

链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的特性及其动力学

陈少华¹ 罗建军¹ 胡美英^{1*} 黄华盛² 张芳¹

(1. 华南农业大学 天然农药与化学生物学教育部重点实验室 广东 广州 510642)

(2. 华南农业大学 工程学院 广东 广州 510642)

摘要: 研究不同接菌量、温度、pH、装液量和农药初始浓度对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响。结果表明, 在接菌量为 0.6 g/L、28 °C、pH 7.5 和装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶条件下培养 3 d, 该链霉菌对 100 mg/L 高效氯氰菊酯降解率达到 96% 以上。链霉菌 HP-S-01 还能明显降解高效氯氟氰菊酯、高效氯氟菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯等拟除虫菊酯农药, 且降解过程符合一级动力学模型, 降解半衰期分别为 0.78、0.88、1.08 和 1.24 d。采用 Andrews 方程对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的过程进行拟合, 其动力学参数为 $q_{\max}=1.826\ 3\ \text{d}^{-1}$, $K_s=58.951\ 3\ \text{mg/L}$, $K_i=359.378\ 2\ \text{mg/L}$, 该链霉菌降解高效氯氰菊酯最佳的初始浓度为 145.553 5 mg/L, 试验数据与该动力学方程拟合较好。

关键词: 拟除虫菊酯农药, 高效氯氰菊酯, 生物降解, 降解特性, 动力学

Degradation characteristics and kinetics of beta-cypermethrin by *Streptomyces* sp. HP-S-01

CHEN Shao-Hua¹ LUO Jian-Jun¹ HU Mei-Ying^{1*} HUANG Hua-Sheng²
ZHANG Fang¹

(1. Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

(2. School of Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: The beta-cypermethrin degradation conditions including inoculum amount, temperature, pH, liquid volume, and initial concentration by *Streptomyces* HP-S-01 were systematically investigated. The results showed that *Streptomyces* HP-S-01 degraded beta-cypermethrin rapidly with a degradation rate up to 96% within 3 d, under the conditions of inoculum amount 0.6 g/L, 28 °C, pH 7.5, and liquid

volume 50 mL/250 mL. The strain also could effectively degrade beta-cyfluthrin, beta-cyhalothrin, d-phenothrin and tetramethrin. Furthermore, the degradation reaction followed first-order kinetics and half lives ($T_{1/2}$) were 0.78, 0.88, 1.08 and 1.24 d, respectively. The Andrews model was used to describe the beta-cypermethrin degradation process. The degradation kinetic data collected fitted the model well. The calculated parameters of q_{max} , K_s and K_i for the model were $1.826\ 3\ d^{-1}$, $58.951\ 3\ mg/L$ and $359.378\ 2\ mg/L$, respectively. And the optimal concentration of initial beta-cypermethrin was $145.553\ 5\ mg/L$.

Keywords: Pyrethroids, Beta-cypermethrin, Biodegradation, Degradation characteristics, Kinetics

高效氯氰菊酯[(R,S)- α -氰基-3-苯氧基苄基(1R,3R)-3-(2,2-二氯乙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯]是一种最常用的拟除虫菊酯类杀虫剂, 约占该类农药市场份额的 50%^[1]。由于拟除虫菊酯农药具有用量低、药效高、杀虫谱广等优点, 目前广泛应用于防治农业及家庭卫生害虫^[2]。随着菊酯农药的频繁使用, 有关该类农药的残留问题及其危害也日益暴露出来, 如对一些有益昆虫(家蚕、蜜蜂和赤眼蜂等)造成了极大危害, 对鱼类、蚌类和沼虾等水生生物也有很高的毒性(浓度达到 10 ng/L 就足以杀死水体中全部无脊椎动物)^[3-4]。另外, 该类农药还具有神经毒性^[5]、蓄积毒性^[6]及生殖毒性^[7-9]。高效氯氰菊酯甚至被美国环境保护局定为致癌物质^[10]。其在土壤中的半衰期长达 94.2-1 103.0 d^[11]。因此, 消除环境中高效氯氰菊酯的残留危害具有重大的经济和社会意义。

利用微生物降解环境中的农药残留具有高效、廉价、安全、简便等特点, 前景很好^[12]。目前, 利用微生物降解高效氯氰菊酯的研究报道相对较少。作者从长期生产拟除虫菊酯农药的化工厂废水处理池中分离获得一株菊酯农药高效降解菌 *Streptomyces* sp. HP-S-01, 该链霉菌能够完全降解高效氯氰菊酯, 同时还能够明显降解高效氟氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯等拟除虫菊酯农药, 具备较好的研究开发潜力。本研究对其降解特性进行初步的研究, 并采用 Andrews 方程拟合链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的动力学过程, 以期深入研究高效降解菌的生理特性, 为制备拟除虫菊酯农药残留生物降解菌剂或酶制剂提供一定的理论和实践基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试链霉菌 *Streptomyces* sp. HP-S-01, 从中山凯达精细化工厂污水处理池中所采集的水样中分离获得, 并已获得中国典型培养物保藏中心菌种专利保藏(保藏号为 CCTCC M 2010096)。

