

# 农药厂不同生境中甲胺磷降解细菌的分离、筛选与鉴定

官雪芳<sup>1,2</sup>, 刘波<sup>1</sup>, 林斌<sup>2</sup>, 林抗美<sup>1</sup>, 马丽娜<sup>1</sup>

(1. 福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福建 福州 350003;

2. 福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福建 福州 350003)

**摘要:** 对福建省福农生化有限公司不同生境中的甲胺磷降解细菌进行分离, 用磷脂脂肪酸分析方法对菌进行鉴定, 同时对降解细菌的生境特征进行分析。结果表明: 对甲胺磷有降解作用的细菌共有 22 个属、28 个种、67 株菌株; 在沟中污泥中分离到的降解细菌有 8 个属、12 个种、35 株菌株, 其种类和数量多于其他的生境; 而在各类降解细菌中, 芽孢杆菌属和假单胞菌属分别有 21 株和 19 株, 占分离到细菌总量的 59.7%, 其中的蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 在以上 3 种生境中大量存在。

**关键词:** 甲胺磷; 农药降解细菌; 不同生境; 分离; 筛选; 鉴定

中图分类号: X 172

文献标识码: A

## Isolation, screening and identification of methamidophos degrading bacteria from habitats at a pesticide factory

GUAN Xue fang<sup>1,2</sup>, LIU Bo<sup>1</sup>, LIN Bin<sup>2</sup>, LIN Kang mei<sup>1</sup>, MA Li na<sup>1</sup>

(1. *Agricultural Bioresources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences,*

*Fuzhou, Fujian 350003, China; 2. *Institute of Agricultural Engineering Technology;**

*Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China*)

**Abstract:** To study methamidophos degrading bacteria in different habitats at a pesticide factory, soil samples from sewage, drainage ducts and surroundings at Fur Nong Biochemistry Co., Ltd in Fujian were collected for the isolation. Sixty seven bacterial stains were isolated employing media containing high concentration of methamidophos followed by identification using the fatty acid analysis. They were determined to belong to 22 genera. In the 3 different types of habitats, 35 microbial stains belonging to 8 genera were found. The numbers of *Bacillus* and *Pseudomonas* strains were 21 and 19, respectively. In combination, they amounted to 59.7% of the total. Among them, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas putida* could grow in soils of all the sampling sites.

**Key words:** methamidophos, degrading bacterium, different habitats, isolation, screening, identification

甲胺磷是一种广谱、高效的有机磷杀虫剂<sup>[1]</sup>, 在农业生产中被普遍应用, 近年来其产量和用量均居国内诸农药首位<sup>[2]</sup>。但甲胺磷的剧毒性造成的环境污染如引起水质和土壤污染已严重地破坏了生态平衡; 造成的食品污染问题已直接危害到人畜健康、威胁人类生存和可持续发展, 并成为发达国家设置贸易壁垒的重要手段<sup>[3]</sup>, 因此治理此类污染已刻不容缓<sup>[4]</sup>。微生物降解是环境中有机磷农药降解的主要方式, 它可以通过矿化作用、共代谢作用、种间协同代谢等作用机理将有机磷农药降解, 从而达到对农药污染的修复<sup>[5~6]</sup>。自然界中能分解甲胺磷的微生物系主要有细菌、放线菌、酵母、霉菌、

藻类等, 尤以细菌为多。磷脂脂肪酸 (Phospholipid Fatty Acid, PLFA) 分析方法是基于磷脂几乎是所有生物细胞膜的重要组成部分<sup>[7~9]</sup>, 微生物体的磷脂脂肪酸组成和含量水平具有种属的特异性, 其含量和结构与其分类位置密切相关, 能够标记特定微生物的存在<sup>[10]</sup>, 因此可以通过分析微生物细胞膜上磷脂脂肪酸的组分来鉴定微生物的种属、分析微生物多样性, 是一种简便、可靠的分析方法<sup>[11]</sup>。本研究选择福建省福农生化有限公司为对象, 从该厂的排污口污泥、沟中的污泥及周边草坪中的土壤中分离出能降解甲胺磷的细菌, 并利用 PLFA 分析方法对分离的细菌进行鉴定、分类, 同

