

Ekplorasi Bakteri dari Air Laut yang Resisten Terhadap Pestisida Organofospat Khlorpirifos di Perairan Pantai Utara Jawa Tengah

Chrisna Adhi Suryono¹, Agus Indarjo^{1*}, Baskoro Rochaddi², Willis Ari Setyati¹

¹Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Departemen Oseanografi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang Semarang 50275 Indonesia
Email: indarjoa@yahoo.com

Abstract

Bacteria Resistant to Chlorpyrifos Organophosphate Pesticides Isolated from Marine Water of North Coastal Waters of Central Java

Chlorpyrifos from agricultural activities eventually will flow to marine waters through rivers. This research was conducted to determine the resistance of bacteria from seawater of 100ppm Chlorpyrifos. Three of the five bacterial strains was isolated from seawater from Brebes and Pati, Central Java were selected because they were resistant to the pesticide chlorpyrifos. Analysis of 16S rRNA gene sequences showed that the isolates belonged to the genus *Virgibacillus* spp. (2 strains) and *Bacillus* sp (1 strain). This bacterial strain has great potential ability to bioremediation of coastal waters of Brebes and Pati, Central Java from chlorpyrifos pesticide residues.

Keywords: Resistant, Chlorpyrifos, *Bacillus albus*, *Virgibacillus salaries*

Abstrak

Khlorpirifos dari hasil kegiatan pertanian lama kelamaan akan menuju ke perairan laut melalui aliran sungai. Penelitian dilakukan untuk mengetahui resistensi bakteri dari air laut yang tahan terhadap 100ppm Khlorpirifos. Tiga dari lima strain bakteri yang diisolasi dari air laut dari Brebes dan Pati Jawa Tengah dipilih karena resisten terhadap pestisida khlorpirifos. Analisis sekuens gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat termasuk dalam genus *Virgibacillus* sp. (2 strain) dan *Bacillus* sp (1 strain). Strain bakteri ini memiliki potensi penggunaan yang besar untuk bioremediasi perairan pesisir Brebes dan Pati Jawa Tengah dari residu pestisida klorpirifos.

Kata Kunci: Resistensi, Khlorpirifos, *Bacillus albus*, *Virgibacillus salaries*

PENDAHULUAN

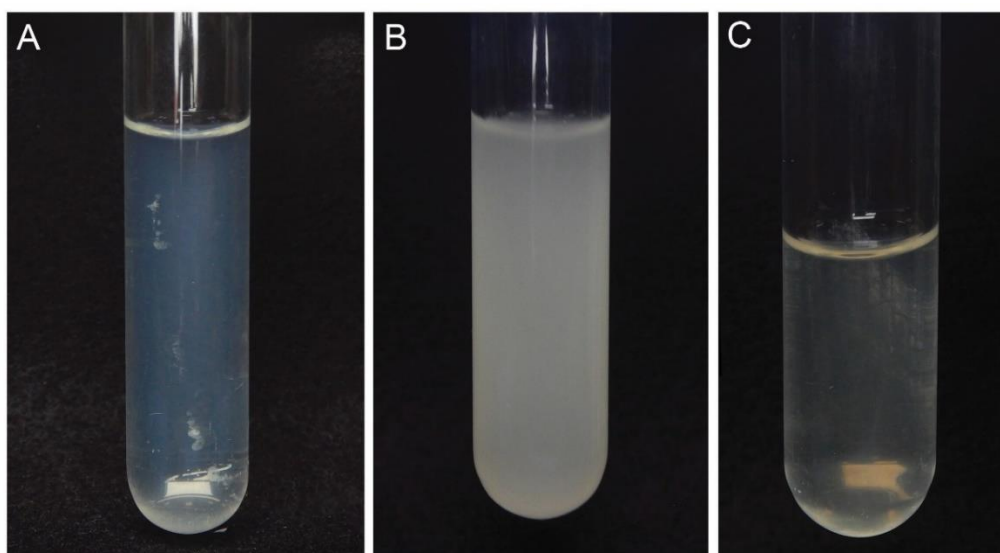
Pesisir Utara Pulau Jawa merupakan daerah pertanian yang sangat luas dan untuk mendukung keberhasilan pertanian dibutuhkan pestisida. Pestisida yang saat ini banyak digunakan adalah dari jenis Organofospat seperti Khlorpirifos. Senyawa pestisida Klorpirifos memiliki struktur kimia [O, O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate] banyak digunakan di pertanian, perkebunan dan rumah tangga (Wang *et al.*, 2013).

