

南通嗜铜菌 X1^T 对丙溴磷手性对映体的选择性降解特性

陈天铭, 方连城, 花日茂*

(安徽省农产品质量安全重点实验室, 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要: 有机磷杀虫剂已被广泛用于控制农业害虫, 其在农产品与环境样本中的残留引起人们的关注。课题组前期筛选了一株有机磷杀虫剂高效降解菌株, 南通嗜铜菌 X1^T (*Cupriavidus nantongensis* X1^T)。研究了菌株 X1^T 对手性有机磷杀虫剂丙溴磷对映体在不同底物浓度、菌量、pH、金属离子条件下的降解特性。结果表明, 菌株 X1^T 可以优先选择性降解高毒低效对映体 S-丙溴磷。随着底物浓度的升高, 菌株 X1^T 对丙溴磷对映体的降解速率逐渐减慢; 菌株 X1^T 降解丙溴磷的最适 pH 为 7.5; 金属离子价态是影响丙溴磷降解的重要影响因素, 其中 Cr³⁺ 与 Fe³⁺ 等 3 价金属阳离子显著抑制菌株对丙溴磷降解, Ca²⁺、Mn²⁺、Mg²⁺、Co²⁺、Ni²⁺ 等 2 价金属阳离子显著促进菌株对 S-丙溴磷降解。同时, 菌株 X1^T 中降解酶粗酶与异源表达的纯酶对丙溴磷手性对映体的降解速率无显著性差异。结果为丙溴磷残留污染的生物修复技术提供理论依据。

关键词: 丙溴磷; 南通嗜铜菌 X1^T; 手性; 对映体选择性; 生物降解

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2023)05-0876-05

Enantioselective degradation characteristic of chiral profenofos by *Cupriavidus nantongensis* X1^T

CHEN Tianming, FANG Liancheng, HUA Rimao

(Key Laboratory of Anhui Agricultural Product Quality and Safety, School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: Organophosphorus insecticides (OPs) have been widely used to control agricultural pests, which has raised concerns about OPs residues in crops and the environment. The research group had previously isolated a highly efficient OPs degradation strain, *Cupriavidus nantongensis* X1^T. In this study, the degradation characteristics of chiral organophosphorus pesticide profenofos by strain X1^T under different substrate concentrations, bacterial counts, pH and metal ions were measured. The results showed that strain X1^T could preferentially degrade S-profenofos with high toxicity and low insecticidal activity. With the increase of substrate concentration, the degradation rate of profenofos by strain X1^T gradually slowed down the optimal pH of profenofos degradation by strain X1^T was 7.5; the valence state of metal ions was an important factor to affect the degradation of profenofos, of which Cr³⁺ and Fe³⁺ could inhibit the degradation of profenofos, while Ca²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺, Co²⁺, Ni²⁺ could promote the degradation of S-profenofos. Meanwhile, there was no significant difference between the degradation rate of S-profenofos and R-profenofos by the crude enzyme in strain X1^T and purified enzyme opdB. The results provide a theoretical basis for bioremediation of profenofos residuals.

Key words: profenofos; *Cupriavidus nantongensis* X1^T; chiral; enantioselective; biodegradation

丙溴磷是我国常用的一种有机磷杀虫剂, 主要用于水稻、棉花、甘蓝等作物上二化螟、稻纵卷叶螟、棉铃虫、红蜘蛛等害虫的防治^[1-5]。丙溴磷除了对靶昆虫有杀虫活性, 对人等哺乳动物同样有毒。研究发现, 丙溴磷具有发育和生殖毒性, 对体细胞

和生殖细胞的染色体畸变均有影响, 具有潜在的致突变性^[6]。同时, 丙溴磷在土壤中有较长的残留期, 半衰期长达 100 多天。其在环境中较长的半衰期不仅造成农田环境污染, 同时对于农产品质量安全产生较高风险。

