

1 株类球红细菌及其降解敌敌畏的特性

赵凯^{1,4}, 于影¹, 姜丹¹, 王栋², 李祖明³, 黄国忠⁴, 白志辉^{1*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 中科活力(北京)生物技术有限公司, 北京 100078; 3. 北京联合大学师范学院, 北京 100011; 4. 北京科技大学土木与环境工程学院, 北京 100083)

摘要:类球红细菌具有广泛的代谢方式,它能够发酵生产 5-氨基乙酰丙酸、辅酶 Q_{10} 、类胡萝卜素、氢气等,已经成为一种非常有工业化开发潜力的微生物.从土壤中分离、筛选了 1 株类球红细菌(编号为 EBL0706),分析了它的培养和遗传特性,测定了水溶液的 pH、温度、敌敌畏浓度、类球红细菌浓度对其降解敌敌畏速率的影响,结果表明,该菌株在水溶液中能够快速矿化敌敌畏,在 pH 6.9~7.5、温度 20~50℃ 条件下,在 5×10^8 CFU/mL 的类球红细菌稀释液中,400 mg/L 的敌敌畏在 12 h 内降解率达到 98% 以上.该菌株发酵液的稀释液喷洒到幼苗期的白菜叶片上,能够显著加快残留敌敌畏降解速度,显示出其在无公害农产品生产中的应用潜力.

关键词:类球红细菌;敌敌畏;降解;16S rDNA;白菜

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2009)04-1199-06

Degradation of Dichlorvos by *Rhodobacter sphaeroides*

ZHAO Kai^{1,4}, YU Ying¹, JIANG Dan¹, WANG Dong², LI Zu-ming³, HUANG Guo-zhong⁴, BAI Zhi-hui¹

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Zhongke-Huoli (Beijing) Biotechnology Corporation, Beijing 100078, China; 3. Teacher's College of Beijing Union University, Beijing 100011, China; 4. Civil & Environment Engineering School, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: *Rhodobacter sphaeroides* possesses an extensive range of energy acquiring mechanisms including photosynthesis, lithotrophy, aerobic and anaerobic respiration. It can produce 5-aminolevulinic acid, CoQ_{10} , carotenoids, hydrogen, etc. by fermentation. A *Rhodobacter sphaeroides* strain was isolated, designated as EBL0706, from soil. The degradation of dichlorvos (DDVP) by the *Rhodobacter sphaeroides* was investigated. 98% of DDVP could be degraded in water solution in 12 h when 5×10^8 CFU/mL *Rhodobacter sphaeroides* was added to 400 mg/L DDVP solution under pH 6.9-7.5 and 20-50℃. This strain could also degrade the DDVP residues on Chinese cabbage leaves effectively.

Key words: *Rhodobacter sphaeroides*; dichlorvos; degradation; 16S rDNA; Chinese cabbage

类球红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)属于细菌域中紫色细菌群的 α 亚群,具有广泛的代谢方式,可以在多种生长条件下生长.如它具有广泛的能量代谢机制,包括光合作用、无机营养、好氧和厌氧呼吸等.它还可以固定氮分子,合成重要生物活性物质四吡咯(tetrapyrroles)、叶绿素(chlorophylls)、血红素(heme)、维生素 B_{12} 等^[1].

大量研究文献表明,类球红细菌已经成为一种非常有工业化开发潜力的微生物.已有多篇文章报道了利用类球红细菌发酵生产 5-氨基乙酰丙酸(ALA)^[2,3];ALA 可促进植物叶绿素合成,增强植物抗逆性,促进植物生长^[4].用类球红细菌来生产辅酶 Q_{10} 的文献也很多^[5,6];辅酶 Q_{10} 是人体内具有重要作用的辅酶之一,又称泛醌,它在体内呼吸链中质子移位及电子传递中起重要作用,是细胞呼吸和细胞代谢的激活剂,也是重要的抗氧化剂和非特异性免疫增强剂,已经广泛应用于临床药物、保健品和化妆品^[7,8].还有文献报道了类球红细菌发酵生产类胡萝

卜素^[9]、氢气^[10,11]等.笔者也发现了类球红细菌促进植物生长的特性^[12].鉴于类球红细菌的巨大应用潜力,美国休斯顿得克萨斯大学健康科学中心微生物学和分子遗传学系的研究人员已经开展了类球红细菌基因组计划研究,测序工作已经于 2005 年完成,功能基因研究也取得了长足进展^[1].

