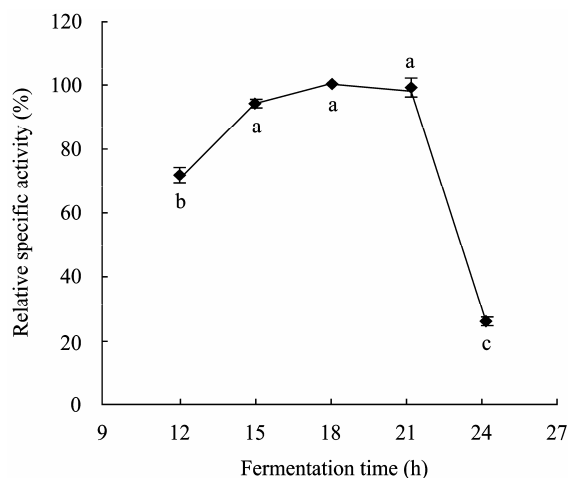


图3 发酵时间对酶比活力的影响

Fig. 3 Effect of fermentation time on the specific activity

## 2.8 接种量的选择

由图4可知,当接种量较低时,培养液能够为菌体提供足够的营养物质,菌体繁殖迅速,但是酶的比活力不高,说明菌体的快速生长可能对降解酶的产生不利。当接种量为1%时降解酶比活力达到最高( $P<0.05$ )。随着接种量的增加菌体数量继续增多,在培养前期,培养液能为菌体生长提供足够的营养物质;但到了培养后期,随着菌种的大量繁殖,培养液所提供的营养物质逐渐被消耗,出现了营养缺陷,细胞之间产生竞争,从而抑制了降解酶的产生,也可能为菌量过大导致发酵液的粘度增大,致使溶氧量降低,也可使菌株的产酶量降低。

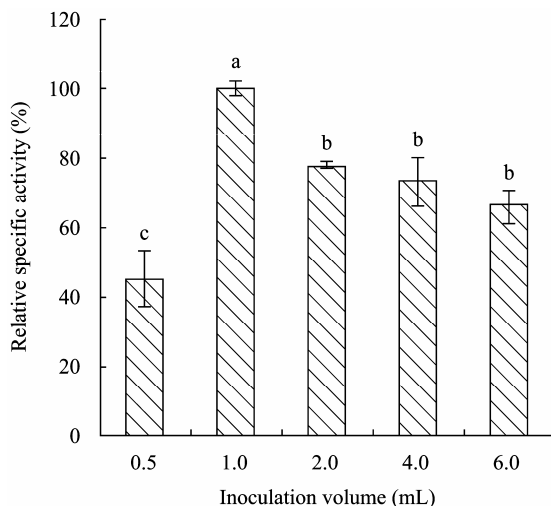


图4 不同接种量对酶比活力的影响

Fig. 4 Effect of inoculation volume on the specific activity

## 2.9 高盐对酶比活力的影响

由图5可见,当氯化钠浓度为20 g/L和30 g/L时,降解酶的比活力和不含盐的相比没有显著性差异( $P<0.05$ )。当氯化钠浓度为50 g/L时,降解酶的比活力下降到最高比活力的2/5。当氯化钠浓度增加到70 g/L时,菌株的生长受到限制,几乎不能检测到降解酶的比活力。这是已报道的耐盐性最强的一株毒死蜱降解菌。