Pestisida klorpirifos paling banyak digunakan sebagai pengendali hama di Indonesia sejak revolusi hijau yang dicanangkan pemerintah pada tahun 1965. Meluasnya penggunaan pestisida ini telah menyebabkan pencemaran lingkungan yang luas, seperti di tanah, danau dan air (Isworo *et al.*, 2015). Relyea (2009) melaporkan bahwa beberapa ekosistem darat dan air terkontaminasi oleh pestisida Khlorpirifos. Penggunaan Khlorpirifos dapat berdampak pada komunitas perairan seperti plankton, katak dan hewan lainnya (Bendis dan Relyea 2016). Beberapa jenis karang di perairan Laut Jawa mendeteksi adanya senyawa Khlorpirifos pada jaringan karang. (Sabdono *et al.*, 2007). Beberapa pestisida organofosfat seperti Khlorpirifos, Fenitrotion dan Profenofos telah mencemari organisme benthik (*Anadara inaequalis*, *Perna viridis* dan *Atrina pectinata*) di Surabaya, Semarang, Demak dan Brebes (Suryono *et al.*, 2019a; Suryono *et al.*, 2019a; Suryono *et al.*, 2021). Meskipun pestisida organofosfat seperti Khlorpirifos lebih cepat rusak, memiliki dampak yang lebih ringan, dan lebih aman serta tidak terlalu beracun dibandingkan organoklorin. Namun

pestisida organoposfat merupakan pestisida paling populer dan penggunaannya terus berkembang karena murah, kemampuan, spektrum aplikasi yang luas, kemampuan pengendalian multi-hama dan kurangnya bertahan lama di alam (Dujaković *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Sapbamrer dan Hongsibsong, 2014). Namun dengan penggunaan yang tanpa henti dan tanpa protokol yang benar lama kelamaan akan menimbulkan permasalahan di lingkungan baik darat maupun perairan. Upaya remediasi residu pestisida tersebut salah satunya dengan menggunakan bakteri yang mampu mendegradasi pestisida tersebut baik yang berasal dari lingkungan darat maupun perairan. Beberapa penelitian di Indonesia telah menunjuk bahwa bakteri mampu mendegradasi pestisida jenis Khlorpirifos dari berbagai sumber seperti air dan sedimen danau air tawar (Isworo *et al.*, 2015), tanah pertanian (Sulaeman *et al.*, 2016), air tanah (Rochaddi *et al.*, 2019), kerang laut (Suryono *et al.*, 2021). Salah satu cara yang paling baik saat ini untuk mencari bakteri yang mampu mendegradasi atau resisten terhadap bakteri adalah secara molekuler. Beberapa penelitian telah dilakukan mengenai identifikasi bakteri pada tingkat molekuler yang dapat mendegradasi kelompok pestisida organofosfat tertentu. Beberapa gen pendegradasi pestisida Khlorpirifos (gen *mpd* dan *opd*) ditemukan pada beberapa bakteri (Yang *et al.*, 2006). Sebagian besar gen degradasi ini dikodekan dalam plasmid mereka dalam urutan DNA yang sama. Berbeda dengan hasil penelitian Horne *et al.* (2002) bahwa gen pendegradasi pestisida Khlorpirifos pada bakteri *Agrobacterium radiobacter* dikodekan dalam kromosomnya, tetapi mempertahankan urutan DNA yang mirip dengan gen *opd* pada spesies bakteri lainnya. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mencari bakteri yang resisten terhadap klorpirifos pada air laut dengan mengidentifikasi secara molekuler.