收稿日期: 2022-11-02

基金项目: 国家自然科学基金 (31972314) 资助。

作者简介: 陈天铭, 硕士研究生。E-mail: 846947007@qq.com

* 通信作者: 花日茂, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: rimaohua@ahau.edu.cn

丙溴磷还是一种手性农药, 手性农药是神经抑制剂, 破坏神经传导, 对映体差异率达到 60 多倍。其具有 2 个手性对映体, 其中 R-丙溴磷表现主要的杀虫活性, 而 S-丙溴磷对人等哺乳动物的毒性更大^[7]。

有研究发现, 农田土壤中 R-丙溴磷降解速率快于 S-丙溴磷^[8]。微生物降解是手性农药降解和产生对映体差异的主要原因, 丙溴磷进入农田环境后微生物可以选择性降解同一手性农药的不同对映体, 而对映体降解速度的差异将导致防治效果及环境毒性的差异^[9-10]。近年来, 虽然一些丙溴磷的降解菌株被筛选、分离与鉴定, 如 Da Silva 等^[11]筛选得到了 *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 和 *Penicillium raistrickii* CBMAI 931, 前者能将 50 mg·L⁻¹ 丙溴磷在 10 d 时降解 50%, 在 20 d 降解 71%, 后者能将 50 mg·L⁻¹ 丙溴磷在 10 d 降解 64.7%; Salunkhe 等^[12]筛选得到的 *Bacillus subtilis* DR-39 能将 5 mg·L⁻¹ 丙溴磷在 15 d 降解 79%。但是, 这些降解菌株在丙溴磷降解过程中并没有发现具有对映体选择性降解效应。

课题组前期筛选了 1 株有机磷农药高效降解菌株, 南通嗜铜菌 X1^T (*Cupriavidus nantongensis* X1^T), 该菌株可以高效降解毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷、辛硫磷、三唑磷和丙溴磷等 10 余种有机磷农药及多种卤代苯酚。本研究在前期研究基础上进一步探明菌株 X1^T 对丙溴磷的对映体选择性降解特性, 可以为丙溴磷等有机磷手性杀虫剂在农田环境中的生物修复技术提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

丙溴磷标准品 (纯度 99.5%) 购自 Dr. Ehrenstorfer。R-丙溴磷与 S-丙溴磷由大赛璐药物手性技术 (上海) 有限公司拆分。除色谱纯乙腈与丙酮用于丙溴磷及其代谢物提取与检测外, 其余培养试剂均为分析纯。

南通嗜铜菌 X1^T 为实验室前期筛选保存。

LB 液体培养基: 称取酵母浸粉 5 g、NaCl 5 g、胰蛋白胨 10 g 于适量 ddH₂O 中, 加热至完全溶解, 调节 pH 值至 7.4, 定容至 1 L, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却至室温, 保存备用。

无机盐培养基 (MSM): 称取 NaCl 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.1 g, KH₂PO₄ 0.3 g 和 K₂HPO₄ 1.32 g 于适量 ddH₂O 中, 加热至完全溶解, 调节 pH 值至 7.4, 定容至 1 L, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min,

冷却至室温, 保存备用。

Tris-HCl 缓冲液: 称取 Tris-HCl 7.88 g 于适量去离子水中, 加热至完全溶解, 调节 pH 值为 7.0~7.5, 超纯水定容至 1 L。121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却至室温, 保存备用。