敌敌畏(dichlorvos, DDVP)化学名称为 2,2-二氯乙烯基二甲基磷酸酯,是一种有机磷农药,在农业生产与害虫防治中应用广泛,但其残毒容易造成环境与食品污染,因此,世界各国都对其农产品制定了相应的残留标准,如中国国家标准中对水果、蔬菜中敌敌畏残留的限量为 ≤ 0.1 mg/kg,欧盟对茶叶中敌敌畏残留的限量为 ≤ 0.02 mg/kg.对于消除敌敌畏农药

收稿日期:2008-06-24;修订日期:2008-11-30

基金项目:国家自然科学基金项目(30600082);国家科技支撑计划项目(2008BADA7B01);北京市教委项目(20061D0502200295, KM200811417006)

作者简介:赵凯(1984~),男,硕士研究生,主要研究方向为环境生物技术.

* 通讯联系人, E-mail: zhbai@rcees.ac.cn

残留造成的污染,微生物降解是一种安全、有效的方法^[13].目前,已有微生物降解敌敌畏的相关研究^[14~16],但还鲜见有关类球红细菌降解敌敌畏的研究报道.

本研究从土壤中分离到 1 株类球红细菌,将其编号为:EBL0706,保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号:CGMCC No. 0645,分析了它的遗传、培养特性及其对敌敌畏农药的降解特性.

1 材料与方法

1.1 类球红细菌及其培养基

实验采用类球红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*) EBL0706 菌株,保存在 LB 固体培养基斜面上,保藏于 4℃ 冰箱,半年转接 1 次.

液体培养基配方(g/L):乳酸 4,硫酸铵 1,磷酸氢二钾 0.9,磷酸二氢钾 0.6,硫酸镁 0.2,无水氯化钙 0.075,硫酸亚铁 0.012,EDTA 0.02,危量元素溶液 10 mL,生长因子溶液 10 mL,调节 pH 7.0.

其中,微量元素溶液配方(g/L):硼酸 2.8,硫酸锰 1.6,钼酸钠 0.76,硫酸锌 0.24,硫酸铜 0.04;生长因子溶液配方(g/L):维生素 B₁ 1,烟酰胺(VPP) 1,生物素 0.016,对氨基苯甲酸 1.

上述试剂均为分析纯或生化试剂.

1.2 类球红细菌的培养和计数

将斜面保存的菌种接种到盛有 100 mL 液体培养基的三角瓶中,共 3 瓶,置于光照培养箱中,于 32℃ 下,150 r/min 摇床振荡培养 24 h,得到液体种子.按照 5% 的接种量将摇瓶活化的液体种子接种到盛有 4 L 液体培养基的发酵罐中,发酵液初始 pH 6.7,通气量 5 L/min,温度 32℃,培养 26 h.采用平板菌落计数法计算培养液中的活菌数(CFU).用 pH 计测定发酵液 pH.

1.3 类球红细菌原位 PCR 直接扩增 16S rDNA

使用细菌 16S rDNA 通用引物 27f (5'-AGAGTT-TGATCMTGGCTCAG, M = C 或 A) 和 1492r (5'-TAC-GGYTACCTTGTTACGACTT, Y = C 或 T),挑取少量类球红细菌菌体作为 DNA 模板,PCR 扩增其 16S rDNA^[17].PCR 反应条件为:先 95℃ 预变性 5 min,然后 94℃ 变性 1 min,50℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min,共 30 个循环,最后在 72℃ 下延伸 10 min.PCR 反应产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测.