94%高效氯氰菊酯原药、95%高效氟氯氰菊酯原药和 95%右旋苯醚菊酯原药由江苏扬农股份化工有限公司提供; 95%高效氯氟氰菊酯原药由南京荣城化工有限公司提供; 95%胺菊酯原药由中山凯达精细化工有限公司提供; 色谱纯乙腈购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 其余试剂为国产分析纯。

高氏合成一号培养基(g/L): 硝酸钾 1, 磷酸氢二钾 0.5, 硫酸镁 0.5, 氯化钠 0.5, 硫酸亚铁 0.01, 可溶性淀粉 20, pH 7.5。固体培养基为液体培养基中添加 18 g/L 琼脂。

1.2 实验方法

1.2.1 链霉菌生长和降解高效氯氰菊酯关系曲线的测定: 将链霉菌 HP-S-01 活化后, 以 0.6 g/L 的接菌量接种到 50 mL 含 100 mg/L 高效氯氰菊酯的高氏合成一号培养基的 250 mL 三角瓶中, 在 28 °C、pH 7.5 条件下, 150 r/min 振荡培养 7 d, 定时取样, 应用高效液相色谱法测定高效氯氰菊酯农药残留量, 然后绘制农药降解曲线和菌体生长曲线(以每升培养液含有菌体干重表征)。以不接菌为对照, 每个处理设 3 个重复。

1.2.2 链霉菌降解高效氯氰菊酯最佳条件的测定: 降解试验基本条件为: 在装有灭菌高氏合成一号培养基的 250 mL 三角瓶中, 加入高效氯氰菊酯 100 mg/L, 接菌量 0.6 g/L、28 °C、pH 7.5、装液量

50 mL/250 mL 三角瓶; 最佳降解条件试验: 通过分别改变降解基本条件中的接菌量(0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 g/L)、温度(18 °C、23 °C、28 °C、33 °C 和 38 °C)、pH 值(5.5、6.5、7.5、8.5 和 9.5)和装液量(25、50、100、150 和 200 mL/250 mL 三角瓶), 在其它条件保持不变的情况下, 培养 5 d, 进行单因素条件试验。各单因素设计以不接菌为对照, 每个处理设 3 个重复, 测定链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的降解率。

1.2.3 链霉菌对不同浓度的高效氯氰菊酯降解的测定: 分别设置不同浓度的高效氯氰菊酯(100、200、300、400、500、600、700 和 800 mg/L), 在最佳降解条件下培养 7 d, 定时取样, 对高效氯氰菊酯进行微生物降解动力学研究。以不接菌为对照, 每个处理设 3 个重复。

1.2.4 链霉菌对不同拟除虫菊酯农药的降解能力: 向高氏合成一号培养基中分别添加 100 mg/L 高效氯氰菊酯、高效氟氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯, 在接种量 0.6 g/L、28 °C、pH 7.5、装液量 50 mL/250 mL 三角瓶条件下培养 5 d, 定时取样, 研究链霉菌 HP-S-01 对上述几种拟除虫菊酯农药的降解动力学。

1.2.5 分析方法: 发酵液处理方法^[13]: 每个处理取 30 mL 添加农药的培养液, 然后分别加入 60 mL 丙酮, 采用超声波提取法提取(2×15 min)。提取液经铺有 2 层滤纸的布氏漏斗减压抽滤, 将滤液全部移入 500 mL 分液漏斗中, 再向分液漏斗加入 60 mL 石油醚, 摇匀, 剧烈振荡 3–5 min, 静置, 分层, 弃去下层溶液, 石油醚层过滤于装有 20 g 无水硫酸钠的小漏斗至 250 mL 圆底烧瓶中, 重复萃取 3 次, 滤液并入烧瓶中, 50 °C 恒温浓缩, 将浓缩液全部转入 5 mL 刻度试管中, 并用 3 mL 丙酮分 3 次洗涤圆底烧瓶, 定容至 5 mL, 最后取 2 mL 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤器过滤, 滤液收集于进样瓶中待测。

拟除虫菊酯农药高效液相色谱检测条件^[13]: HP-1100 型高效液相色谱工作站(Agilent, 美国), 色谱柱为 C₁₈ 反相柱(Hypersil ODS2 5 μm×4.6 mm×250 mm), 流速为 1 mL/min, 柱温为 28 °C±1 °C, 流