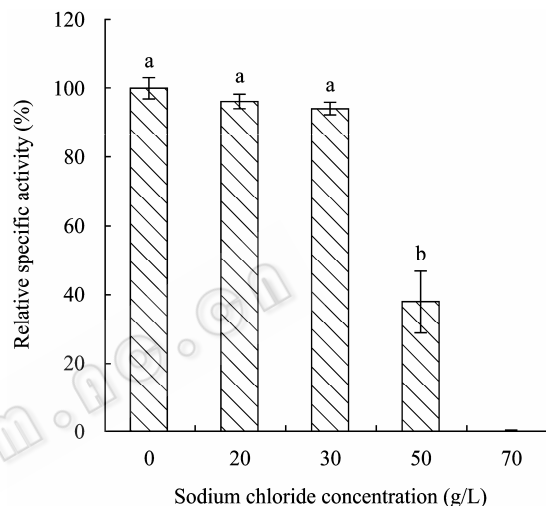


图5 氯化钠浓度对酶比活力的影响

Fig. 5 Effect of the sodium chloride concentration on the specific activity

## 3 讨论

利用生化法处理毒死蜱生产企业排放的废水已成为人们积极探索的途径,因废水中含较高的盐分,给生化处理造成了很大难度<sup>[12]</sup>。到目前为止,国内外已分离出多株能够降解毒死蜱的菌株,如副球菌(*Paracoccus* sp.)、节杆菌(*Arthrobacter* sp.)、哈夫尼菌(*Hafnia* sp.)和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)<sup>[2,8,11,13]</sup>等,已在降解菌的降解特性和降解途径方面进行了大量的研究。但是对耐盐性毒死蜱降解菌株却鲜有报道,关于耐盐性毒死蜱降解菌株的产酶特性的报道更为少见。因此,针对现实环境开发出耐盐性毒死蜱降解菌株显得尤为迫切。

本研究分离到的蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)为革兰氏阳性菌,对不良环境的高度抗性使其在环境治理中具有明显的优势,除个别菌种外,绝大多

数对人畜安全, 具有很强的环境适应性和环境友好性<sup>[14]</sup>。蜡状芽孢杆菌可用于降解或吸附多种有机化合物<sup>[15-16]</sup>。但是有关蜡状芽孢杆菌对毒死蜱的降解研究较少, 其耐盐降解特性的研究更少。本文对耐盐性毒死蜱降解菌的产酶培养基和产酶培养条件作了系统的研究, 得出了优化的培养基配方和最适产酶条件, 研究结果为降解菌的进一步应用开发提供了较好的基础, 尤其对净化高含盐毒死蜱环境污染具有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] 徐汉虹. 植物化学保护学[M]. 第4版. 北京: 中国农业出版社, 2007: 76.
- [2] Xu GM, Zheng W, Li YY, et al. Biodegradation of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by a newly isolated *Paracoccus* sp. strain TRP[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, 62(1): 51-56.
- [3] Liu B, McConnell LL, Torrents A. Hydrolysis of chlorpyrifos in natural waters of the Chesapeake Bay[J]. Chemosphere, 2001, 44(6): 1315-1323.
- [4] Patnaik KK, Tripathy NK. Farm grade chlorpyrifos (Durmec) is genotoxic in somatic and germ line cells of *Drosophila*[J]. Mutation Research, 1992, 279(1): 15-20.
- [5] 柏文琴, 何凤琴, 邱星辉. 有机磷农药生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10(5): 675-680.
- [6] Kargi F, Dincer AR. Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19(7): 529-537.
- [7] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [8] 钱博, 朱鲁生, 谢慧, 等. 毒死蜱降解细菌 XZ-3 的分离及降解特性研究[J]. 环境科学, 2007, 28(12): 2827-2832.
- [9] Gombert AK, Pinto AL, Castilho LR, et al. Lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state fermentation using babassu oil cake as substrate[J]. Process Biochemistry, 1999, 35(1/2): 85-90.
- [10] Marlida Y, Saari N, Hassan Z, et al. Improvement in raw sago starch degrading enzyme production from *Acremonium* sp. endophytic fungus using carbon and nitrogen sources[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2000, 27(7): 511-515.
- [11] 张利, 刘红玉, 曾光明, 等. 一株毒死蜱降解菌的分离鉴定及降解性能研究[J]. 环境工程学报, 2008, 2(10): 1421-1424.
- [12] Margesin R, Schinner F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 56(5/6): 650-663.
- [13] Anwar S, Liaquat F, Khan QM, et al. Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 168(1): 400-405.
- [14] 管珺, 胡永红, 杨文革, 等. 蜡样芽孢杆菌防治植物病虫害的研究进展[J]. 现代农药, 2007, 6(4): 7-10.
- [15] Wang XD, Wang HL, Fan DF. Biodegradation of imazapyr by free cells of *Pseudomonas fluorescens* Biotype II and *Bacillus cereus* isolated from soil[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, 74(2): 350-355.
- [16] 潘建华, 刘瑞霞. 蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 吸附铅的研究[J]. 环境科学, 2004, 25(2): 166-169.