1.4 类球红细菌 16S rDNA 序列测定和系统发育分析

将类球红细菌 16S rDNA 的 PCR 产物送交上海生工生物工程技术服务有限公司测序.将所得序列录入 NCBI 网站的 Blast 程序,与 GenBank 数据库中已有序列进行比对,下载相似性最高的序列和相似性较高的已知菌种名称的序列作参考,将所有序列用 DNAMAN 软件进行比对分析,绘制系统发育树.

1.5 类球红细菌在水溶液中降解敌敌畏农药

经 21 h 培养的类球红细菌培养液用无菌水稀释到 5×10^8 CFU/mL,分装于 150 mL 三角瓶中,每瓶 50 mL 的装液量,分别调节 pH 分别为 6.8、7.3、7.5、7.8、8.3,以 121℃ 高温灭菌 20 min 的稀释培养液为对照,分别加入 80% 的敌敌畏乳油(河北新丰农药化工股份有限公司)使敌敌畏的含量为 400 mg/L.在 30℃ 摇床 150 r/min 振荡,每隔 2 h 调节 pH 一次,每次都调节到初始 pH.在不同时间取样,分析敌敌畏的残留量的变化.

经 21 h 培养的类球红细菌培养液用无菌水稀释到 5×10^8 CFU/mL,取 50 mL 稀释液于 150 mL 三角瓶中,以高温灭菌的稀释培养液和 0.2 μ m 孔径的膜过滤除菌稀释培养液为对照,共 5 组,分别加入 80% 的敌敌畏乳油使敌敌畏的含量分别为 400、600、800 mg/L,该浓度范围与敌敌畏的使用浓度(1 000 ~ 2 000 倍稀释液)一致.在适宜 pH、30℃ 摇床 150 r/min 振荡,每隔 2 h 调节 pH 一次,每次都调节到初始 pH.在不同时间取样,分析敌敌畏的残留量的变化规律.

经 21 h 培养的类球红细菌培养液用无菌水稀释到 1×10^8 、 2×10^8 和 5×10^8 CFU/mL,各取 50 mL 稀释液于 150 mL 三角瓶中,以高温灭菌的稀释培养液为对照,分别加入 80% 的敌敌畏乳油使敌敌畏的含量为 400 mg/L.在适宜 pH、30℃ 摇床 150 r/min 振荡,每隔 2 h 调节 pH 一次,每次都调节到初始 pH.在不同时间取样,分析敌敌畏的残留量的变化.

经 21 h 培养的类球红细菌培养液用无菌水稀释到 5×10^8 CFU/mL,分装于 150 mL 三角瓶中,每瓶 50 mL 的装液量,调节 pH 为适宜 pH,以高温灭菌的稀释培养液为对照,分别加入 80% 的敌敌畏乳油使敌敌畏的含量为 400 mg/L.在不同温度下,摇床 150 r/min 振荡,每隔 2 h 调节 pH 一次,调节到初始 pH.在不同时间取样,分析敌敌畏的残留量的变化.

1.6 类球红细菌降解白菜叶面上残留的敌敌畏农药

在大田中的大白菜(幼苗期)上用 80% 敌敌畏乳油的 1 000 倍稀释液均匀喷雾处理,每 30 棵分成 1

组,共 4 组,2 h 后,分别喷洒以自来水稀释到 1×10^8 、 2×10^8 和 5×10^8 CFU/mL 的类球红细菌培养液,以喷洒自来水为对照.分别在 24 h 和 48 h 采集白菜叶片,测定敌敌畏残留量.

1.7 农药残留分析

敌敌畏的残留量测定按照国家标准方法 GB/T 5009.20.2003“食品中有机磷农药残留量的测定”和文献[18]进行;测定结果为 2 次平行实验的平均值,相对偏差 < 5%.敌敌畏标准品由北京伟业科创科技有限公司提供,浓度为 100 mg/L.