动相为乙腈:水=90:10, 检测波长为 235 nm, 进样量为 10 μL。

降解率的测定方法:

$$\text{降解率}(\%) = (1 - A_1/A_0) \times 100$$

式中, A_1 为降解菌处理后拟除虫菊酯农药残留浓度, A_0 为对照处理拟除虫菊酯农药残留浓度。

2 结果与分析

2.1 链霉菌 HP-S-01 生长和降解高效氯氰菊酯的关系曲线

在高效氯氰菊酯的降解过程中, 每 24 h 取样一次, 测定菌体干重及高效氯氰菊酯残留量, 结果见图 1。链霉菌 HP-S-01 能快速降解高效氯氰菊酯, 并能利用其作为生长物质。由图 1 可知, 高效氯氰菊酯降解与菌体生长呈正相关。在高效氯氰菊酯存在条件下, 链霉菌生长没有明显的滞留期, 迅速进入生长对数期, 1–2 d 为链霉菌的生长对数期, 此时该链霉菌对高效氯氰菊酯的降解最快, 说明链霉菌生长速度对其降解高效氯氰菊酯具有很大的影响; 随着链霉菌生长达到稳定期(3–5 d), 此时高效氯氰菊酯的降解曲线和生长曲线都趋于平缓, 链霉菌培养至 5 d 时, 培养基中的高效氯氰菊酯完全降解; 培养 5 d 后, 可能由于生长物质消耗殆尽, 链霉菌开始进

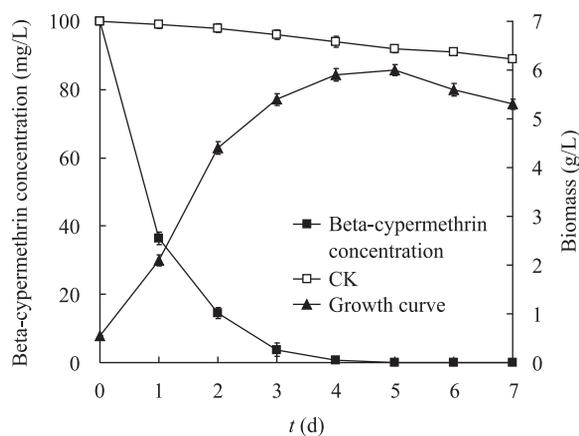


图 1 链霉菌 HP-S-01 生长和降解高效氯氰菊酯的关系曲线

Fig. 1 The relationship between *Streptomyces* HP-S-01 growth and beta-cypermethrin degradation

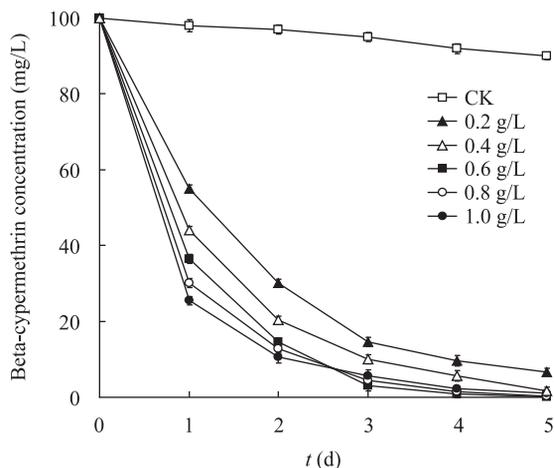


图2 接种量对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响
Fig. 2 Effect of inoculum on beta-cypermethrin degradation by *Streptomyces* HP-S-01

入衰亡期。对照中高效氯氰菊酯 7 d 的自然降解率不到 10%。

2.2 接种量对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响

接种量对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯能力的影响结果见图 2。从图 2 可知, 当接菌量为 0.2–0.6 g/L 时, 链霉菌降解率总体呈上升趋势, 可见链霉菌对农药的降解能力在一定范围内随接菌量增加而提高, 高效氯氰菊酯的降解率与接菌量呈正相关。当接菌量达到 0.6 g/L 以上, 在接种量初期 (1–2 d) 降解率迅速上升, 此时菌种浓度对链霉菌降解高效氯氰菊酯具有较大影响, 而培养 3 d 后, 曲线趋于平缓, 降解高效氯氰菊酯的能力差异不大, 即当接菌量达到 0.6 g/L 后, 接菌量的增加对链霉菌降解能力的贡献不大, 这可能是由于随着接种量的增加, 微生物生长所需的营养物质相对不足, 微生物间互相竞争导致有效菌源不足。因此, 从降解效果以及经济角度考虑, 接菌量以 0.6 g/L 为宜。

2.3 温度对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响

温度对降解菌 HP-S-01 降解能力有显著影响。图 3 显示不同温度梯度下链霉菌降解高效氯氰菊酯的结果。从图 3 可知, 当温度在 28 °C 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯的降解效果最好, 培养 3 d 降解率达