PB 缓冲液: 称取 NaH₂PO₄·2H₂O 2.434 g 和 Na₂HPO₄·12H₂O 8.74 g, 于 1 000 mL 的去离子水中溶解, 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备 从 -80 °C 超低温冰箱中拿出已经保存好的含有菌株 X1^T 的甘油管, 用接种环蘸取含有菌株 X1^T 的甘油管, 在提前倒好并已经冷却凝固的 LB 培养基上进行平板划线。倒置于 37 °C 恒温培养箱孵育 24 h。活化培养后, 用接种环挑取单菌落, 接种于含 100 mL 的 LB 液体培养基的锥形瓶中, 放置 37 °C, 150 r·min⁻¹ 的恒温振荡培养箱中培养 12 h。从恒温摇床中取出培养好的菌株 X1^T, 转置 50 mL 离心管中, 以 10 000 r·min⁻¹ 离心 8 min 收集菌体, 弃去上清液, 用 MSM 重悬菌株 X1^T, 涡旋使细胞混合均匀, 再次离心, 重复 3 次重悬洗菌。在紫外可见分光光度计 600 nm 波长条件下, 用 MSM 调成菌悬液 OD 值至 0.6, 保存备用。

1.2.2 粗酶液的制备 用接种环挑取菌株 X1^T 单菌落, 接种于含 100 mL 的 LB 液体培养基的锥形瓶中, 放置 37 °C, 150 r·min⁻¹ 的恒温振荡培养箱中培养 12 h。从恒温摇床中取出培养好的菌株 X1^T, 转置 50 mL 离心管中, 以 10 000 r·min⁻¹ 离心 8 min 收集菌体, 弃去上清液, 用 MSM 重悬菌株 X1^T, 涡旋使细胞混合均匀, 再次离心, 重复 3 次重悬洗菌。在紫外可见分光光度计 600 nm 波长条件下, 用 PB 缓冲液调成菌悬液 OD 值至 0.6, 保存备用。

将调好的菌悬液用超声波破碎仪在冰浴条件下破碎, 250 W 功率, 工作 20 min (运行 3 s, 停止 3 s), 工作 200 次至溶液变清亮。在 4 °C 以 12 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 收集上清液 (粗酶液), 保存备用。

1.2.3 无机盐中丙溴磷的添加回收实验 在比色管中加入 5 mL 无机盐培养基和一定浓度的丙溴磷标准品母液, 使溶液的终浓度为 1、5 和 25 mg·L⁻¹, 涡旋混匀静置 4 h 后, 加入等体积的乙腈提取, 过 0.22 μm 有机滤膜并打入进样瓶待测, 每个浓度和空白对照均设置 5 个平行, 计算回收率、相对标准偏差。

1.2.4 菌株 X1^T 对丙溴磷手性对映体分子选择性降解特性 取 1 mL 活化后的菌株 X1^T 菌悬液于 100

mL LB 液体培养基中, 37 °C 恒温振荡培养至 OD₆₀₀ 达到 0.8。用灭菌的无机盐培养基 (MSM) 洗涤菌体 2 次, 离心收集菌体。将收集后的菌株 X1^T 加入到含有一定浓度 Rac-丙溴磷, R-丙溴磷与 S-丙溴磷的 MSM 培养基中 37 °C 恒温振荡培养, 分别于 0、2、4、6、12、24、36、48 和 72 h 取样, 利用 UPLC 测定丙溴磷残留量。分别利用上述方法测定不同初始浓度 (10、20 和 50 mg·L⁻¹), 不同 pH (3~11), 不同菌量 (10⁶、10⁷ 和 10⁸ CFU), 5 mmol·L⁻¹ 不同金属离子 (Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺、Cr³⁺ 和 Fe³⁺) 条件下丙溴磷的降解动力学和降解率。

1.2.5 菌株 X1^T 中粗酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学 取与 1.2.3 相同菌量的菌株 X1^T, 重悬于预冷的 Tris-HCl 缓冲液, 利用超声破碎仪对细胞进行破碎, 待破碎完全后, 离心取上清液即为粗酶液。取 1 mL 粗酶液, 分别加入 R-丙溴磷与 S-丙溴磷, 至终浓度为 20 mg·L⁻¹, 37 °C 恒温孵育。分别于 0、30、60、120、240 和 360 min 取样, 各反应液中加入 1 mL 乙腈终止反应, 反应液离心后过 0.22 μm 滤膜后, 利用 UPLC 测定丙溴磷的残留浓度。

