

一株甲基对硫磷降解菌——米曲霉 JMUPMD-2 的分离与鉴定

解顺昌¹ 倪辉¹ 蔡薇¹ 曹樱¹ 李利君¹ 肖安风¹ 黄高凌¹ 杜凤君² 蔡慧农^{1*}

(1. 集美大学 生物工程学院 福建 厦门 361021)

(2. 厦门市出入境检验检疫局 福建 厦门 361026)

摘要: 对一株新分离的、能以甲基对硫磷为唯一磷源生长的菌株——JMUPMD-2 利用形态观察和 rDNA ITS 序列分析对 JMUPMD-2 进行鉴定; 用气相色谱法检测培养过程中甲基对硫磷浓度的变化, 确定甲基对硫磷降解速率。该菌株的 rDNA ITS 序列与米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 的同源性为 99%, 菌落形态和显微形态都与米曲霉特征相符, 因此鉴定为米曲霉; 以 350 $\mu\text{g/L}$ 甲基对硫磷为唯一磷源和 350 $\mu\text{g/L}$ 甲基对硫磷及 1 g/L K_2HPO_4 组成的混合磷源分别培养该菌株, 200 h 后的分解量分别为 189 $\mu\text{g/L}$ 及 28 $\mu\text{g/L}$ 。该菌株的胞内提取液具有明显的甲基对硫磷降解酶活性。

关键词: 甲基对硫磷, 生物降解, ITS 序列, 米曲霉, 菌种鉴定

Isolation and identification of a parathion-methyl degrading fungus-*Aspergillus oryzae* JMUPMD-2

XIE Shun-Chang¹ NI Hui¹ CAI Wei¹ CAO Ying¹ LI Li-Jun¹ XIAO An-Feng¹
HUANG Gao-Ling¹ DU Feng-Jun² CAI Hui-Nong^{1*}

(1. Bio-tech Engineering College, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

(2. Xiamen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen, Fujian 361026, China)

Abstract: A newly isolated fungus JMUPMD-2, capable of growing with parathion-methyl as the sole phosphorus source, was identified based on morphological characteristics and rDNA ITS sequences analysis, and its capability of degrading parathion-methyl was investigated by determining the changes of parathion-methyl concentration in the broth of the isolate. JMUPMD-2's colonic and microscopic morphologies were identical with and its sequences of rDNA ITS was 99% similar to *Aspergillus oryzae*. Consequently, it was identified as *Aspergillus oryzae*. When cultured with an artificial medium containing parathion-methyl as the sole phosphorus or parathion-methyl- K_2HPO_4 mixed phosphorus,

基金项目: 集美大学中青年创新团队专项基金(No. 2008A002)

* 通讯作者: Tel: 86-592-6181764; ✉: chn@jmu.edu.cn

收稿日期: 2010-11-01; 接受日期: 2011-01-18

concentration of parathion-methyl respectively reduced 189 $\mu\text{g/L}$ and 28 $\mu\text{g/L}$ after inoculating for 200 hours. JMUPMD-2's intracellular extract had obvious parathion-methyl degrading enzyme activity.

Keywords: Parathion-methyl, Biodegradation, ITS sequence, *Aspergillus oryzae*, Strain identification

有机磷农药 (Organophosphorus pesticides, OPs) 是当今农药中的主要类别,也是目前我国使用最广泛的一类农药,占全国农药产量的 30%左右^[1],在减少农业虫害、增加农业产量的同时也造成了严重的环境问题^[2],OPs 的污染已成为农业生产环境中最严重的污染源之一。甲基对硫磷 (Parathion-methyl, PM) 是有机磷农药中一种被广泛使用的高效、高毒杀虫剂,对非靶标生物毒性高,具迟发性神经毒性,在土壤和水中的残留期长,不仅造成环境污染问题,还给人类健康带来潜在的威胁。

有多种方法^[3-5]可用于降解农药残留,减少污染,但微生物降解 OPs 被认为是最安全且有效的方法^[6]。获得高效的有机磷农药降解菌株是利用微生物降解机理消除农药污染的前提。虽然国内外对有机磷农药降解菌的筛选及应用进行了大量的研究,但目前有机磷农药降解并没有得到推广运用,其主要原因是菌种的效率还不高,满足不了应用的需求。因此,筛选 PM 降解菌,发现新的有机磷农药降解菌仍然具有重要的意义。