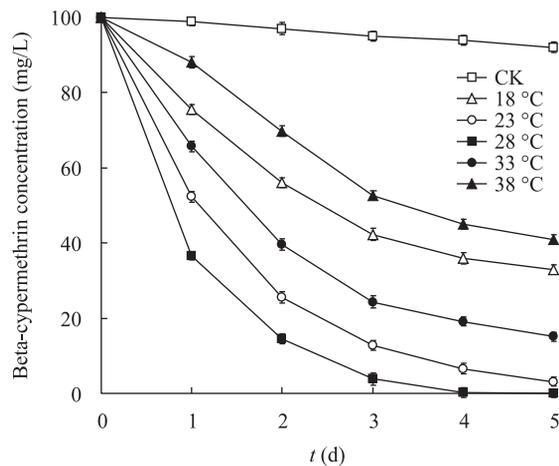


图3 温度对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响
Fig. 3 Effect of temperature on beta-cypermethrin degradation by *Streptomyces* HP-S-01

到 96.2%; 温度高于或低于 28 °C 时, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的降解效果受到抑制, 降解率下降, 特别是温度在 18 °C 和 38 °C 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯的降解能力最低, 培养 3 d 降解率分别只有 57.7% 和 48.3%, 这可能是由于温度不适宜导致降解菌生长的差异或者是降解酶活性的差异。因此, 选择 28 °C 为该降解链霉菌的最适培养温度。

2.4 pH 值对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响

不同 pH 条件对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响显著, 结果见图 4。从图 4 可知, 当 pH < 7.5 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯的降解率随 pH 的升高而增大; 当 pH > 7.5 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯的降解率随 pH 的升高而降低; 当 pH 为 7.5 时, 链霉菌培养 3 d 对高效氯氰菊酯的降解率高达 96.5%, 这可能是在此 pH 条件下有助于降解酶的合成与表达, 因而降解效率最高。pH 低于或高于 7.5 时, 其降解率均下降。特别是 pH 为 5.5 和 9.5 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯降解效果较差, 培养 3 d 的降解率只有 68.4% 和 70.1%, 说明在强酸及强碱条件下链霉菌降解效果受到抑制。因此, 链霉菌 HP-S-01 最适 pH 为 7.5, 也说明该菌在偏碱性条件下降解能力较好。

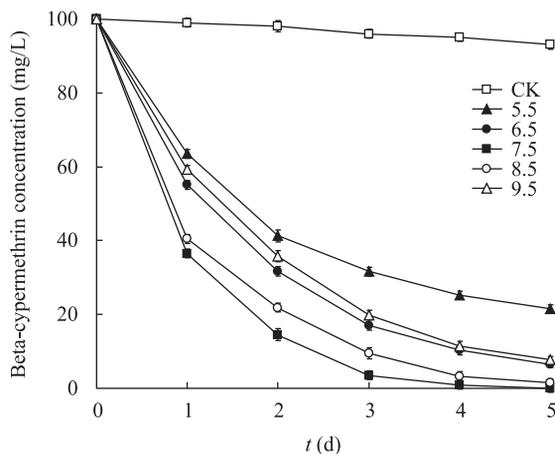


图 4 pH 对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响
Fig. 4 Effect of pH on beta-cypermethrin degradation by *Streptomyces* HP-S-01

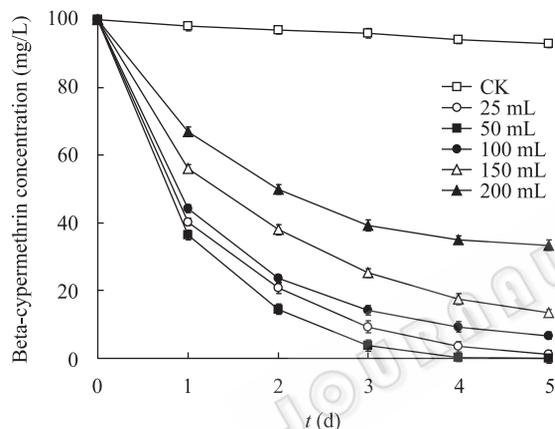


图 5 装液量对 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响
Fig. 5 Effect of liquid volume on beta-cypermethrin degradation by *Streptomyces* HP-S-01

2.5 装液量对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响

测定不同装液量对链霉菌 HP-S-01 降解能力的影响。结果表明, 在 250 mL 的三角瓶中装液量为 25–200 mL 时, 链霉菌对高效氯氰菊酯的降解能力有明显的差异, 培养 5 d 降解率分别为 98.8%、100%、93.4%、86.5%和 66.6%。当装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶时, 链霉菌降解能力达到最大值, 结果见图 5。由图 5 可知, 当装液量 > 50 mL 时, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的降解率与装液量呈负相关, 与通气量呈正相关, 这也表明该链