1.2.6 纯酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学 取 1 mL OpdB 纯酶, 分别加入 R-丙溴磷与 S-丙溴磷, 至终浓度为 10 mg·L⁻¹, 37 °C 恒温孵育。分别于 0、12、24、36、48 和 60 h 取样, 各反应液中加入 1 mL 乙腈终止反应, 反应液离心后过 0.22 μm 滤膜后, 利用 UPLC 测定丙溴磷的残留浓度。

1.2.7 丙溴磷手性对映体的 UPLC 检测方法 利用 UPLC 测定反应液中丙溴磷的残留浓度。色谱柱: Chiralpak AD-3R, 3 μm, 2.1×150 mm; 柱温: 40°C;

流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A) : 乙腈 (B) = 44 : 45, *V/V*, 等度洗脱; 检测波长 230 nm; 流速: 0.35 mL·min⁻¹; 进样体积: 20 μL。

2 结果与分析

2.1 无机盐水溶液中丙溴磷的添加回收实验

在 MSM 中, 不同浓度水胺硫磷和丙溴磷的添加回收结果如表 1 所示, 丙溴磷的平均添加回收率在 95.6%~101.9%, 说明该方法准确度和灵敏度满足农药残留分析降解测定的要求。

表 1 丙溴磷在 MSM 中的添加回收率

Table 1 Recoveries of profenofos in MSM

农药	添加浓度/(mg·L ⁻¹)	添加回收率/%
丙溴磷	1	95.6±2.0
	5	96.9±2.3
	25	101.9±1.7

2.2 菌株 X1^T 对丙溴磷手性对映体分子选择性降解特性

2.2.1 不同底物浓度对菌株 X1^T 降解丙溴磷手性对映体的影响 菌株 X1^T 对 10、20 和 50 mg·L⁻¹ Rac-丙溴磷的降解动力学结果 (表 2) 显示, 菌株 X1^T 对 S-丙溴磷的降解速率快于 R-丙溴磷。在 10、20 和 50 mg·L⁻¹ Rac-丙溴磷初始浓度条件下, 菌株 X1^T 作用条件下 S-丙溴磷的降解速率常数分别是 R-丙溴磷的 1.86、2.17 与 2.09 倍。同时, 随着底物浓度的升高, 菌株 X1^T 对丙溴磷的降解速率逐渐减慢。其可能的原因是丙溴磷在环境中的主要代谢产物, 2-氯-4-溴苯酚, 该物质具有抑菌活性, 其在反应液中的积累会抑制母体化合物的降解。

表 2 不同底物浓度下菌株 X1^T 对丙溴磷手性对映体的降解动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of substrate concentration on degradation of chiral enantiomers of profenofos by strain X1^T

底物浓度/(mg·L ⁻¹)	丙溴磷手性对映体	动力学方程	降解速率常数/h ⁻¹
10	S-丙溴磷	$C=9.66e^{-0.156t}$	0.156±0.007
	R-丙溴磷	$C=9.26e^{-0.082t}$	0.084±0.007
20	S-丙溴磷	$C=18.7e^{-0.078t}$	0.078±0.007
	R-丙溴磷	$C=19.8e^{-0.036t}$	0.036±0.003
50	S-丙溴磷	$C=45.2e^{-0.023t}$	0.023±0.001
	R-丙溴磷	$C=47.1e^{-0.011t}$	0.011±0.001