本实验室从集美大学附近土壤里采样,以 PM 为磷源配制培养基,分离获得了一株真菌,实验室编号为 JMUPMD-2,本文利用分子 rDNA ITS 分子序列分析及表观形态方法进行鉴定,检测其降解 PM 的特点,为相关研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 菌株 JMUPMD-2 的分离过程如下: (1) 从集美大学附近受有机磷农药污染的土壤采集样品,称取 10 g 土样接入 100 mL 选择培养基中,30 °C、180 r/min 的摇床上培养 7 d,以 10%接种量转接到新鲜选择培养基中,培养 7 d 后,再次以 10%接种量接种于新鲜选择培养基中,30 °C、180 r/min 的摇床上培养。(2) 取第 3 次富集所得培养液 1 mL,

将适合浓度的稀释液 0.1 mL 涂布于选择性固体培养基上,在 30 °C 恒温培养箱中培养 4-8 d。选择平板上的单菌落进行平板划线分离,并纯化得纯种。

1.1.2 主要试剂: 50%甲基对硫磷乳油购自福建建瓯福农化工有限公司,甲基对硫磷标准品购自农业部环境保护科研检测所。乙酸乙酯(色谱纯)、NaCl (分析纯)、CaSO₄ (分析纯)、FeSO₄·7H₂O (分析纯)、(NH₄)₂SO₄ (分析纯)、MgSO₄·7H₂O (分析纯)、葡萄糖(分析纯)、石英砂(分析纯)等购于国药集团化学试剂有限公司。0.05 mol/L 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液,6 mol/L HCl。酵母基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型) 购自 TIANGEN、DNA 凝胶回收试剂盒 DW02-2、dNTPs、Taq 酶、10×PCR Buffer 均购自广州东盛生物科技有限公司。引物由上海鼎安生物科技有限公司合成。

1.1.3 培养基: 选择性培养基: Glc 10.0 g, NaCl 0.5 g, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, CaSO₄ 0.05 g, FeSO₄·7H₂O 0.018 g, pH 7.2, 添加 1 000 μL 甲基对硫磷乳油,蒸馏水 1 L。查氏培养基: 蔗糖 30 g, NaNO₃ 3.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, KCl 0.5 g, FeSO₄·7H₂O 0.018 g, H₂O 1 L, pH 自然状态。固体培养基: 上述各种液体培养基添加 20 g/L 的琼脂。

1.2 方法

1.2.1 ITS 序列的 PCR 扩增、序列测定和系统发育分析: 用查氏液体培养基培养 JMUPMD-2, 收集对数生长期的菌体,按照酵母基因组 DNA 提取试剂盒说明书所述步骤提取 JMUPMD-2 菌株的基因组总 DNA,并以此为模板用 ITS 的通用引物 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' 和 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 对其进行扩增。20 μL PCR 扩增体系: 超纯水 16.2 μL 、10×PCR buffer 2.0 μL 、dNTPs (2.5 mmol/L) 1.0 μL 、ITS1 (25 $\mu\text{mol/L}$) 0.2 μL 、ITS4 (25 $\mu\text{mol/L}$) 0.2 μL 、DNA 模板 0.2 μL 、Taq 酶 (2.5 U/ μL) 0.2 μL 。PCR 条件: 95 °C 5 min;

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

94 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。回收 PCR 产物交由英俊(Invitrogen)生物公司测序, 测序结果在 GenBank 上进行同源比对。BLAST 搜索 GenBank 数据库中与该序列相似性较高的典型菌株的序列, ClustalX 多序列比对, 用 MEGA 4.1 中的 Neighbor-Joining (NJ)和 Maximum Parsimony (MP)方法构建系统发育树, 用 Bootstrap 对系统树进行统计检验。

1.2.2 形态鉴定: JMUPMD-2 菌株接种于查氏培养平板上, 于 28 °C 恒温培养。6 d 和 12 d 后对菌落形态和显微形态进行观察。

1.2.3 甲基对硫磷的检测: 气相色谱检测条件: VARIAN CP-3800 气相色谱仪; 色谱柱: HP-50 毛细管柱, 30 m×530 μm×1 μm; 色谱柱温度: 100 °C (3 min) $\xrightarrow{15\text{ }^{\circ}\text{C/min}}$ 240 °C (15 min); TSD 检测器温度: 300 °C; 进样口温度: 250 °C; 载气: 99.999%高纯氮气, 流速 30 mL/min; 氢气 5 mL/min; 空气 175 mL/min; 进样量 1 μL, 分流比 50:1。