2 结果与讨论

2.1 类球红细菌的生长特性

在发酵罐中,用液体培养基培养类球红细菌的生长曲线见图 1.结果表明,在 32℃,液体培养基中,培养 12 h 后进入指数生长期,培养 21 h 活菌数达到最大浓度 8.1×10^9 CFU/mL,培养 24 h 后,活菌数开始降低.而培养基 pH 随培养时间的延长逐渐升高,开始 pH 为 6.8,27 h 后 pH 可达 9.7.可见类球红细菌可以在很宽泛的 pH 条件下生长,但当 pH 达到 9.5 以上,活菌数增加缓慢,甚至降低.因此,培养过程中控制培养基 pH 可能会进一步增加活菌数浓度.

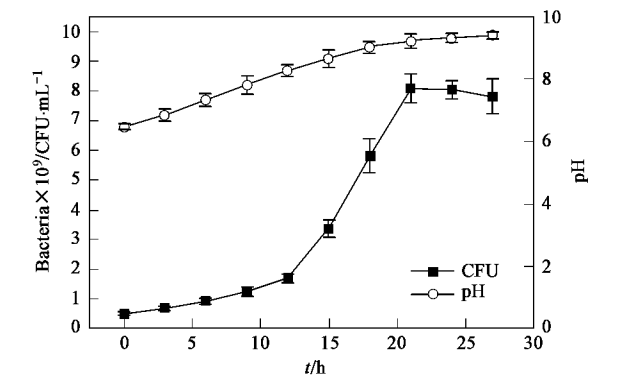


图 1 类球红细菌的生长曲线

Fig.1 Time course of *Rhodobacter sphaeroides* growth

2.2 类球红细菌的常规检测鉴定

该株类球红细菌经中国科学院微生物研究所进行常规检测鉴定,结果表明,该菌株的厌氧培养物棕色,细胞为卵球状,大小为 $0.8 \sim 1.2 \mu\text{m}$,二分裂繁殖,极生鞭毛,细胞内有囊泡状内膜结构.该菌的好氧培养物为红色,以生物素、尼克酰胺为生长因子,可利用乙酸钠、琥珀酸钠、丙三醇等小分子有机物生长、不能利用苯甲酸钠和酒石酸钠为碳源生长.

该菌株的抗药性试验结果表明,该菌对氟罗沙星、洛美沙星、环丙沙星、阿米卡星、氧氟沙星、左旋

氧氟沙星、依诺沙星、诺氟沙星、奈替米星、青霉素、红霉素、新霉素、四环素、羧苄青霉素、多粘菌素、庆大霉素、氯霉素、阿奇霉素、链霉素、强力霉素、克拉霉素、妥布霉素、卡那霉素、利福平、头孢唑啉、头孢曲松、头孢噻吩、头孢哌酮、阿莫西林、苯唑西林、哌拉西林、氨苄西林、阿洛西林、吡哌酸等药物敏感,对柱晶白霉素、痢特灵、复方新诺明、呋喃妥因、磺胺甲基异苯唑、乙酰螺旋霉素、克林霉素等有抗性.

经连续传代培养和对比试验,该菌株的分类学性状和对药物的敏感性等理化性状未发生可见变化,说明其遗传性状是稳定的.上述常规鉴定和分子生物学检测结果都表明,该菌株为红细菌属 (*Rhodobacter*) 中的类球红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*).

2.3 类球红细菌的 16S rDNA 序列分析

该株类球红细菌的 16S rDNA 序列已递交到 GenBank 数据库,登录号: EU263643.与 GenBank 数据库中已有得序列进行比对,相似性 > 97% 的序列都是来自于 *Rhodobacter* 属的微生物,相似性最高的是 *Rhodobacter sphaeroides* ATCC 17025 菌株,序列相似性达到 99%.系统发育树如图 2 所示.