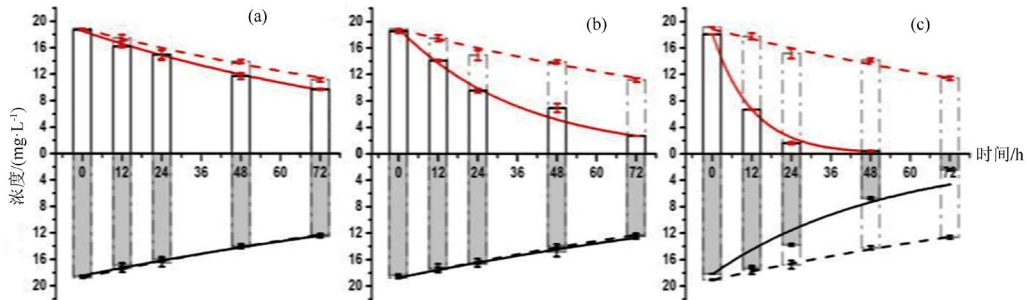
2.2.2 不同接菌量对菌株 X1^T 降解丙溴磷手性对映体的影响 不同菌量条件下菌株 X1^T 对 20 mg·L⁻¹ 丙溴磷手性对映体的降解 (图 1) 显示, 当菌量低于 10⁶ CFU 时, 丙溴磷几乎不能降解; 当菌量为 10⁷ CFU 时, 菌株 X1^T 仅能降解 S-丙溴磷, 而不能降解 R-丙溴磷; 当菌量高于 10⁸ CFU 时, 菌株 X1^T 既可

以降解 S-丙溴磷, 又可以降解 R-丙溴磷, 但对 S-丙溴磷的降解速率要快于 R-丙溴磷。

2.2.3 不同 pH 对菌株 X1^T 降解丙溴磷手性对映体的影响 不同 pH 条件下菌株 X1^T 对 20 mg·L⁻¹ 丙溴磷手性对映体的降解率 (图 2) 显示, 菌株 X1^T 在 pH 5~10 范围内均可以降解丙溴磷, 其最适降解 pH

为 7.5, 这与菌株 X1^T 的最适生长 pH 一致。进一步将 36 h 后的反应液中的活菌数量进行测定发现, pH 主要通过影响活菌数量而影响菌株对丙溴磷的降

解。同时, 菌株 X1^T 在不同 pH 条件下对 S-丙溴磷的降解速率仍然快于 R-丙溴磷。



(a)10⁶ CFU; (b)10⁷ CFU; (c)10⁸ CFU; 红色曲线代表 S-丙溴磷降解动态; 黑色曲线代表 R-丙溴磷降解动态

图 1 不同菌量条件下菌株 X1^T 对丙溴磷手性对映体的降解动力学

Figure 1 Degradation kinetics of profenofos chiral enantiomers by strain X1^T under different bacterial abundance

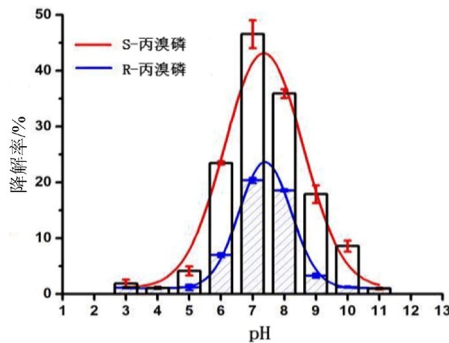


图 2 不同 pH 菌株 X1^T 对丙溴磷手性对映体的降解动力学
Figure 2 Degradation kinetics of profenofos chiral enantiomers by strain X1^T at different pH

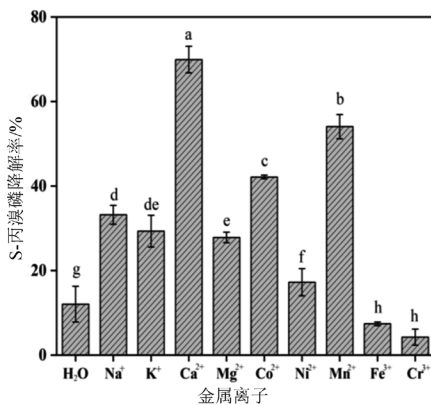


图 3 不同金属离子对菌株 X1^T 降解 S-丙溴磷对映体的影响
Figure 3 Effects of different metal ions on degradation of S-profenofos enantiomers by strain X1^T