分析测定方法: 稀释适当倍数后, 取 2 mL 培养液, 添加 1 g NaCl 充分涡旋、盐析; 加入等体积乙酸乙酯提取, 充分振荡, 静置 30 min, 分离乙酸乙酯相; 无水 Na₂SO₄脱水, N₂减压吹干; 加 1 mL 乙酸

乙酯摇匀, 气相色谱检测(图 1)。

1.2.4 JMUPMD-2 菌株对环境中的甲基对硫磷降解的模拟试验: 设 3 组选择性液体培养基, 每组 3 个平行, 其中两组培养基只添加 350 μg/L 甲基对硫磷为唯一磷源, 另一组培养基中添加 350 μg/L 甲基对硫磷和 1 g/L K₂HPO₄ 为磷源。以添加 350 μg/L 甲基对硫磷为唯一磷源而不接菌的选择性培养基作为对照, 另外两组接种 JMUPMD-2 菌株, 所有摇瓶都置于摇床上 28 °C 振荡培养, 定期取样, 依据 1.2.3 的分析测定方法测定各瓶中甲基对硫磷的残留浓度。

1.2.5 JMUPMD-2 菌株甲基对硫磷降解酶液的制备及活性测定: 分别制备 JMUPMD-2 菌株的发酵上清液及胞内提取液, 加入适量的甲基对硫磷进行反应, 测定反应后甲基对硫磷浓度变化。

胞外提取液: JMUPMD-2 液体培养至 6 d 时, 取 50 mL 发酵液 8 000 r/min 离心, 上清即为胞外提取液。

胞内提取液: 收集上步离心后的菌体, 用蒸馏水洗涤菌体 3 次, 将菌体置入研磨内, 加入适量的石英砂, 放入冰箱中预冷, 然后充分研磨。反复预冷研磨 3 次后加入 20 mL 50 mmol/L 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 全部转移至离心管中, 0–4 °C 条件下浸泡 24 h, 10 000 r/min 离心得上清, 即为胞内提取液。

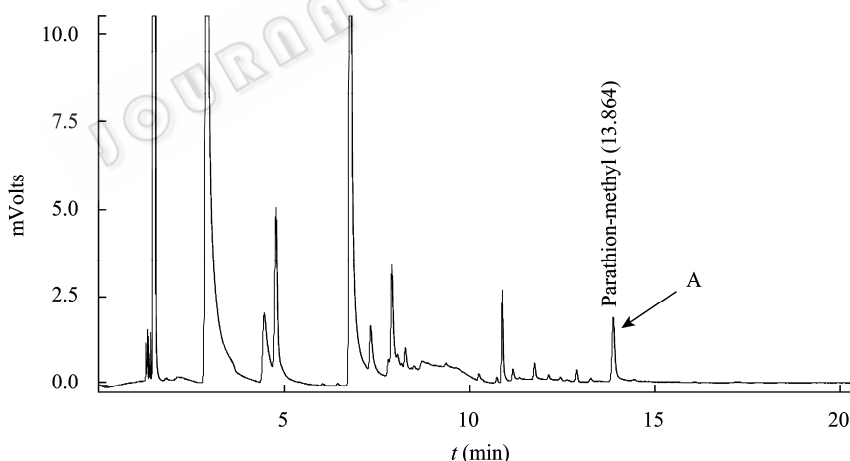


图 1 JMUPMD-2 对甲基对硫磷降解的气相色谱图

Fig. 1 Degradation to parathion-methyl in the presence of JMUPMD-2 determined by Gas Chromatography (GC)

注: A: 甲基对硫磷.

Note: A: Parathion-methyl.