收稿日期: 2008-10-13 初稿; 2009-02-05 修改稿

作者简介: 官雪芳 (1979-), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事环境微生物方面的研究 (E-mail: guan619@163.com)

通讯作者: 刘波 (1957-), 男, 博士, 研究员, 从事微生物生物技术和微生物农药研究 (E-mail: fzliubo@163.com)

基金项目: 国家水体污染防治与治理科技重大专项 (2008ZX07425-002); 福建省科技计划项目 (2005Y008)

时对降解细菌的生境特征进行分析, 以期了解甲胺磷降解细菌的种类和不同生境中的甲胺磷降解细菌分布情况, 为今后开展细菌降解甲胺磷等有机磷农药的深入研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 样品采集 从福建省福农生化有限公司排污口底泥、排污口沟口边泥和排污口周边草坪中土壤采集土样 11 处, 其中排污口周边草坪中土壤 3 处: 记为 G1、G3、G8, 排污口沟口边泥 4 处: 记为 G2、G4、G5、G10, 排污口的底泥 4 处, 记为 G6、G7、G9、G11。

1.1.2 药品与试剂 50% 甲胺磷乳油 (江门市大光明农化有限公司), 甲胺磷标样 (Sigma-Aldrich 公司), 有机溶剂类: 甲醇 (色谱纯)、正己烷甲基叔丁基乙醚 (fisher 科学世界公司)、脂肪酸混合标样 (C9 至 C20)、乙醇、乙醚等; 皂化试剂: 氢氧化钠 45 g+ 甲醇 150 mL+ 水 150 mL; 甲基化试剂: 6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 325 mL+ 甲醇 275 mL; 萃取试剂: 正己烷 200 mL+ 甲基叔丁基乙醚 200 mL; 洗涤试剂: 氢氧化钠 10.8 g+ 水 900 mL (配制方法由 MIDI 公司提供)。

1.1.3 仪器与分析系统 细菌自动鉴定仪: Agilent 6890N 型, 美国 MIDI 公司生产, 仪器包括全自动进样装置、石英毛细管柱及氢火焰离子化检测器; 恒温箱, pH 计, 水浴锅。

分析软件: 美国 MIDI 公司开发的基于微生物细胞脂肪酸成分鉴定的全自动微生物鉴定系统 Sherlock MIS4.5 (Microbial Identification System) 和 LGS4.5 (Library Generation Software)。

1.1.4 培养基 Burk 无机盐选择培养基<sup>[4]</sup>: 0.2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、0.8 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.2 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.1 g CaSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O、0.003 g NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、0.005 g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、1.0 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.5 g 酵母粉、1 000 mL 水、pH 7.2、121 ℃ 灭菌 20 min, 固体培养基加入 15 g 琼脂, 用于甲胺磷降解细菌驯化、筛选; 全营养培养基 (A): 6.5 g 蛋白胨、6.5 g 葡萄糖、2.0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1 000 mL 水、pH 7.0 (固体培养基加琼脂 15 g), 用于细菌的培养; 营养贫瘠培养基 (B): 1.0 g 蛋白胨、1.0 g 葡萄糖、1.0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、15 g 琼脂、1 000 mL 水、pH 7.0; C、N 缺失培养基 (C): 15.0 g 琼脂、1 000 mL 水、pH 7.0, B、C 培养基用于降解细菌的筛选和分离; TSBA 培养基: 30 g 胰蛋白胨