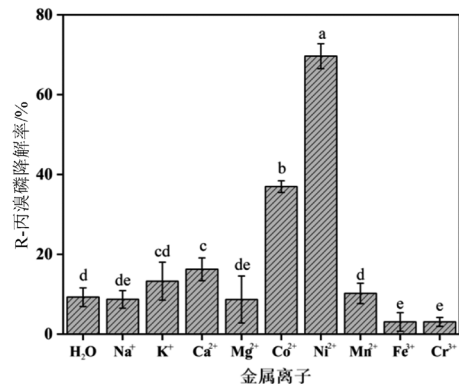


图 4 不同金属离子对菌株 X1^T 降解 R-丙溴磷对映体的影响
Figure 4 Effects of different metal ions on degradation of R-profenofos enantiomers by strain X1^T

表 3 粗酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学参数

Table 3 Kinetic parameters of enzymatic degradation of profenofos chiral enantiomers

底物浓度/(mg·L ⁻¹)	丙溴磷手性对映体	动力学方程	降解速率常数/h ⁻¹
10	S-丙溴磷	C=8.07e ^{-0.110t}	0.110±0.007
	R-丙溴磷	C=8.10e ^{-0.113t}	0.113±0.007

2.3 粗酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学
菌株 X1^T 破碎获得的粗酶对 10 mg·L⁻¹ 丙溴磷

手性对映体的降解动力学参数(表 3)显示, 粗酶可以降解 S-丙溴磷与 R-丙溴磷。但与菌株不同的

是,粗酶对 S-丙溴磷与 R-丙溴磷的降解速率无显著性差异。

2.4 OpdB 纯酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学菌株 X1^T 中有机磷水解酶 OpdB 纯酶对 5

mg·L⁻¹ 丙溴磷手性对映体的降解动力学参数(表 4)显示, opdB 纯酶可以降解 S-丙溴磷与 R-丙溴磷。与菌株 X1^T 粗酶相同, OpdB 纯酶对 S-丙溴磷与 R-丙溴磷的降解速率无差异。

表 4 OpdB 纯酶对丙溴磷手性对映体的降解动力学参数

Table 4 Kinetic parameters of OpdB pure enzyme degradation of profenofos chiral enantiomers

底物浓度/(mg·L ⁻¹)	丙溴磷手性对映体	动力学方程	降解速率常数/h ⁻¹
5	S-丙溴磷	$C=3.79e^{-0.023t}$	0.023±0.0006
	R-丙溴磷	$C=3.77e^{-0.023t}$	0.023±0.0005

3 讨论和结论

菌株 X1^T 可以高效降解有机磷杀虫剂丙溴磷。同时可以优先选择性降解丙溴磷高毒低效对映体 S-丙溴磷, 而保留高效低毒对映体 R-丙溴磷。初始接种量的大小也对农药污染场地的生物修复过程的有效性起着重要作用^[14]。有研究发现, 辛硫磷降解菌株 *Delftia sp.*XSP-1 初始接菌量与降解速率呈正比, 但是当接菌量超过 10% 时降解速率没有显著性差异^[15]。苯酚降解菌株 *Arthrobacter sp.*F5-2 在降解苯酚时也发现相同的规律, 这可能是降解菌的群感效应所导致^[16]。金属离子价态是影响丙溴磷降解的重要影响因素, 张立志等实验发现, Mg²⁺ 能促进丛毛单胞菌降解邻甲芬和对甲酚, Co²⁺、Ni²⁺ 和 Cu²⁺ 则对降解具有抑制作用^[17]。本研究中 Ca²⁺、Mn²⁺、Mg²⁺、Co²⁺、Ni²⁺ 等 2 价金属阳离子均促进菌株对丙溴磷降解, 3 价金属阳离子 Cr³⁺ 与 Fe³⁺ 则抑制菌株对 S-丙溴磷降解。