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

反应体系: 30 μL 浓度为 800 mg/L 甲基对硫磷, 1 950 μL 提取液 (对照组为 1 950 μL 磷酸盐缓冲液), 35 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 40 min, 20 μL 6 mol/L HCl 终止反应。每组反应 3 个平行。依据 1.2.3 的分析测定方法测定各反应体系中甲基对硫磷的浓度, 并计算对照组和提取液处理组 40 min 后甲基对硫磷的浓度减少量。运用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 确定各组中甲基对硫磷降解的显著性。

1.2.6 JMUPMD-2 菌株对甲基对硫磷的耐受性实验: 选择性液体培养基 (培养基配方见 1.1.3) 中分别添加甲基对硫磷使其浓度分别达到 1、3、5、7、9、11、13、15 mg/L, 接种后于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 的摇床上培养, 记录菌株生长情况。生长记为“+”、不生长记为“-”。

2 结果

2.1 JMUPMD-2 的 rDNA ITS 区域的序列分析及系统发育树

提取 JMUPMD-2 的 DNA 为模板, 用酵母 ITS 区域通用引物 ITS1 和 ITS4 为引物, 进行 PCR 扩增反应并对相应 PCR 产物进行测序, 共 562 个碱基, 将序列提交到 GenBank 获得登记注册号为 HM143899。利用 BLAST 软件将所得基因序列与 GenBank 数据库的序列进行同源性分析, 结果显示菌株 JMUPMD-2 与一些黄曲霉、米曲霉及未知曲霉菌株的同源性达 99%。收集这些菌株序列, 采用

ClustalX 进行多序列匹配比对, 通过 MEGA 4.1 软件构建系统进化树 (图 2), 结果表明 JMUPMD-2 与 *Aspergillus oryzae* FH4 (GU409806) 的系统发育关系最为密切, 位于同一个分支。

2.2 JMUPMD-2 的形态观察

JMUPMD-2 查氏培养 6 d 后, 菌落圆形、黄色、大小约 5.5 cm、质地疏松、表面干燥有凹凸, 呈粉粒状 (图 3A); 第 12 天菌落铺满整个平板, 颜色变为黄绿色, 边缘呈褐绿色 (图 3B)。菌丝有隔膜 (图 3C), 分生孢子梗长度 1.8 mm–2.0 mm, 直径 12.3 μm –14.8 μm , 粗糙有麻点, 顶囊膨大成球形泡囊, 顶囊直径 49.9 μm –51.4 μm , 小梗双层, 分生孢子串生, 分生孢子球形, 大小 4.4 μm –5.1 μm (图 3D)。

2.3 JMUPMD-2 菌株降解甲基对硫磷试验结果

如图 4 所示, 3 组中甲基对硫磷浓度随着时间延长都有一定程度的降低。其中对照组的曲线说明甲基对硫磷在此条件下能自身分解; 同对照组相比, 以甲基对硫磷为唯一磷源培养 JMUPMD-2, 120 h 后甲基对硫磷开始快速降解; 添加 350 $\mu\text{g/L}$ 甲基对硫磷和 1 g/L K_2HPO_4 为磷源组的培养液中的甲基对硫磷在 150 h 后开始降解。至培养结束时 (200 h), 对照组甲基对硫磷浓度为 227 $\mu\text{g/L}$, 甲基对硫磷为唯一磷源组甲基对硫磷残留浓度为 38 $\mu\text{g/L}$, 甲基对硫磷和 K_2HPO_4 为混合磷源组甲基对硫磷的残留浓度为 199 $\mu\text{g/L}$ 。

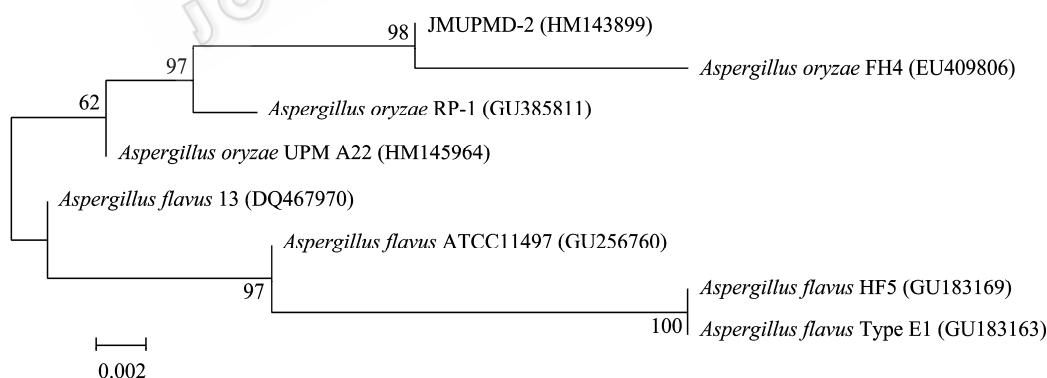


图 2 菌株 JMUPMD-2 ITS 序列系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic tree derived from ITS sequences of strain JMUPMD-2

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on neighbor-joining analysis of 1 000 resampled data sets. Bar 0.002 represent sequence divergence.