霉菌为好氧型, 瓶中装液量增加导致通气体积的减少, 不利于链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的降解; 但当装液量 < 50 mL 时, 链霉菌降解率比装液量等于 50 mL 的偏低, 可能是由于装液量太少反而不利于链霉菌大量繁殖。因此, 根据不同装液量时链霉菌的降解率, 可确定该菌的最适装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶。

2.6 初始浓度对链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响

图 6 为不同高效氯氰菊酯初始浓度对链霉菌 HP-S-01 降解能力的影响。试验结果表明, 该链霉菌可耐受和降解 800 mg/L 的高效氯氰菊酯, 且在降解过程中没有明显的滞后效应产生, 说明链霉菌可耐受更高浓度的高效氯氰菊酯。当初始浓度 < 300 mg/L 时, 链霉菌 HP-S-01 培养 7 d 均完全降解添加的高效氯氰菊酯; 当初始浓度为 400–700 mg/L 时, 降解率降低, 但仍然达到 90% 以上; 当初始浓度 > 700 mg/L 时, 降解率只有 85%, 且随浓度增加而迅速降低, 可能是高浓度高效氯氰菊酯强烈的毒性对该微生物的生长有一定的抑制作用(图 6)。

本试验结果也表明, 对高效氯氰菊酯的生物降解过程, 高效氯氰菊酯既是反应的基质, 同时也是抑制剂。对于底物自身又是抑制剂的生化反应过程, 通常采用 Andrews 方程来模拟其基质降解动力学

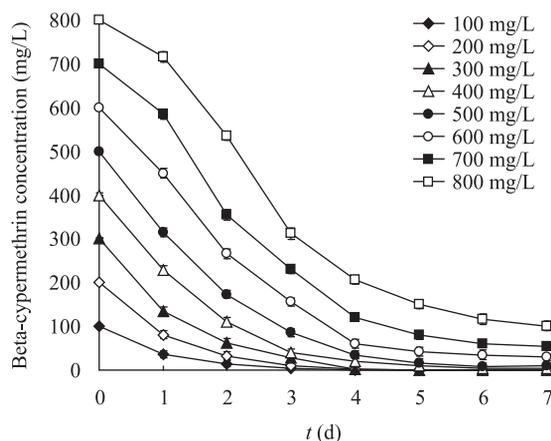


图 6 初始浓度对 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的影响
Fig. 6 Effect of initial beta-cypermethrin concentration on its degradation by *Streptomyces* HP-S-01

过程^[14-16],在此应用 Andrews 方程来模拟链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的动力学过程。Andrews 方程式为:

$$q = \frac{q_{\max} S}{S + K_s + (S^2/K_i)}$$

式中, S 为高效氯氰菊酯浓度(mg/L); q 为高效氯氰菊酯比降解速率(d^{-1}); q_{\max} 为高效氯氰菊酯最大比降解速率(d^{-1}); K_s 为半速率常数(mg/L); K_i 为抑制系数(mg/L)。

以 q - S 做图, 结果见图 7。通过 Matlab 软件处理实验数据 q - S , 按照 Andrews 方程对实验数值进行非线性最小二乘曲线拟合, 可得 $q_{\max}=1.8263 d^{-1}$; $K_s=58.9513 mg/L$; $K_i=359.3782 mg/L$ 。理论值和试验值的对比见图 7。从图 7 可以看出该模型拟合较好, 相关系数 R^2 达到 0.9913。在此基础上, 通过对原方程进行求导, 可得最大比降解速率所对应的高效氯氰菊酯浓度为 $S_{\max}=145.5535 mg/L$, 此浓度为链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的最佳初始浓度。

从图 7 可知, 在 $S < 145.5535 mg/L$ 时, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的比降解速率随着高效氯氰菊酯初始浓度的升高而迅速增大; 当 $S > 145.5535 mg/L$ 时, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯的比降解速率随着高效氯氰菊酯初始浓度的增加开始表现出下降趋势, 呈底物抑制作用。该图也表明, 链霉菌 HP-S-01 降解动力学参数值在初始浓

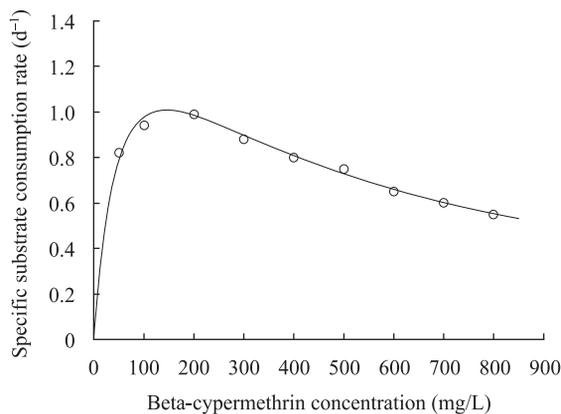


图7 链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯动力学拟合曲线
Fig. 7 Model fit of beta-cypermethrin degradation kinetics by *Streptomyces* HP-S-01