大豆肉汤 (Tryptic soy broth, TSB 购于 Fisher 公司)、15 g 琼脂、1 000 mL 水, 用于细菌的鉴定。

### 1.2 试验方法

参照文献 [12~14] 方法并加以修正。

1.2.1 甲胺磷降解细菌的分离 细菌的富集: 取以上 11 处土样各 0.5 g 分别置于 100 mL 全营养培养基中 35 ℃ 振荡培养 72 h, 使各类细菌充分富集生长; 甲胺磷降解细菌的驯化和筛选: 将以上菌液取 1 mL 移种于甲胺磷浓度为 500 mg·L<sup>-1</sup> 的全营养培养基中, 35 ℃、160 r·min<sup>-1</sup> 培养 2 d, 以后每次将甲胺磷浓度提高 500 mg·L<sup>-1</sup> 培养 2 d, 观察菌液的浑浊情况, 直到培养液中 70% 的样品不再出现浑浊时的浓度 (结果为 5 000 mg·L<sup>-1</sup>) 为甲胺磷降解细菌的筛选浓度 (为了较全面筛选到降解细菌, 取甲胺磷终浓度为 4 000 mg·L<sup>-1</sup> 作为分离筛选浓度), 将以上菌液移种于含甲胺磷终浓度 4 000 mg·L<sup>-1</sup> 的 Burk 无机盐培养基中培养, 以菌液出现浑浊为指示 (由于培养基中只含有无机盐类和甲胺磷, 所以只有能利用甲胺磷为营养物质的细菌才在其中繁殖生长, 当菌液出现浑浊时说明有降解细菌), 筛选出对甲胺磷有降解作用的细菌群; 甲胺磷降解细菌的分离: 将以上混浊菌液用无菌水稀释 10 倍, 分别吸取 0.1 mL 涂布于甲胺磷终浓度为 4 000 mg·L<sup>-1</sup> 的 A、B、C 培养基中, 35 ℃ 培养箱中培养, 观察其生长状况, 挑取各单菌落经平板画线纯化、保存。

### 1.2.2 甲胺磷降解细菌的鉴定 (脂肪酸鉴定法)

1.2.2.1 脂肪酸的提取 ①细菌培养条件: TSBA 平板培养基, 四线划线法, 培养温度 28±1 ℃, 培养时间 24±2 h。②获菌: 用接种环挑取 3~5 环 (约 40 mg 湿重) 的菌落置入有螺旋盖的试管中。③皂化: 加入 1.0±0.1 mL 皂化试剂, 拧紧盖子, 振荡 5~10 s, 放入 95~100 ℃ 的沸水中 5 min, 室温冷却, 振荡 5~10 s, 再水浴 25 min, 室温冷却。④甲基化: 开盖加入 2.0±0.1 mL 甲基化试剂, 拧紧盖子, 振荡 5~10 s, 80±1 ℃ 水浴 10 min, 移开且快速用流动自来水冷却至室温。⑤萃取: 加入 1.25±0.1 mL 的萃取试剂, 拧紧盖子, 温和混合旋转 10 min, 打开管盖, 利用干净的移液管取出每个样本的下层水相部分。⑥基本洗涤: 加入 3.0±0.2 mL 洗涤试剂, 拧紧盖子, 温和混合旋转 5 min, 打开管盖, 利用干净的移液管移出约 2/3 体积的上层有机相到干净的气相色谱检体小瓶, 用于气相检测。

### 1.2.2.2 脂肪酸的气相色谱检测 在下述色谱条

件下平行分析脂肪酸甲酯混合物标样和待检样本：二阶程序升高柱温， $170^{\circ}\text{C}$ 起始， $5^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $260^{\circ}\text{C}$ ，而后 $40^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $310^{\circ}\text{C}$ ，维持 90 s；汽化室温度 $250^{\circ}\text{C}$ 、检测器温度 $300^{\circ}\text{C}$ ；载气为氢气( $2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )、尾吹气为氮气( $30\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )；柱前压 $10\text{ 00 psi}$ ( $1\text{ psi} = 6\text{ 895 kPa}$ )；进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$ ，进样分流比 $100:1$ 。