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

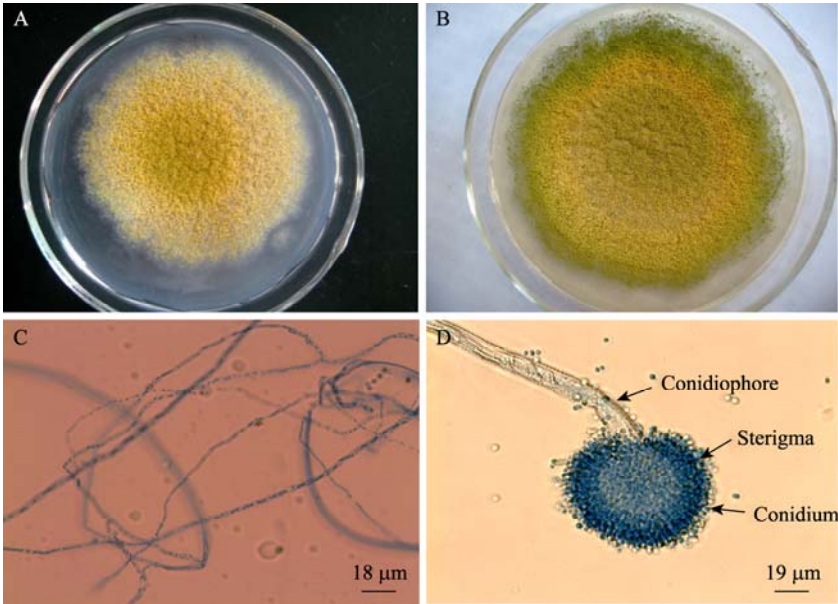


图 3 JMUPMD-2 的培养性状及显微特征

Fig. 3 Cultural and microscopic characteristics of strain JMUPMD-2

注：A：查氏平板 28 °C 培养 6 d；B：查氏平板 28 °C 培养 12 d；C：菌丝；D：分生孢子。
Note: A: Colony on CZA incubated for 6 days at 28 °C; B: Colony on CZA incubated for 12 days at 28 °C; C: Mycelium; D: Conidiophores.

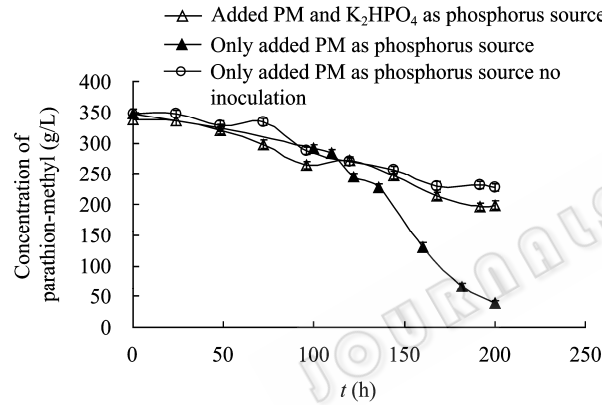


图 4 JMUPMD-2 对甲基对硫磷的降解曲线
Fig. 4 Degradation curve of parathion-methyl by strain JMUPMD-2

2.4 JMUPMD-2 菌株提取液降解甲基对硫磷的酶活性

结果(表 1)显示, JMUPMD-2 菌株的胞内提取物具有甲基对硫磷降解酶活性, 处理 40 min 后甲基对硫磷浓度显著降低, 而胞外提取液中的甲基对硫磷浓度与对照差异不显著。因此可以确定 JMUPMD-2 菌株发酵液上清无甲基对硫磷降解酶活性, 胞内提取液具有甲基对硫磷降解酶活性。