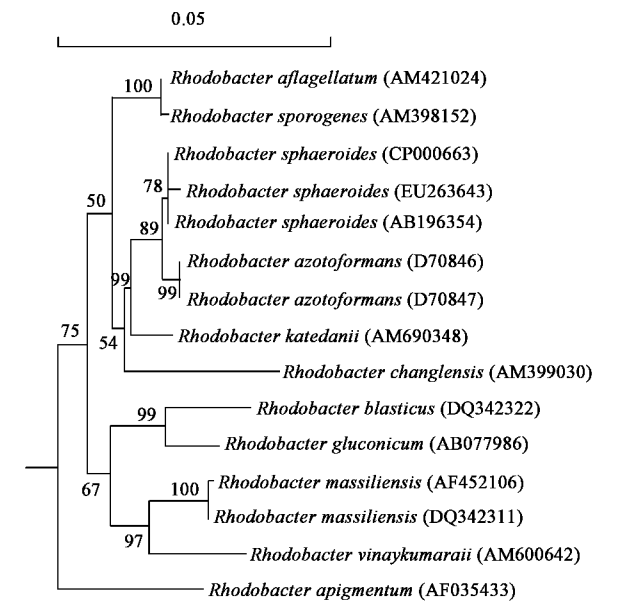


图 2 类球红细菌 16S rDNA 序列系统发育树

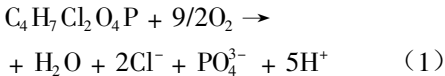
Fig.2 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence analysis of *Rhodobacter sphaeroides*

2.4 水溶液的 pH 对类球红细菌降解敌敌畏效率的影响

初步实验结果表面,类球红细菌在水溶液中降解敌敌畏会引起溶液的 pH 迅速下降,敌敌畏浓度

在 600 或 800 mg/L 时,降解反应 12 h,溶液 pH 降到 5.5 以下,此时,类球红细菌的降解能力基本丧失。

Schramm 等^[19]研究了超声波对水溶液中敌敌畏的降解机制,敌敌畏完全矿化的反应方程式为:



由式(1)可以看出,1 mol 敌敌畏完全矿化会产生 2 mol 盐酸和 1 mol 磷酸,即 5 mol H⁺。因此,为了保持类球红细菌在水溶液中的降解活性,本研究采用 0.02 mol/L 的 NaOH 水溶液调节敌敌畏降解过程中的产酸量,使溶液 pH 保持相对稳定,并准确记录 NaOH 的消耗量。通过计算,NaOH 的消耗量(摩尔数)约为敌敌畏的 5 倍,因此,初步推断类球红细菌降解敌敌畏是以矿化为主,具体代谢过程和机制还有待于进一步研究。

不同 pH 范围下,类球红细菌降解水溶液中敌敌畏的速率如图 3 所示。由于每隔 2 h 调节 1 次 pH,因此,溶液的 pH 是在一个区间内变化。结果列出了降解 6 h 和 12 h 时的测定数据,表明溶液 pH 在 7.5 ~ 6.9 之间,敌敌畏降解最快。发酵液虽然有一定的 pH 缓冲能力,但是稀释后缓冲能力较小,敌敌畏降解时会引起溶液 pH 大幅度下降,因此,可以考虑在实际应用时适当添加 pH 缓冲剂。

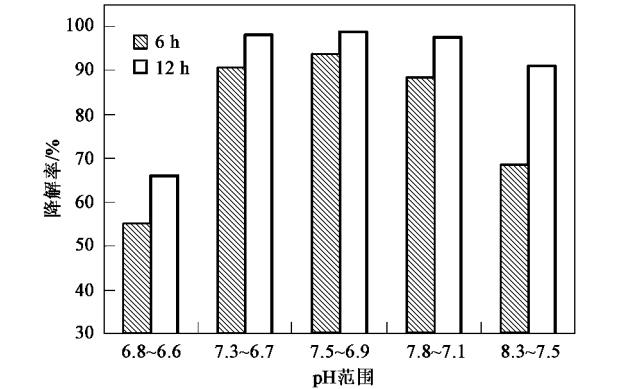


图 3 不同 pH 对类球红细菌降解敌敌畏的影响
Fig.3 Effect of pH on the degradation of DDVP by *Rhodobacter sphaeroides*