MATERI DAN METODE

Sampel bakteri diperoleh dari isolasi bakteri dari sampel air laut dengan menggunakan metode seri pengenceran - *spread plate* dengan media Nutrien Agar (NA). Purifikasi ke dalam tabung reaksi dengan metode *streak* (media miring Nutrien Agar) sebagai stok (Laili dan Hartati, 2011). Inokulasi bakteri resisten Khlorpirifos dilakukan menggunakan media cair zobell 2216E yang diperkaya Khlorpirifos 100 ppm. Kultur uji di shaker dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruangan selama 3 x 24 jam (Laili dan Hartati, 2011). Uji isolate bakteri resistensi terhadap penambahan 100 ppm Khlorpirifos dapat dilihat dalam (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Uji Resistensi Bakteri pada Media dengan Penambahan Khlorpirifos 100 ppm. (A) Kontrol Media Bakteri dengan Khlorpirifos 100 ppm, (B) Bakteri Resistensi diketahui dengan adanya Bakteri yang Tumbuh, (C) Bakteri yang tidak dapat Tumbuh pada media Khlorpirifos 100 ppm

Isolat bakteri hasil inokulasi diidentifikasi secara molecular berdasarkan sekuens gen 16 S rRNA. DNA bakteri diekstraksi menggunakan saponin dan chelex resin. DNA genom yang diperoleh selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer primer depan (Forward) 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan primer belakang (Reverse) HCO2198: 3'- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA -5'. Proses amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus, yang terdiri dari denaturasi pada suhu 96 °C selama 10 detik, annealing pada suhu 50 °C selama 60 detik, dan suhu pemanjangan 72 °C selama 90 detik. Proses PCR diakhiri dengan pemanjangan akhir pada suhu 72 °C selama 4 menit. Hasil amplifikasi selanjutnya dilakukan sekuensing urutan basa nitrogennya. Proses sekuensing dilakukan oleh PT. Genetika Science, Tangerang Data sekuens *forward* dan *reverse* selanjutnya dilakukan editing menggunakan program MEGA 7 (Sabdono *et al.*, 2007).

Identifikasi spesies dilakukan dengan membandingkan data fasta sekuens masing-masing bakteri dengan database yang ada di gene bank menggunakan fasilitas BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) pada National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA (www.ncbi.nlm.nih.gov; NCBI). Analisis kemungkinan maksimum (maximum likelihood) digunakan untuk membangun pohon filogenetik. Multiple alignment / berpasangan urutan DNA dianalisis oleh Clustal X (Thompson *et al.*, 1997). Perangkat lunak PAUP * 4.0 digunakan untuk membangun pohon filogenetik (Swofford, 1998). Nomor aksesori urutan nukleotida Urutan nukleotida gen 16S rDNA parsial dari strain yang dipilih disimpan dalam database Genbank (Sabdono *et al.*, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