表 1 JMUPMD-2 粗酶液对甲基对硫磷的降解 Table 1 Degradation of parathion-methyl by crude enzyme liquid		
样品 Sample	甲基对硫磷浓度 Concentration of parathion-methyl (mg/L)	甲基对硫磷的减少量 Reduced parathion-methyl (mg/L)
Phosphate buffer-0	12.14±0.26 ^A	0.09±0.09 ^B
Phosphate buffer-40	12.05±0.35 ^A	
Extracellular extract-0	12.15±0.21 ^A	0.08±0.03 ^B
Extracellular extract-40	12.07±0.18 ^A	
Intracellular extract-0	12.04±0.36 ^A	2.90±0.11 ^A
Intracellular extract-40	9.13±0.25 ^B	

注：数字后不同的字母标注表明同一列的数值间差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: The different superscript letter behind the number means the numbers in the same column are significant different ($P<0.01$).

2.5 JMUPMD-2 菌株对甲基对硫磷的耐受性实验

培养 7 d 后发现 JMUPMD-2 菌株在甲基对硫磷浓度为 1、3、5、7、9、11 mg/L 的选择性培养基中均能生长, 当甲基对硫磷浓度达到 13 mg/L 时该菌株生长受到明显抑制(表 2)。因此确定该菌株在本研究所使用的选择性培养基中对甲基对硫磷的耐受浓度为 11 mg/L。

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

表 2 JMUPMD-2 菌株对甲基对硫磷的耐受浓度
Table 2 Endurance of JMUPMD-2 to parathion-methyl

甲基对硫磷浓度 Concentration of parathion-methyl (mg/L)	1	3	5	7	9	11	13	15
生长情况 Growth situation	+	+	+	+	+	+	-	-

3 结论与讨论

图 2 所示的 rDNA ITS 区域的序列分析及系统发育分析表明菌株 JMUPMD-2 为米曲霉, 图 3 所示的菌株 JMUPMD-2 形态特征与《真菌鉴定手册》^[7]所描述的米曲霉的形态特征相符合。这些结果说明新分离到的菌株 JMUPMD-2 是米曲霉。

研究发现, 该菌不仅能在以甲基对硫磷为磷源的培养基中降解甲基对硫磷, 即使在含有容易利用的磷源条件下(如 K_2HPO_4)也可以降解甲基对硫磷。该特性非常有利于降解土壤及污染水体中的甲基对硫磷污染, 因为污染环境中常含有一定量的磷酸盐, 如磷肥、洗涤剂。微生物降解甲基对硫磷的过程是一种酶促反应过程, 其中涉及到氧化、还原和水解酶类, 菌株 JMUPMD-2 所表达的甲基对硫磷降解酶为胞内酶, 其培养上清液未检测出甲基对硫磷降解酶的活性。该菌株对甲基对硫磷的耐受浓度为 11 mg/L, 高于《中华人民共和国国家标准污水综合排放标准》(GB8978-1996)中规定的甲基对硫磷的最高排放浓度 2 mg/L, 因此该菌株可以用于 11 mg/L 以下甲基对硫磷污染的环境治理。

本研究分离得到了降解甲基对硫磷的米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 菌株, 目前鲜见米曲霉降解甲基对硫磷及产生甲基对硫磷降解酶的报道^[8]。相比其他的甲基对硫磷降解菌株, 如假单胞菌属^[9-13] (*Pseudomonas*)、节杆菌属^[14-16] (*Arthrobacter*)、邻单胞菌属^[17-18] (*Plesiomonas*)、沙雷氏菌属^[19] (*Serratia*)、苍白杆菌属^[20] (*Ochrobacterum*)、木霉属^[21] (*Trichoderma*), 米曲霉具有生长快、易培养、遗传性状稳定、适应性强、安全性高(是酱油及一些食品酶的生产菌)等优点。此外, 新分离的菌株在有磷酸盐存在时也能分解甲基对硫磷; 因此, 新分离的菌株具有良好的应用前景。