**1.2.2.3 细菌种类鉴定** 系统根据各组分保留时间计算等链长(ECL)值确定目标组分的存在、采用峰面积归一化法计算各组分的相对含量，再将二者与系统谱库中的标准菌株数值匹配计算相似度(similarity index, SI)，从而给出一种或几种可能的菌种鉴定结果。一般以最高 SI 的菌种名称作为

鉴定结果，但当其报告的几个菌种的 SI 比较接近时，则根据色谱图特征及菌落生长特性进行综合判断。以脂肪酸混合标样校正保留时间。

## 2 结果与分析

### 2.1 甲胺磷降解细菌的分离

表 1 为土样稀释 10 倍后在含有甲胺磷浓度为 $4\text{ 000 mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的各培养基上的生长状况，从中分离、纯化出的菌株 67 株，可以看出：菌的生长状况和采集的位置并没有相关的规律。在 A、B、C 3 种培养基中，以培养基 A 生长较好，但同时也发现在只含有琼脂和甲胺磷的培养基中也有菌落长出，如 G8、G4、G10、G9、G11。

表 1 供试土壤中的甲胺磷降解细菌在培养基中的生长状况

Table 1 Growth of methamidoghos-degrading bacteria from soil samples in various culture media

培养基	排污口周边草坪中土壤				排污口沟口边泥				排污口底泥			
	G1	G3	G8	G2	G4	G5	G10	G6	G7	G9	G11	
A: 全营养培养基+ 甲胺磷	++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	++
B: 营养贫瘠培养基+ 甲胺磷	+	++	+	+	++	+	+	++	++	+	+	+
C: C、N 缺失培养基+ 甲胺磷	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+

注：“-”为没有菌生长；“+”为刚有菌生长；“++”为有较多的菌生长；“+++”为菌生长旺盛。

## 2.2 甲胺磷降解细菌的鉴定及生境分布特征分析

**2.2.1 甲胺磷降解细菌的鉴定** 从表 2 中可以看出，TSBA50 数据库里，对 67 株菌株进行鉴定的结果，SI 大于 0.5 的有 48 株，占总数的 72%，其中有 13 株的 SI 值大于 0.8；介于 0.3~0.5 的有 10 株；小于 0.3 的有 9 株，一共有 28 个种，20 个

属。其中芽孢杆菌属有 21 株两个种，假单胞菌属 19 株 7 个种。说明能在含有 $4\text{ 000 mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度甲胺磷的培养基上生长的细菌的种类较丰富，这从一定意义上也说明在自然界中确实存在着大量的对有机磷有降解作用的细菌。

表 2 甲胺磷菌株的脂肪酸鉴定结果

Table 2 Identification of methamidoghos-degrading bacteria by fatty acid analysis

菌株编号	菌株来源	相似系数	微生物种名	中文名称
1	G5	0.370		
2	G5	0.586	<i>A cinetobacter calcoaceticus</i>	醋酸钙不动杆菌
3	G4	0.36		
4	G3	0.145		
5	G9	0.773	<i>A quasipirillum autotrophicum</i>	自养水螺菌
6	G2	0.840		
7	G1	0.850		
8	G7	0.852		
9	G3	0.871		
10	G4	0.088		
11	G11	0.699		
12	G4	0.801		
13	G2	0.799		
14	G5	0.703		