2.5 水溶液中敌敌畏的浓度对类球红细菌降解效率的影响

类球红细菌培养液的稀释液(5 × 10⁸ CFU/mL)对不同浓度敌敌畏的降解规律如图 4 所示。结果表明,该株类球红细菌对正常使用浓度范围内的敌敌畏具有高效降解作用,400、600 和 800 mg/L 的敌敌畏在水溶液 12 h 降解率分别达到 98.4%、89.1% 和

77.5%,24 h 降解率分别达到 99.8%、99.0% 和 95.1%。敌敌畏在高温灭活的类球红细菌培养液中和过滤除菌的类球红细菌培养液中的降解率差别不显著,表明参与敌敌畏降解的相关酶类主要在细胞内。

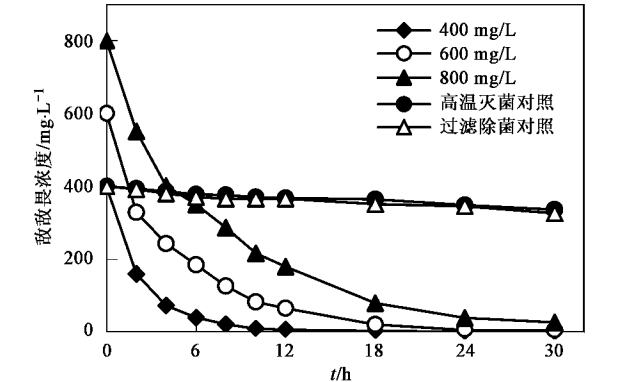


图 4 类球红细菌在水溶液中对不同浓度的敌敌畏的降解
Fig.4 Degradation of DDVP with different concentration in water solution by *Rhodobacter sphaeroides*

2.6 水溶液中类球红细菌培养液的浓度对其降解敌敌畏效率的影响

不同浓度类球红细菌培养液对 400 mg/L 敌敌畏的降解率如图 5 所示。结果表明,类球红细菌的浓度越高,降解敌敌畏的速率越快。当类球红细菌浓度为 1 × 10⁸ CFU/mL 时,18 h 后,水溶液中敌敌畏的降解速率与对照差别不大,表明类球红细菌的降解活性基本丧失。

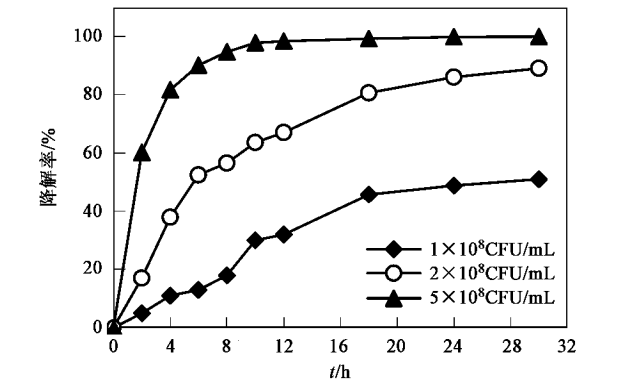


图 5 不同浓度的类球红细菌在水溶液中对敌敌畏的降解率
Fig.5 Degradation of DDVP in water solution by different *Rhodobacter sphaeroides* addition

2.7 水溶液的温度对类球红细菌降解敌敌畏效率的影响

在不同温度下,类球红细菌培养液对 400 mg/L 敌敌畏的降解率如图 6 所示。结果表明,在 50℃ 条

件下,类球红细菌降解敌敌畏的速率最快,2 h 降解率就达到 77%.在 20~50℃温度范围内 12 h 降解率都达到 98% 以上,在 15℃和 55℃条件下,12 h 降解率分别达到 97%和 95%.可见类球红细菌在比较宽泛的温度范围内都具有较高的降解敌敌畏的能力.