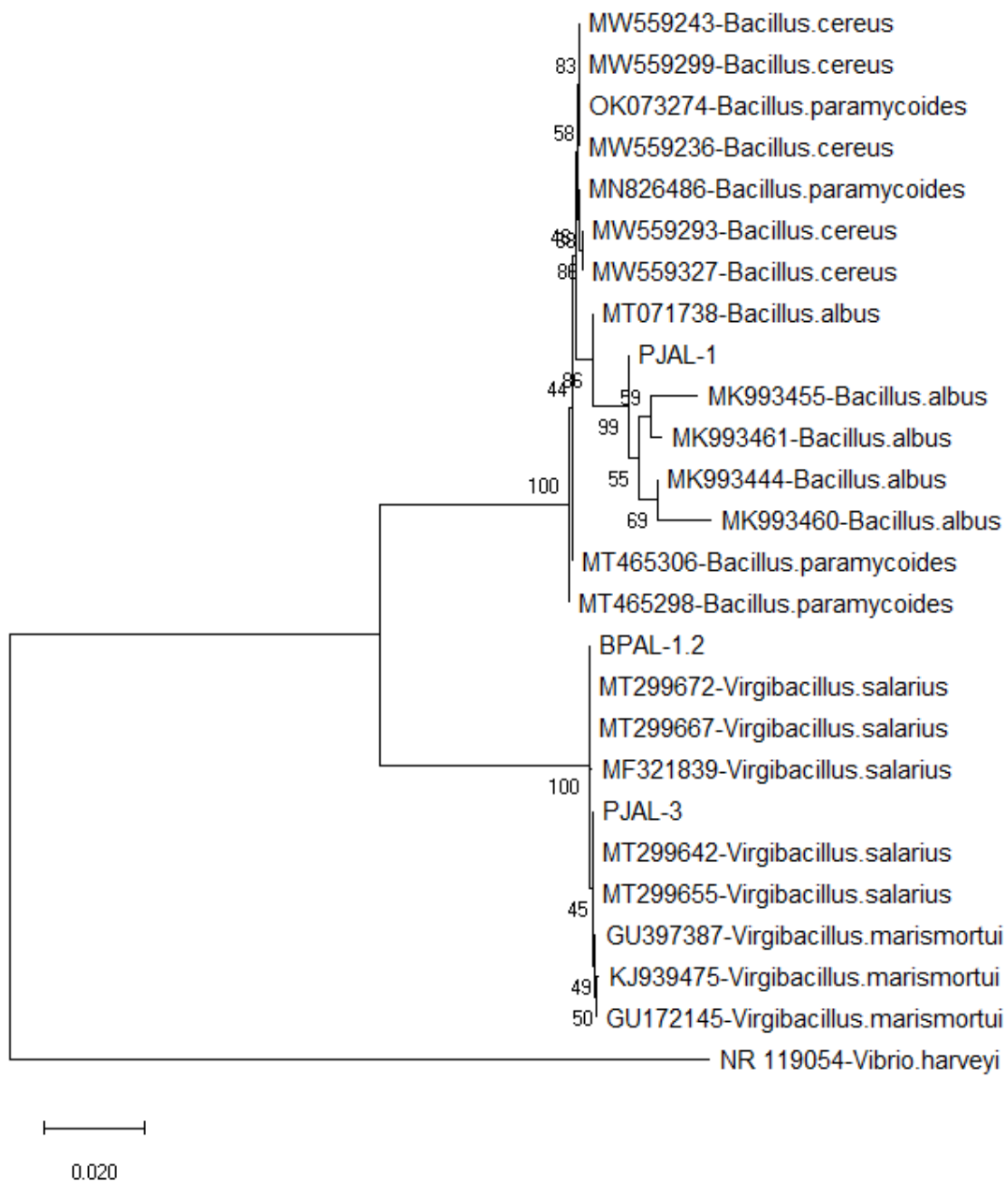
Hasil penelitian menunjukkan bahwa petani di pesisir Pantai Utara Jawa Tengah menggunakan pestisida berbagai merek untuk membasmi hama tanaman seperti Dursban, Hardtop, Arjuna, DuPont Prevathon, Ares, Amistar, Diazinon, Virtako, Dimmer, DuPont Ally Plus, Orthene 75 SP, Bentan, Besvidan, Pyrinex-C dan Prima Strike. Pestisida tersebut sebagian besar berbahan aktif khlorpirifos yang bervariasi konsentrasinya. Hasil isolasi bakterifit dari air laut yang resisten terhadap khlorpirifos 100 ppm ditemukan 3 isolat yaitu BPAL 1.2 (1 isolat) berasal dari perairan Brebes dan PJAL 1 (1 isolat) dan PJAL 3 (3 isolat) berasal dari perairan Pati untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Bakteri yang resisten terhadap 100 ppm Klorpirifos

Kode Sampel	Klorpirifos (100 ppm)	Panjang Sekuens (bp)	Nama Bakteri	Homologi (%)	Accession Number
BPAL 1.2	+	1440	<i>Virgibacillus salarius</i>	99,33	MT299656
PJAL 1	+	1102	<i>Bacillus albus</i>	99,55	MT299705
PJAL 3	+	1445	<i>Virgibacillus salarius</i>	99,86	MT299655