续表2

菌株编号	菌株来源	相似系数	微生物种名	中文名称
15	G5	0.642	<i>Bacillus cereus</i>	蜡状芽孢杆菌
16	G5	0.814		
17	G7	0.769		
18	G5	0.595		
19	G1	0.653		
20	G2	0.59		
21	G6	0.482		
22	G6	0.767		
23	G2	0.772		
24	G5	0.781		
25	G6	0.848	<i>Bacillus megaterium</i>	巨大芽孢杆菌
26	G2	0.860		
27	G3	0.538	<i>Cedecea daviseae</i>	戴氏西地西菌
28	G10	0.798	<i>Citrobacter freundii</i>	弗氏柠檬酸杆菌
29	G8	0.883	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	泰勒氏肠杆菌
30	G8	0.769	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌
31	G8	0.734	<i>Ewingella americana</i>	美洲爱文菌
32	G7	0.116		
33	G4	0.676		
34	G4	0.696	<i>Hafnia alvei</i>	蜂房哈夫尼亚菌
35	G10	0.027	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	肺炎克雷伯菌肺炎亚种
36	G11	0.796	<i>Kluyvera ascorbutica</i>	抗坏血酸克吕沃尔菌
37	G6	0.338	<i>Kurthia sibirica</i>	西伯利亚库特氏菌
38	G10	0.200	<i>Pandoraea pomorum</i>	伯克菌科的菌
39	G8	0.609		
40	G8	0.677	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	铜绿假单胞菌
41	G10	0.588	<i>Pseudomonas agaricicola</i>	伞菌假单胞菌
42	G1	0.694	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	荧光假单胞菌
43	G10	0.269		
44	G5	0.454	<i>Pseudomonas putida</i>	恶臭假单胞菌
45	G11	0.631		
46	G8	0.782		
47	G11	0.718		
48	G10	0.743		
49	G11	0.791		
50	G8	0.399		
51	G10	0.477		
52	G1	0.226		
53	G10	0.407		
54	G4	0.342	<i>Pseudomonas syringae</i>	丁香假单胞菌
55	G11	0.599		
56	G8	0.892	<i>Pseudomonas vancouverensis</i>	温哥华假单胞菌
57	G8	0.888	<i>Pseudomonas veronii</i>	威隆假单胞菌
58	G2	0.701	<i>Ralstonia pickettii</i>	皮氏雷尔氏菌
59	G10	0.794	<i>Salmonella choleraesuis</i>	猪霍乱沙门菌
60	G4	0.518		
61	G11	0.718	<i>Salmonella typhimurium</i>	鼠伤寒沙门菌
62	G11	0.483	<i>Serratia marcescens</i>	粘质沙雷菌
63	G10	0.772		
64	G9	0.793	<i>Serratia odorifera</i>	气味沙雷菌
65	G2	0.848		
66	G9	0.885	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	嗜麦寡养食单胞菌
67	G4	0.011	<i>Streptococcus mitis</i>	缓症链球菌

注: 细菌鉴定仪对于 Similarity Index 的诠释是大于 0.500, 说明匹配性很高, 为典型的菌; 大于 0.300 小于 0.500, 说明匹配性较低, 为非典型菌种; 小于 0.300, 说明数据库没有此菌种的数据, 给出的是最接近的菌种。

## 2.2.2 甲胺磷降解菌的生境分布特征分析

2.2.2.1 不同生境中降解细菌的分布特征 表 3 为生长环境在草坪、沟口、排污口中的甲胺磷降解细菌的分布状况, 从中分别分离到了 16、35、16 种, 其中从排污口周边草坪中土壤中分离到 7 个属

10 个种; 从排污口沟口边泥分离到的 8 个属 12 个种; 从排污口底泥分离到 7 个属 8 个菌种。从中可以看出从沟口污泥中可以分离到的菌的种类和数量比在草坪和排污口底泥中的多。

表 3 不同生长环境中降解菌的分布特征

Table 3 Methamidogbos degrading bacteria in different habitats

生长环境	菌种类	属数量	菌株 数量	名 称
草坪周边中土壤	10	7	16	<i>Cedecea daviseae</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aquaspirillum autotrophicum</i> , <i>Enterobacter cancerogenus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas vancouverensis</i> , <i>Pseudomonas veronii</i>
沟中污泥	12	8	35	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas agarici</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> <i>Ralstonia pickettii</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>
排污口污泥	8	7	16	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Ewingella americana</i> , <i>Aquaspirillum autotrophicum</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Serratia odorifera</i>