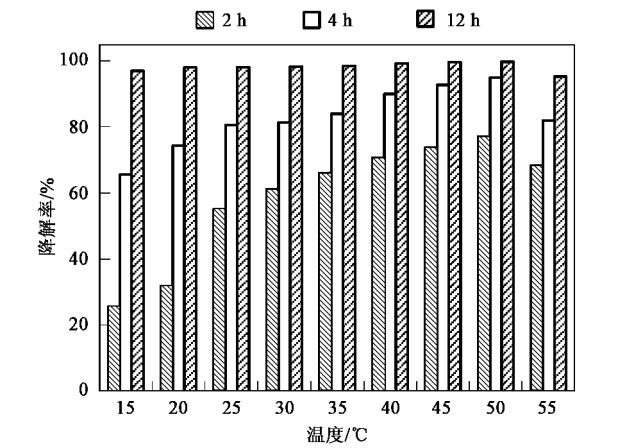


图 6 不同温度对类球红细菌降解敌敌畏的影响

Fig.6 Effect of temperature on the degradation of DDVP by *Rhodobacter sphaeroides*

2.8 类球红细菌降解白菜叶面上残留敌敌畏的特性

为了验证类球红细菌在实际应用中是否还能发挥高效降解敌敌畏的作用,本研究在白菜上均匀喷洒敌敌畏后,再喷洒不同浓度的菌液,不同时间采样测定敌敌畏残留量,结果如表 1 所示.结果表明,类球红细菌在白菜上也有显著的降解敌敌畏能力,各种使用浓度的类球红细菌喷洒到白菜叶片上 24 h 后,敌敌畏残留量都不超国家标准(0.1 mg/kg),而且最高使用浓度 5 × 10⁸ CFU/mL 类球红细菌处理的白菜,敌敌畏残留量不超欧洲标准(0.02 mg/kg).48 h 后,各处理敌敌畏残留都在欧洲标准以下了,但不用菌处理的白菜还不能达到欧洲标准所控制的残留量.

在室温条件下,敌敌畏在水溶液中的半衰期约为 3 d^[20],但是通过对白菜上敌敌畏的残留检测,发现其在白菜上的自然降解也是比较快的,24 h 其残留量就能降解 90% 以上,48 h 就能低于国家标准,而敌敌畏使用注意事项中一般规定蔬菜收获前 7 d 停止用药.笔者推测,除了物理和化学因素外,自然条件下,白菜叶面上的土著叶际微生物可能对敌敌畏的降解也发挥了重要作用.Zhang 等^[21]的研究也发现,在温室中,植物叶际微生物对菊酯类农药残留的降解可能起到了重要作用.

表 1 不同浓度的类球红细菌降解白菜上的敌敌畏残留特性			
Table 1 Degradation of DDVP in Chinese cabbage by <i>Rhodobacter sphaeroides</i>			
类球红细菌的浓度 /CFU·mL ⁻¹	喷菌后不同时间敌敌畏残留量/mg·kg ⁻¹		
	1 h	24 h	48 h
0	3.63 ± 0.21	0.27 ± 0.02	0.051 ± 0.005
1 × 10 ⁸	—	0.051 ± 0.005	0.019 ± 0.003
2 × 10 ⁸	—	0.021 ± 0.002	0.011 ± 0.001
5 × 10 ⁸	—	0.015 ± 0.001	0.011 ± 0.002

2.9 类球红细菌对其他农药的降解特性初试

本研究也初步测试了该株类球红细菌对氧化乐果、高效氯氰菊酯、阿维菌素等农药的降解活性.结果表明,该菌株对氧化乐果有一定的降解作用,5 × 10⁸ CFU/mL 类球红细菌的稀释培养液中 300 mg/L 的氧化乐果 48 h 降解 57%,600 mg/L 的氧化乐果 48 h 降解 44%.高效氯氰菊酯和阿维菌素不能被类球红细菌降解.推测类球红细菌可能对有机磷类农药的降解有一定的选择性,但需要进一步实验验证.

3 结论

(1)类球红细菌 EBL0706 菌株在 32℃ 下液态培养 21 h 活菌数可以达到 8.1 × 10⁹ CFU/mL.它能够在 20~50℃,pH 6.7~7.8 的水溶液中高效降解敌敌畏,其降解敌敌畏的机制以矿化为主,敌敌畏降解酶系主要在细胞内.