度 $< 800 mg/L$ 的范围内, 均有较大的比降解速率 ($q > 0.5 d^{-1}$), 表明该链霉菌对高效氯氰菊酯具有较强的降解能力。

2.7 链霉菌 HP-S-01 对不同拟除虫菊酯农药的降解效果

测定了链霉菌 HP-S-01 对 5 种常用拟除虫菊酯农药的降解效果, 结果见图 8。由图 8 可知, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯、高效氟氯菊酯、高效氯氟菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯均具有较好的降解效果, 在培养初期就能迅速适应和降解该类农药。培养 3 d 后, 该链霉菌对上述菊酯农药的降解率分别达到 96.20%、94.50%、91.10%、85.25% 和 80.90%, 说明该链霉菌具有较宽的降解谱。

为更深入了解链霉菌 HP-S-01 对上述 5 种菊酯农药的降解行为, 研究中采用一级降解动力学模型^[17-18], 对 0、1、2、3、4 和 5 d 的农药残留量 (C) 和时间 (t) 进行拟合, 拟合结果如表 1 所示。

其中, 一级降解动力学模型为:

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

半衰期为:

$$T_{1/2} = \ln 2 / k$$

式中, C_t 为 t 时刻菊酯农药的残留量(mg/L); C_0 为菊酯农药的初始浓度(mg/L); k 为降解速率常数 (d^{-1})。

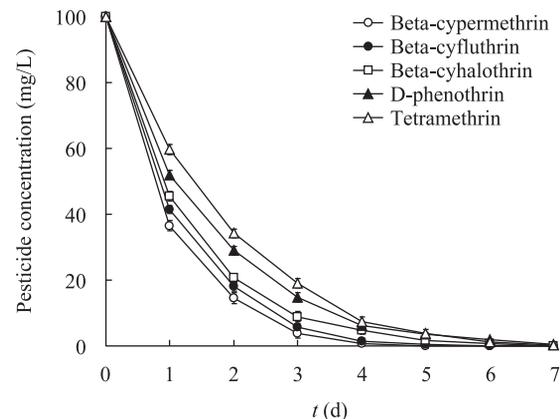


图8 链霉菌 HP-S-01 对不同拟除虫菊酯农药的降解动力学
Fig. 8 Degradation kinetics of different pyrethroids by *Streptomyces* HP-S-01

表 1 链霉菌 HP-S-01 对 5 种拟除虫菊酯农药的降解动力学参数
Table 1 Kinetic parameters of degradation of five pyrethroids by strain HP-S-01

| 药剂 Pesticide | 动力学方程 Kinetic equation | 速率常数(k) Rate constant (d^{-1}) | 相关系数(R^2) Correlation coefficient | 半衰期 Half-life (d) |
|-------------------|---------------------------|---|--|----------------------|
| Beta-cypermethrin | $y=100.031 4e^{-1.0052x}$ | 1.005 2 | 0.999 5 | 0.69 |
| Beta-cyfluthrin | $y=100.161 2e^{-0.8884x}$ | 0.888 4 | 0.999 3 | 0.78 |
| Beta-cyhalothrin | $y=100.042 9e^{-0.7910x}$ | 0.791 0 | 0.999 9 | 0.88 |
| D-phenothrin | $y=99.967 0e^{-0.6424x}$ | 0.642 4 | 0.999 4 | 1.08 |
| Tetramethrin | $y=101.101 1e^{-0.5606x}$ | 0.560 6 | 0.996 6 | 1.24 |

注: y : 拟除虫菊酯农药残留量(mg/L); x : 降解时间(d).

Note: y : Residual concentration of pyrethroids (mg/L); x : Degradation period (d).

由表 1 可知, 链霉菌 HP-S-01 对高效氯氰菊酯、高效氟氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯的降解符合一级降解动力学模型, 相关系数 R^2 分别达到 0.999 5、0.999 3、0.999 9、0.999 4 和 0.996 6。通过计算得出链霉菌 HP-S-01 对上述 5 种菊酯农药的降解速率常数(k)分别为 1.005 2、0.888 4、0.791 0、0.642 4 和 0.560 6 d^{-1} , 降解半衰期($T_{1/2}$)分别为 0.69、0.78、0.88、1.08 和 1.24 d。