在微生物降解时, 应选择最佳的降解条件, 以最大限度的发挥菌株 X1^T 的作用。研究手性丙溴磷的环境行为具有重要的理论和实际应用价值, 能更准确地评价其生态毒性及其对人体健康的影响, 符合我国农业可持续发展的要求。本实验研究结果为丙溴磷等有机磷手性杀虫剂在农田环境中的生物修复技术提供理论依据。

参考文献:

[1] HE J, FAN M T, LIU X J. Environmental behavior of profenofos under paddy field conditions[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2010, 84(6): 771-774.
 [2] TALEBI K, GHASSAMI M R. Residues of profenofos in spring onion[J]. Commun Agric Appl Biol Sci, 2004, 69(4): 799-802.
 [3] LATHEEF M A. Influence of spray mixture rate and nozzle size of sprayers on toxicity of profenofos and thiodicarb formulations against tobacco budworm on cotton[J]. Crop Prot, 1995, 14(5):423-427.
 [4] KELAGERI S S, RAO C S, BHUSHAN V S, et al. Risk analysis of profenofos on tomato in poly house and open fields and risk mitigation methods for removal of

profenofos residues from tomato for food safety[J]. Intern Jour Agricul, Environ And Biotech, 2014, 8(1): 163-170.
 [5] ROSELEEN S S J, RAMARAJU K. Acaricidal effects and residues of profenofos and abamectin on the nut-infesting eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Prostigmata) on coconut[J]. Int J Acarol, 2012, 38(6): 465-470.
 [6] FAHMY M A, ABDALLA E F. Genotoxicity evaluation of buprofezin, petroleum oil and profenofos in somatic and germ cells of male mice[J]. J Appl Toxicol, 1998, 18(5): 301-305.
 [7] NILLOS M G, GAN J, SCHLENK D. Chirality of organophosphorus pesticides: analysis and toxicity[J]. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci, 2010, 878(17/18): 1277-1284.
 [8] 李朝阳, 张焯, 罗湘南, 等. 手性有机磷农药在土壤中对映体选择性降解特征[J]. 生态环境学报, 2009, 18(4): 1247-1250.
 [9] DIAO J L, LV C G, WANG X Q, et al. Influence of soil properties on the enantioselective dissipation of the herbicide lactofen in soils[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(13): 5865-5871.
 [10] MEIJER S N, HALSALL C J, HARNER T, et al. Organochlorine pesticide residues in archived UK soil[J]. Environ Sci Technol, 2001, 35(10): 1989-1995.
 [11] DA SILVA N A, GARCIA BIROLI W, REGALI SELEGHIM M H, et al. Biodegradation of the organophosphate pesticide profenofos by marine fungi[M]// YOGESH B PATIL, PRAKASH RAO. Applied bioremediation: Active and passive approaches. InTech, 2013.
 [12] SALUNKHE V P, SAWANT I S, BANERJEE K, et al. Biodegradation of profenofos by *Bacillus subtilis* isolated from grapevines (*Vitis vinifera*) [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(30): 7195-7202.
 [13] SHI T Z, FANG L C, QIN H, et al. Minute-speed biodegradation of organophosphorus insecticides by *Cupriavidus nantongensis* X1^T [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(49): 13558-13567.
 [14] RAMADAN M A, EL-TAYEB O M, ALEXANDER M. Inoculum size as a factor limiting success of inoculation for biodegradation[J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56(5): 1392-1396.
 [15] 沈雨佳, 洪源范, 洪青, 等. 辛硫磷降解菌 XSP-1 的分离、鉴定及其降解特性研究[J]. 环境科学, 2007, 28(12): 2833-2837.
 [16] 何熙璞, 刘鸿杰, 张敏, 等. 苯酚降解菌 F5-2 的分离鉴定及其降解特性[J]. 高校化学工程学报, 2012, 26(6): 1001-1008.
 [17] 张立志, 余思彤, 袁欣, 等. 丛毛单胞菌对邻甲酚及对甲酚的降解特性[J]. 环境污染与防治, 2020, 42(7): 820-825.