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa khlorpirifos dapat terdegradasi oleh bakteri seperti bakteri yang bersal dari tanah (Rayu *et al.*, 2017) dan air tanah (Rochaddi *et al.*, 2019). Beberapa bakteri dari tanah pertanian yang memiliki kemampuan mendegrasi pestisida khlorpirifos seperti *Pseudomonas* sp (Farhan *et al.*, 2013), *Klebsiella* sp. (Farhan *et al.*, 2013), dan *Stenotrophomonas* sp. (Deng *et al.*, 2015), *Pseudomonas monteillii*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas* sp (Sulaeman *et al.*, 2016). Lebih lanjut Rochaddi *et al.* (2019) menginformasikan beberapa bakteri yang berasal dari airtanah yang diambil di sekitar Surabaya, Sidoarjo, Gresik dan Lamongan mampu mendegradasi khlorpirifos seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus paramycoides*, *Bacillus thuringiensis*, dan *Bacillus subtilis*. Sebagian besar peneliti mencari bakteri pendegradasi khlorpirifos berasal dari tanah yang terkait dengan pertanian maupun air yang ada di daratan dan masih jarang terhadap material yang berasal dari lingkungan laut. Hasil penelitian saat ini menggunakan materi yang berasal dari air laut untuk mencari bakteri yang resisten atau mampu mendegradasi khlorpirifos didapatkan dua jenis bakteri yaitu *Virgibacillus salaries* berasal dari air laut Brebes dan Pati dan *Bacillus albus* yang berasal dari Pati. Penelitian sebelumnya yang menggunakan materi dari lingkungan laut juga

mendapatkan bakteri yang mampu mendegradasi khlorpirifos seperti yang dilakukan Zhang *et al* (2006) mendapatkan bakteri *Virgibacillus flavescens* dari sedimen laut; Essghaier *et al.* (2012) menemukan *Virgibacillus marismortui* yang ditemukan dari danau garam; Montriwong *et al.* (2012) menemukan *Virgibacillus halodenitrificans*. Lebih lanjut Suryono *et al.* (2021) menemukan beberapa jenis bakteri yang bersimbion dengan kerang kerangan laut yang diambil disekitar perairan Surabaya dan Sidoarjo ditemukan bakteri yang mampu mendegradasi khlorpirifos seperti *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Virgibacillus marismortui*, *Virgibacillus salarius*, *Bacillus tropicus*. Bila dilihat bakteri dari penelitian sebelumnya dan bakteri yang didapat pada saat penelitian saat ini yang menggunakan sumber dari laut mengindikasikan bahwa bakreri *Virgibacillus sp* dan *Bacillus sp* yang selalu ada dalam lingkungan laut dan beberapa jenis menunjukkan kemampuan mendegradasi atau resisten terhadap pestisida jenis khlorpirifos.



Gambar 2. Pohon filogenetik bakteri dari air laut yang resisten terhadap khlorpirifos menggunakan metode Neighbor-Joining dengan model Kimura 2-parameter dan 1.000 bootstrap