3 讨论

以微生物为主体的生物修复技术可用于降解各种有机污染物^[19-20], 特别是近年来对异生物质生物降解的深入研究为生物修复不良环境提供了可能^[21]。获得高效降解菌是开展生物修复工作的前提^[22]。虽然微生物降解有机污染物受到微生物自身性质、农药结构以及环境条件(温度、pH 和底物浓度等)的影响, 但微生物降解或生物转化仍是有机物污染环境修复的首选手段^[23]。廖敏等^[24-25]从拟除虫菊酯类农药生产车间的活性污泥中分离获得 2 株可同时降解联苯菊酯、甲氰菊酯和氯氰菊酯的菌株 M5R14 和菌株 M6R9, 经鉴定分别为缺陷假单胞菌(*Pseudomonas diminuta*)和产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*), 并测定在不同接种量、底物浓度、温度、pH、振荡速率和装液量下对菌株降解农药的影响。结果表明, 菌株 M5R14 在通气、pH 6.0-7.0、温度 30 °C、接种量 OD_{415} 为 0.2、农药浓度 100 mg/L 和转速 180 r/min 的环境条件下培养 3 d, 对上述 3 种拟除虫菊酯类农药降解率分别为 43.78%、43.91%和 43.75%; 菌株 M6R9 在通气、pH 7.0、

温度 25 °C-30 °C、接种量 OD_{415} 为 0.2、农药浓度 100 mg/L 和转速 180 r/min 的环境条件下培养 3 d, 对上述 3 种拟除虫菊酯类农药降解率分别为 55.74%、55.11%和 56.96%。Zhang 等^[10]从农药厂的活性污泥中分离获得 2 株可降解高效氯氰菊酯的菌株 JC1 和 JCN13, 经鉴定为沙雷氏菌属(*Serratia* spp.), 并研究了菌株在不同接种量(0.1-0.3 g/L)、底物浓度(25-1000 mg/L)、温度(20 °C-38 °C)和 pH (6.0-9.0)条件下对高效氯氰菊酯降解的影响, 结果表明, 在最佳降解条件下, 菌株 JC1 和 JCN13 分别在培养 10 d 和 4 d 后对高效氯氰菊酯的降解率达到 92%和 89%。本研究所采用的链霉菌属(*Streptomyces* sp.)降解菌 HP-S-01 对拟除虫菊酯农药具有更高的降解活性, 培养 3 d 对高效氯氰菊酯的降解率达到 96%以上, 同时该链霉菌具有较强的环境适应性, 在温度(18 °C-38 °C)和 pH (5.5-9.5)下对高效氯氰菊酯均有明显降解作用。链霉菌 HP-S-01 还可降解多种菊酯农药, 表明其对菊酯农药降解具有广谱性。降解链霉菌 HP-S-01 因其高效、广谱和环境适应性好的特点显示了该菌进一步开发的潜力。此外, 国内外利用放线菌降解农药的报道尚不多见, 因此链霉菌 HP-S-01 的获得丰富了农药降解菌的资源库。研究结果同时也证明了其降解效果受到通气量、pH、温度、接种量和农药浓度等环境条件的影响。在确定的最佳环境条件(接种量 0.6 g/L、28 °C、pH 7.5、装液量 50 mL/250 mL 三角瓶)下, 加药培养 3 d 后, 链霉菌 HP-S-01 对 100 mg/L 高效氯氰菊酯、高效氟氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、右旋苯醚菊酯和胺菊酯的降解率分别达到 96.2%、

94.5%、91.1%、85.25%和 80.90%，其降解过程符合一级动力学降解模型，降解半衰期分别为 0.69、0.78、0.88、1.08 和 1.24 d。研究结果还表明，降解菌 HP-S-01 为好氧型链霉菌，在偏碱性条件下降解效果较好。本研究还应用 Andrews 方程模拟链霉菌 HP-S-01 降解高效氯氰菊酯的动力学过程，其降解动力学参数为 $q_{\max}=1.826 \text{ 3 d}^{-1}$ ， $K_s=58.951 \text{ 3 mg/L}$ ， $K_i=359.378 \text{ 2 mg/L}$ ，为该菌最终走向实际应用提供一定的理论和实践基础。当然，剩余农药在自然环境中主要残留于土壤或水中淤泥中，而降解菌在土壤中的降解效果受到土壤基质、pH、温度及土著微生物等影响^[26]。因此，链霉菌 HP-S-01 在土壤中的实际应用效果还有待进一步证明。