参 考 文 献

- [1] 中国统计年鉴 2008[M]. 北京: 中国统计出版社, 2008: 557.
- [2] Singh BK, Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(3): 428-471.
- [3] Daneshvar N, Hejazi MJ, Rangarany B, et al. Photocatalytic degradation of an organophosphorus pesticide phosalone in aqueous suspensions of titanium dioxide[J]. Journal of Environmental Science and Health, 2005, B39(2): 285-296.
- [4] Chanda A, Khetan SK, Banerjee D, et al. Total degradation of fenitrothion and other organophosphorus pesticides by catalytic oxidation employing Fe-TAML peroxide activators[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(37): 12058-12059.
- [5] Bhadbhade BJ, Sarnaik SS, Kanekar PP. Biomineralization of an organophosphorus pesticide monocrotophos, by soil bacteria[J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 93(2): 224-234.
- [6] Zhang JL, Qiao CL. Novel approaches for remediation of pesticide pollutants[J]. International Journal of Environment and Pollution, 2002, 18(5): 423-433.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 497.
- [8] 刘阳, 刘玉焕, 陈志仕, 等. 米曲霉 LY-128 广谱有机磷农药水解酶的纯化和鉴定[J]. 菌物系统, 2003, 22(4): 557-564.
- [9] 王彬彬, 熊丽, 郑永良, 等. 甲基对硫磷高效降解菌的分离鉴定及降解酶基因的克隆表达[J]. 环境科学学报, 2008, 28(10): 1969-1975.
- [10] Dong YJ, Bartlam M, Sun L, et al. Crystal structure of methyl parathion hydrolase from *Pseudomonas* sp. WBC-3[J]. Journal of Molecular Biology, 2005, 353(3): 655-663.
- [11] 陈亚丽, 张先恩, 刘虹, 等. 甲基对硫磷降解菌假单胞菌 WBC-3 的筛选及其降解性能的研究[J]. 微生物学报, 2002, 42(4): 490-497.

- [12] Chaudhry GR, Ali AN, Wheeler WB. Isolation of a methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the opd gene from a *Flavobacterium* sp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(2): 288-293.
- [13] 郑永良, 刘德立, 陈舒丽, 等. 一株甲基对硫磷高效降解菌的鉴定及特性研究[J]. 环境科学研究, 2006, 19(4): 100-104.
- [14] 解秀平, 闫艳春, 刘萍萍. 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.
- [15] 解秀平, 闫艳春, 刘萍萍, 等. 降解甲基对硫磷的节杆菌(*Arthrobacter* sp.) L4 菌株的分离和降解特性研究[J]. 环境科学学报, 2006, 26(10): 1637-1642.
- [16] 刘萍萍, 闫艳春, 解秀平. 降解甲基对硫磷菌株 YL8 的分离、纯化及降解机理[J]. 中国环境科学, 2006, 26(2): 206-209.
- [17] 石利利, 林玉锁, 徐亦钢, 等. DLL-1 菌在土壤中对甲基对硫磷农药的降解性能与影响因素研究[J]. 环境科学学报, 2001, 21(5): 597-600.
- [18] Cui ZL, Li SP, Fu GP. Isolation of methyl parathion-degrading strain M6 and cloning of the methyl parathion hydrolase gene[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4922-4925.
- [19] Pakala SB, Gorla P, Pinjari AB, et al. Biodegradation of methyl parathion and p-nitrophenol: evidence for the presence of a p-nitrophenol 2-hydroxylase in a Gram-negative *Serratia* sp. strain DS001[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2007, 73(6): 1452-1462.
- [20] 柏文琴, 李梅, 邱星辉, 等. 苍白杆菌 B2 对甲基对硫磷降解途径研究[J]. 农药学报, 2004, 6(4): 48-54.
- [21] 仪美芹, 王开运, 姜兴印, 等. 降解甲基对硫磷真菌的分离及降解特性[J]. 农药学报, 2000, 2(4): 40-43.

征订启事

2011 年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订

	《微生物学报》月刊(每月 4 日出版), 单价 55.00 元, 全年定价 660 元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。
	《生物工程学报》月刊(每月 25 日出版), 单价 65.00 元, 全年定价 780 元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。
	《微生物学通报》月刊(每月 20 日出版), 单价 48.00 元, 年价 576 元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。
	《菌物学报》双月刊(单月 15 日出版), 单价 80 元, 全年定价 480 元。刊号: ISSN 1672-6472; CODEN JXUUAЕ。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。
订阅	欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄。
	汇款地址: (100101)北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中科院微生物所 B401
	收信人: 《 》编辑部; 电话: 010-64806142; E-mail: bjb@im.ac.cn
	请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量。

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>