2.2.2.2 不同种类的降解细菌在不同生境中的分布 表 4 为不同种类的甲胺磷降解菌在排污口周边草坪中土壤、沟口边泥、排污口底泥中的分布情况。其中蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 可在以上三种生境中大量存在; 自养水螺菌 (*Aquaspirillum autotrophicum*)、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)、丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*)、气味沙雷菌 (*Serratia odorifera*) 等 4 种菌可在其中的两种环境中存在; 而大部分菌只在某一种环境中特有, 如醋酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*)、弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*)、蜂房哈夫尼菌 (*Hafnia alvei*)、肺炎克雷伯菌肺炎亚种 (*Klebsiella pneumoniae*) 等只在沟口边泥中分离到; 戴氏西地西菌 (*Cedecea daviseae*)、大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) 等只在排污口周边草坪中土壤中分离到; 美洲爱文菌 (*Ewingella americana*)、抗坏血酸克吕沃尔菌 (*Kluyvera ascorbata*) 等只在排污口底泥中分离到。在各类降解细菌中, 芽孢杆菌属和假单胞菌属分别有 21、19 株, 其中蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 可在以上三种生境中大量存在, 只有自养水螺菌、巨大芽孢杆菌、丁香假单胞菌、气味沙雷菌) 等 4 种菌可在其中的两种环境中存在, 其他菌只在某一种环境中特有, 其中只在排污口周边草坪中土壤中分离到的菌有 7 种、沟口边泥 9 种、排污口底泥 5 种。

表 4 不同种类的甲胺磷降解菌在生境中的分布状况

Table 4 Distribution of different methamidogbos degrading bacteria in different habitats

种类	排污口周边 草坪中土壤	沟中的 污泥	排污口 的污泥
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		3	
<i>Aquaspirillum autotrophicum</i>	1		1
<i>Bacillus cereus</i>	3	10	4
<i>Bacillus megaterium</i>		3	1
<i>Cedecea daviseae</i>	1		
<i>Citrobacter freundii</i>		1	
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1		
<i>Escherichia coli</i>	2		
<i>Ewingella americana</i>			1
<i>Hafnia alvei</i>		2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		1	
<i>Kluyvera ascorbata</i>			1
<i>Kurthia sibirica</i>			1
<i>Pandoraea p nomenusa</i>		1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		
<i>Pseudomonas agarici</i>		1	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1		
<i>Pseudomonas putida</i>	3	6	2
<i>Pseudomonas syringae</i>		1	1
<i>Pseudomonas vancouverensis</i>	1		
<i>Pseudomonas veronii</i>		1	
<i>Ralstonia pickettii</i>		1	
<i>Salmonella choleraesuis</i>		1	
<i>Salmonella typhimurium</i>		1	1
<i>Serratia marcescens</i>			1
<i>Serratia odorifera</i>		2	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			1
<i>Streptococcus mitis</i>		1	

### 3 结论与讨论

目前已有不少学者进行甲胺磷降解细菌的筛选研究工作，并筛选到不少对甲胺磷有较高降解作用的菌株，如假单胞菌、芽孢杆菌、曲霉、青霉菌、黑曲霉、酵母菌、蜡状芽孢杆菌、嗜中温假单胞菌、梨形孢菌等<sup>[15-17]</sup>。本研究通过利用PLFA分析方法对农药厂周边不同的生境中甲胺磷降解细菌进行了分离、鉴定及分类，得到了22个属28个种，其中自养水螺菌、戴氏西地西菌、弗氏柠檬酸杆菌、泰勒氏肠杆菌、大肠埃希菌、美洲爱文菌、蜂房哈夫尼菌、肺炎克雷伯菌肺炎亚种、抗鼠伤寒沙门菌、坏血酸克吕沃尔菌、西伯利亚库特氏菌、伯克菌科的菌、皮氏雷尔氏菌、猪霍乱沙门菌、粘质沙雷菌、气味沙雷菌、嗜麦寡养食单胞菌、缓症链球菌等18种细菌作为甲胺磷降解细菌还未见报道，因此本研究极大的丰富了降解甲胺磷的细菌资源，并证实了对甲胺磷有降解作用的细菌存在种类的多样性及普遍性的特点。