参 考 文 献

- [1] Zhang L, Gao XW, Liang P. Beta-cypermethrin resistance associated with high carboxylesterase activities in a strain of house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2007, 89(1): 65–72.
- [2] Chen SH, Hu MY, Liu JJ, et al. Biodegradation of beta-cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Ochrobactrum lupini* DG-S-01[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 187(1/3): 433–440.
- [3] Saha S, Kaviraj A. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin to some freshwater organisms[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2008, 80(1): 49–52.
- [4] Gu AH, Shi XG, Yuan C, et al. Exposure to fenvalerate causes brain impairment during zebrafish development[J]. Toxicology Letters, 2010, 197(3): 188–192.
- [5] Wolansky MJ, Harrill JA. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review[J]. Neurotoxicology and Teratology, 2008, 30(2): 55–78.
- [6] Kolaczinski JH, Curtis CF. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a review of the debate[J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(5): 697–706.
- [7] Song L, Wang YB, Sun H, et al. Effects of fenvalerate and cypermethrin on rat sperm motility patterns *in vitro* as measured by computer-assisted sperm analysis[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, 2008, 71(5): 325–332.
- [8] Wang XZ, Liu SS, Sun Y, et al. Beta-cypermethrin impairs reproductive function in male mice by inducing oxidative stress[J]. Theriogenology, 2009, 72(5): 599–611.
- [9] Fei J, Qu JH, Ding XL, et al. Fenvalerate inhibits the growth of primary cultured rat preantral ovarian follicles[J]. Toxicology, 2010, 267(1/3): 1–6.
- [10] Zhang C, Jia L, Wang SH, et al. Biodegradation of beta-cypermethrin by two *Serratia* spp. with different cell surface hydrophobicity[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(10): 3423–3429.
- [11] Shafer TJ, Meyer DA, Crofton KM. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs[J]. Environmental Health Perspectives, 2005, 113(2): 123–136.
- [12] Singh BK, Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(3): 428–471.
- [13] 钟国华, 何玥, 罗建军, 等. 高效氯氰菊酯降解菌株 HG-P-01 的培养基筛选及优化[J]. 微生物学通报, 2009, 36(5): 672–677.
- [14] 姜和, 曾虹燕, 夏葵, 等. 高效复合菌群 JHD 降解苯酚的特性及其动力学研究[J]. 环境科学学报, 2009, 29(6): 1184–1189.
- [15] Wang YQ, Zhang JS, Zhou JT, et al. Biodegradation of 4-aminobenzenesulfonate by a novel *Pannonibacter* sp. W1 isolated from activated sludge[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169(1/3): 1163–1167.
- [16] Zheng CL, Qu BC, Wang J, et al. Isolation and characterization of a novel nitrobenzene-degrading bacterium with high salinity tolerance: *Micrococcus luteus*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 165(1/3): 1152–1158.
- [17] Chang BV, Chiang F, Yuan SY. Biodegradation of nonylphenol in sewage sludge. Chemosphere, 2005, 60(11): 1652–1659.
- [18] Cycoń M, Wójcik M, Piotrowska-Seget Z. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil[J]. Chemosphere, 2009, 76(4): 494–501.
- [19] Sørensen SR, Albers CN, Aamand J. Rapid mineralization of the phenylurea herbicide diuron by *Variovorax* sp. strain SRS 16 in pure culture and within a two-member consortium[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(8): 2332–2340.
- [20] Guo P, Wang BZ, Hang BJ, et al. Pyrethroid-degrading *Sphingobium* sp. JZ-2 and the purification and characterization of a novel pyrethroid hydrolase[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2009, 63(8):

- 1107-1112.
- [21] Lan WS, Gu JD, Zhang JL, et al. Coexpression of two detoxifying pesticide degrading enzymes in a genetically engineered bacterium[J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2006, 58(2): 70-76.
- [22] 李青云, 顾宝群, 刘幽燕, 等. 氯氰菊酯降解菌 GF31 的分离鉴定及其降解特性[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(9): 1334-1339.
- [23] Singh BK, Walker A, Wright DJ. Bioremediation potential of fenamiphos and chlorpyrifos degrading isolates: influence of different environmental conditions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(9): 2682-2693.
- [24] 廖敏, 张海军, 谢晓梅. 降解拟除虫菊酯类农药的缺陷假单胞菌的分离、鉴定及降解特性研究[J]. *环境科学学报*, 2009, 29(7): 1388-1394.
- [25] 廖敏, 张海军, 谢晓梅. 拟除虫菊酯类农药残留降解菌产气肠杆菌的分离、鉴定及降解特性研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(8): 2445-2451.
- [26] Chen SH, Yang L, Hu MY, et al. Biodegradation of fenvalerate and 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Stenotrophomonas* sp. strain ZS-S-01 and its use in bioremediation of contaminated soils[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 90(2): 755-767.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果, 产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登录我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtb.cn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿, 图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的文稿, 本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算, 综述、教学和方法类文章最好在 6 页以内, 研究报告 4-8 页(以上均包括图表)。

3.2 图表

文中的图表须清晰简明, 文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏), 大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码, 未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出, 多于 3 人时列出前 3 人, 后加“等”或“et al.”, 作者姓前、名后, 名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写, 但必须标准, 不加缩写点, 不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

期刊: [1] 刘杰, 成子强, 史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(2): 1-3.

[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, et al. Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(39): 36514-36519.

图书: [3] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.

[4] 董志扬, 张树政, 方宣钧, 等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华路等. 核农学进展[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2011-00-00; 接受日期: 2011-00-00

(下转 p.1221)