Dalam penelitian ini diperoleh 3 strain bakteri yang resisten terhadap 100 ppm klorpirifos dari sampel air laut Pesisir Utara Pulau Jawa (Berebes dan Pati). Gen 16S rDNA diurutkan untuk mengetahui korelasi filogenetik dan evolusi di antara strain bakteri. Urutan DNA dari 3 strain bakteri berhasil diamplifikasi menggunakan PCR, dan diidentifikasi dengan menggunakan nukleotida BLAST berdasarkan database GenBank. Analisis urutan DNA menunjukkan bahwa identitas nukleotida yang bervariasi dari 99,33% hingga 99,86% didasarkan pada urutan konsensus 3 bakteri yaitu *V. salaries* dan *B. albus* (Tabel 1). Isolat terbaik, PJAL 3, diidentifikasi sebagai *V. salarius* dan disimpan di GenBank dengan Acc. Nomor MT299655. Analisis filogenetik mengelompokkan isolat menjadi dua klad, yaitu yaitu *V. salaries* dan *B. albus*. (Gambar 2). Selanjutnya dalam Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat PJAL 3 mengelompok ke dalam kelompok *Virgibacillus* sp. Beberapa penelitian sebelumnya menginformasikan bahwa *Virgibacillus* sp memiliki potensi untuk degradasi substrat, seperti *V. flavescens* diisolasi dari sedimen laut, dapat mendegradasi kasein, pati, pektin, asam poligalakturonat, karboksimetil-selulosa, asam alginat, dan agar (Zhang *et al.*, 2016). Essghaier *et al.* (2012) melaporkan bahwa *V. marismortui* yang diisolasi dari danau garam dangkal di Tunisia dapat mendegradasi kitin. Montriwong *et al.* (2012) menginformasikan bahwa *V. halodenitrificans* menghasilkan proteinase tinggi. Beberapa genus *Bacillus* juga dilaporkan dapat mendegradasi pestisida klorpirifos. Namun, sebagian besar diisolasi dari tanah, seperti *B. cereus* (Liu *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2019), *B. megaterium* (Zhu *et al.*, 2019), dan *B. subtilis* (El-Helow *et al.*, 2013). Dari hasil penelitian saat ini dan beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri *Virgibacillus salaries* dan *Bacillus albus* merupakan kelompok bakteri dari lingkungan laut yang resisten atau memiliki kemampuan mendegradasi pestisida.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ditemukan 2 spesies bakteri yang resisten terhadap Klorpirifos 100ppm dari perairan Brebes *Virgibacillus salaries* MT299656 dan perairan Pati *Virgibacillus salaries* MT299705, *Bacillus albus* MT299655.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan luaran dari penelitian hibah dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Tahun Anggaran 2021 dengan nomor kontrak 77/UN7.5.10.2/PP/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Bendis, R.J., & Relyea, R.A., (2016). Wetland defense: naturally occurring pesticide resistance in zooplankton populations protects the stability of aquatic communities. *Oecologia*, 181(2), 487-498
- Deng, S., Chen, Y., Wang, D., Shi, T., Wu, X., Ma, X., Li, X., Hua, R., Tang, X., & Li, Q. X., (2015). Rapid biodegradation of organophosphorus pesticides by *Stenotrophomonas* sp. G1. *Journal of Hazardous Materials*, 297, 17-24
- Dujaković, N., Grujić, S., Radisić, M., Vasiljević, T., & Lausević, M., (2010). Determination of pesticides in surface and ground waters by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 678 (1), 63–72. doi: 10.1016/j.aca.2010.08.016.
- El-Helow, E.R., Badawy, M.E.I., Mobrouk, M.E.M., Mohamed, E.A.H., & El-Beshlawy, Y.M., (2013). Biodegradation of chlorpyrifos by a newly isolated *Bacillus subtilis* strain, Y242. *Bioremediation Journal*, 17(2), 113-123
- Essghaier, B., Rouaissi, M., Boudabous, A., Jijakli, H. & Sadfi-Zouaoui, N., (2012). Characterization of a novel chitinase from a moderately halophilic bacterium, *Virgibacillus marismortui* strain M3-23. *Ann. Microbiology*, 62, 835–841
- Farhan, M., Wahid, A., Khan, A. U., Ali, A.S., & Ahmed, F., (2013). Potential of indigenous *Klebsiella* sp. for chlorpyrifos biodegradation. *Pakistan Journal of Science*, 65(1), 133-137.
- Horne, I., Sutherland, T. D., Harcourt, R. L., Russell, R.J., & Oakeshott, J.G., (2002). Identification of an *opd* (organophosphate degradation) gene in an *Agrobacterium* isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 3371-3376