(2)类球红细菌稀释培养液能有效提高白菜叶面上的敌敌畏农药残留的降解速度,并表现出对有机磷农药降解的选择性,显示出该菌株在无公害农产品生产中的应用潜力.

参考文献:

[1] <http://mmg.uth.tmc.edu/sphaeroides/introduction/introduction.html>

[2] Sasaki K, Watanabe M, Nishio N. Inhibition of 5-aminolevulinic acid (ALA) dehydratase by undissociated levulinic acid during ALA extracellular formation by *Rhodobacter sphaeroides* [J]. Biotechnol Letters, 1997, 19(5): 421-424.

[3] 王俊卿, 张肇铭. 乙酰丙酸和前体物对 *Rhodobacter sphaeroides* 5-氨基乙酰丙酸合成的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(5): 611-613.

[4] 汪良驹, 姜卫兵, 章镇, 等. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业中的潜在应用 [J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 185-192.

[5] Yen H W, Chiu C H. The influences of aerobic-dark and anaerobic-light cultivation on CoQ₁₀ production by *Rhodobacter sphaeroides* in the submerged fermenter [J]. Enzyme Microbial Technol, 2007, 41(5): 600-604.

[6] 韩少英, 窦洁, 周长林. 发酵法生产辅酶 Q₁₀ 的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2006, 13(3): 227-232.

- [7] 钱雪,王祖巧,韩国平,等. 辅酶 Q_{10} 的药理与应用[J]. 食品与药品, 2006, **8**(1): 16-19.
- [8] 徐铮奎. 辅酶 Q_{10} 开发现状与前景展望[J]. 中国制药信息, 2006, **22**(4): 15-17.
- [9] Chen D, Han Y, Gu Z. Application of statistical methodology to the optimization of fermentative medium for carotenoids production by *Rhodobacter sphaeroides*[J]. Process Biochemistry, 2006, **41**(8): 1773-1778.
- [10] Koku H, Eroglu I, Gunduz U, *et al.* Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*[J]. International J Hydrogen Energy, 2002, **27**(11-12): 1315-1329.
- [11] Fang H H P, Zhu H, Zhang T. Phototrophic hydrogen production from glucose by pure and co-cultures of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter sphaeroides*[J]. International J Hydrogen Energy, 2006, **31**(15): 2223-2230.
- [12] 王栋. 类球红细菌工业化规模发酵方法及其发酵液[P]. 中国: ZL 01129652.6, 2005-01-12.
- [13] Zhang J L, Qiao C L. Novel approaches for remediation of pesticide pollutants[J]. International Journal of Environment Pollution, 2002, **18**(5): 423-433.
- [14] 付文祥, 郭立正. 敌敌畏降解真菌的分离及其特性研究[J]. 环境科学与技术, 2006, **29**(4): 32-34.
- [15] 李荣, 贾开志, 蒋建东, 等. 敌敌畏、敌百虫高效降解菌株 DDB-1 的分离鉴定及降解特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(2): 554-55.
- [16] Oncescu T, Oancea P, Enache M, *et al.* Halophilic bacteria are able to decontaminate dichlorvos, a pesticide, from saline environments[J]. Central European Journal of Biology, 2007, **2**(4): 563-573.
- [17] Li Z, Bai Z, Zhang B, *et al.* Newly isolated *Bacillus gibsonii* S-2 capable of using sugar beet pulp for alkaline pectinase production[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2005, **21**: 1483-1486.
- [18] 韦贞鸽, 杨军, 吴洁莹, 等. 敌敌畏的臭氧氧化处理[J]. 环境科学, 2008, **29**(4): 985-989.
- [19] Schramm J D, Hua I. Ultrasonic Irradiation of Dichlorvos: Decomposition Mechanism[J]. Water Research, 2001, **35**(3): 665-674.
- [20] Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority. Dichlorvos toxicology assessment [M]. Australia: Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority, 2008. 37.
- [21] Zhang B, Zhang H, Jin B, *et al.* Effect of cypermethrin insecticide on the microbial community in cucumber phyllosphere[J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, **20**(11): 1356-1362.