研究还发现在排污口底泥，沟口边泥及排污口周边草坪中土壤3种不同的生境中，沟中污泥中可分离到的降解细菌的种类和数量最多，这可能是沟口边泥含有的甲胺磷的浓度较草坪中的土壤高但流动性较排污口底污泥低，从而有了长期高浓度的甲胺磷的驯化作用并达到产生大量的降解菌有关，从这一意义上说明通过对细菌的长期驯化作用将有利于相应的适应性菌的产生。另外，对不同种类的降解细菌在不同生境中的分布情况进行分析发现，芽孢杆菌属和假单胞菌属占所有分离细菌总数的59.7%，特别是蜡状芽孢杆菌和恶臭假单胞菌可以在以上3种环境中普遍存在，在已有的研究中也有报道芽孢杆菌、假单胞菌对甲胺磷的降解作用，是否因为这一类细菌中本身就含有能降解甲胺磷的基因或酶类物质还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 张帆, 张建新, 杨娜. 甲胺磷降解菌响应曲面法优化研究 [J]. 西北农业学报, 2007, 16 (2): 178- 182.
- [2] 李健, 郑庆柱, 董爱荣. 甲胺磷降解菌的筛选及降解速率 [J]. 东北林业大学学报, 2004, 32 (1): 51- 54.
- [3] 明惠青, 李莉. 甲胺磷降解菌的筛选及降解特性研究 [J]. 微生物学杂志, 2006, 26 (2): 60- 62.
- [4] 郑永良, 刘德立, 刘世旺. 甲胺磷农药降解菌的筛选鉴定及其降解效能研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2007, 41 (1): 95- 98.
- [5] 周启星. 土壤环境污染化学与化学修复研究最新进展 [J]. 环境化学, 2006, 25 (3): 257- 266.
- [6] 尤民生, 刘新. 农药污染的生物降解与生物修复 [J]. 生态学杂志, 2004, 23 (1): 73- 77.
- [7] VESTAL J R, WHITE D C. Lipid analysis in microbial ecology: Quantitative approaches to the study of microbial communities [J]. Bioscience, 1989, 39: 535- 541.
- [8] LIU B R, JIA G M, Chen J, et al. A review of methods for studying microbial diversity in soils [J]. Pedosphere, 2006, 16 (1): 18- 24.
- [9] JENNIFER M, FRATERRIGO, TERI C, et al. Microbial community variation and its relationship with nitrogen mineralization in historically altered forests [J]. Ecology, 2006, 87 (3): 570- 579.
- [10] STEGER K, JARVIS A, SMARS S, et al. Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost [J]. Journal of Microbiological Methods, 2003, 55 (2): 371- 382.
- [11] 王秋红, 蓝江林, 朱育菁. 脂肪酸甲酯谱图分析方法及其在微生物学领域的应用 [J]. 福建农业学报, 2007, 22 (2): 213- 218.
- [12] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.
- [13] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 4.
- [14] 王秋红, 陈亮, 林营志, 等. 福建省青枯雷尔氏菌脂肪酸多样性研究 [J]. 中国农业科学, 2007, 39 (8): 1675- 1687.
- [15] MALLICK K, BHARATI K, BANERJI A, et al. Baeteria degradation of chlorpyifos in pure culture and in soil [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1999, 62: 48- 54.
- [16] PCRKOVICH B S, ANDERSON T A, Kruger E L, et al. Enhanced Mineralization of C14 Atrazine in Koehia Scoparia Rhizosphere Soil from a Pesticide Contaminated Soil [J]. Pest Sci, 1996, 46: 391- 396.
- [17] 张超, 李冀新. 微生物降解有机磷农药残留机理及菌种筛选研究进展 [J]. 农业科学与管理, 2006, 27 (4): 29- 33.

(责任编辑: 林海清)