- Isworo, S., Purwanto, I., & Sabdono, A., (2015). Impact of Pesticide Use on Organophosphorus and Organochlorine Concentration in Water and Sediment of Rawa Pening Lake, Indonesia. *Research Journal of Environmental Sciences*, 9(5), 233-240.
- Jiang, J., Tang, M., Chen, J., & Yang, Y., (2019). Identification and degradation characteristics of *Bacillus cereus* strain WD-2 isolated from prochloraz-manganese-contaminated soils. *PLoS ONE* 14(8), e0220975, 13 p.
- Laili, N. & I. Hartati. (2011). Isolasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi herbisida diuron dan bromacil dari area perkebunan di Lampung. *Journal of Biological Researches*, 17, 57-61
- Li, X., Gan, P., Peng, R., Huang, C., & Yu, H., (2010). Determination of 23 organophosphorous pesticides in surface water using SPME followed by GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 48(3), 183-187.
- Liu Z. Y., Chen X., Shi Y., & Su Z. C., (2012). Bacterial degradation of chlorpyrifos by *Bacillus cereus*. *Advanced Materials Research* 356-360, 676-680.
- Montriwong, A., Kaewphuak, S., Rodtong, S., Roytrakul, S., & Yongsawatdigul J., (2012). Novel fibrinolytic enzymes from *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 isolated from fish sauce fermentation. *Process Biochemistry*, 47(12), 2379-2387.
- Rayu, S., Nielsen, U.N., Nazaries, L., & Singh B.K., (2017). Isolation and molecular characterization of novel chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol-degrading bacteria from sugarcane farm soils. *Frontier in Microbiology* 8:518, 16 p.
- Relyea, R.A., (2009). A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*, 159(2), 363-376
- Rochaddi, B., Zainuri, M., & Sabdono, A., (2019). Diversity of Chlorpyrifos-degrading bacteria isolated from shallow aquifer of East Java Coastal Settlements, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(12), 3662-3666 doi: 10.13057/biodiv/d201227
- Sabdono, A., Kang, S., Hur, H.G., Grossart, H.P., Simon, M., & Radjasa, O.K., (2007). Organophosphate pesticide concentration in coral tissues of Indonesian coastal waters *Pakistan Journal of Science* 10(11), 1926-1929
- Sapbamrer, R., & Hongsibsong, S., (2014). Organophosphorus pesticide residues in vegetables from farms, markets, and a supermarket around Kwan Phayao Lake of northern Thailand. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 67 (1), 60-67. doi: 10.1007/s00244-014-0014-x.
- Sulaeman, E., Ardiwinata, A.S., & Yani, M., (2016). Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Insektisida Klorpirifos di Tanah Sayuran Kubis di Jawa Barat. *Jurnal Tanah dan Iklim* 40(2), 103-112
- Suryono, C.A., Irwani., Rochaddi, B., Setyati, W.A., & Indardjo, A., (2021). Kontaminasi Kerang Filter Feeder *Perna viridis* Linnaeus, 1758 (Bivalvia: Mytilidae) oleh Pestisida Organofosfat di Perairan Laut Brebes Jawa Tengah Indonesia. *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(2), 205-21. doi: 10.14710/jkt.v24i2.11013
- Suryono, C.A., Sabdono, A & Subagiyo. (2019^a). Kontaminasi pestisida organofosfat: Klorpirifor, Fenitrotion dan Profenofos dalam bivalvia yang ditangkap di pesisir utara pulau Jawa. *Jurnal Kelautan Tropis*, 22(2), 103-108. doi: 10.14710/jkt.v22i2.6274
- Suryono, C.A., Sabdono, A., Subagiyo, & Setyati, W.A. (2019^b). The preliminary investigation of organophosphate pesticide residues on green mussel *Perna viridis* (bivalvia: Mytilidae, linnaeus, 1758) at Demak coastal waters central Java Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 246, 012071. doi: 10.1088/1755-1315/246/1/012071
- Suryono, C.A., Subagiyo., & Sabdono, A., (2021). Chlorpyrifos pesticide-degrading bacteria isolated from bivalves of Surabaya coastal waters, East Java, Indonesia., *AACL Bioflux*, 14(3), 1665-1674.
- Swofford, D.L., (1998). PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods) version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts
- Thompson J.D., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougi F., & Higgins D. G., (1997). The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876-4882
- Wang, S., Zhang, C., Li, K., Qu J, Shi, Y., & Yan, Y., (2013). Chlorpyrifos-induced stress response in the Chlorpyrifos-degrader *Klebsiella* sp. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 82, 17-23.
- Yang, C., Liu, N., Guo, X., & Qiao C., (2006). Cloning of mpd gene from a chlorpyrifos-degrading bacterium and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *FEMS Microbiology Letters*, 265(1), 118-125.

- Zhang, D.C., Schumann, P., Wu, J., Franca, L., Neuner K., & Margesin, R., (2016). *Virgibacillus flavescens* sp. nov. isolated from marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(3), 1138-1143.
- Zhang, Z., Hong, Q., Xu, J., Zhang, X., & Li, S., (2006). Isolation of fenitrothion-degrading strain *Burkholderia* sp. FDS-1 and cloning of mpd gene. *Biodegradation*, 17, 275-283. doi: 10.1007/s10532-005-7130-2
- Zhu, J., Zhao, Y., & Ruan, H., (2019). Comparative study on the biodegradation of chlorpyrifos methyl by *Bacillus megaterium* CM-Z19 and *Pseudomonas syringae* CM-Z6. *Anais da Academica Brasileira de Ciencias*, 91(3), e20180694, 10 p.