

文章编号:1003-8701(2012)04-0033-03

# 乙基对硫磷降解菌研究初报

高小鹏,肖梦雨,叶飞,刘芳,吴应香

(延安大学生命科学学院,陕西延安 716000)

**摘要:**本试验从陕北地区长期喷施乙基对硫磷的土壤中分离筛选出6株可降解乙基对硫磷的菌株,其中菌株NY-9在35℃、乙基对硫磷初始浓度为100 mg/L、5d时,对乙基对硫磷的降解率最高,可达79.85%。

**关键词:**乙基对硫磷;降解;菌株

中图分类号:X172

文献标识码:A

## A Preliminary Report on the Study of Parathion-Degrading Strains

GAO Xiao-peng, XIAO Meng-yu, YE Fei, LIU Fang, WU Ying-xiang

(College of Life Science, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

**Abstract:** Sixth strains which could degrade Parathion were isolated from soil in northern Shannxi Province on which that Parathion was sprayed for a long time. The degradation rate of strain NY-9 was the highest (79.85%) in the condition of 35℃, five days and original concentration of Parathion 100mg/L.

**Keywords:** Parathion; Degradation; Strains

乙基对硫磷(Parathion,简称PT),又称对硫磷,俗称1605或乙基1605,为广谱剧毒杀虫剂,可通过呼吸道、消化道及完整的皮肤和黏膜进入人体,造成神经系统生理紊乱,环境中的对硫磷可通过食物链发生聚集作用,土壤中的对硫磷也可通过植物的根部进入植物体内;对硫磷光氧化后产生毒性更大的对氧磷等降解产物<sup>[1]</sup>。目前农药污染的处理方法很多,但是与理化以及动植物降解去除法相比而言,微生物降解法具有降解速度快、降解彻底、不易产生二次污染等优势。因此,PT农药污染土壤的微生物修复一直是人们研究的热点问题之一,筛选PT农药高效降解菌并研究其降解情况,具有一定的研究和应用价值<sup>[2-5]</sup>。本试验从陕北地区长期施用乙基对硫磷的土壤中筛选得到可以降解乙基对硫磷的菌株,并对其降解性能进行了研究,以期为该地区对硫磷类农药的微生物降解奠定基础。

## 1 材料与方法

收稿日期:2012-03-19

作者简介:高小鹏(1976-),男,讲师,主要从事资源与环境微生物学研究。

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验土样

来自枣园附近的长期喷洒PT农药的葡萄园。

#### 1.1.2 培养基

无机盐培养基<sup>[6]</sup>、LB培养基<sup>[7]</sup>。

#### 1.1.3 供试农药

50%乙基对硫磷乳油(天津市丰达化工有限公司,批号:20090528)。

#### 1.1.4 试剂

正己烷(分析纯,天津市化学试剂二厂,批号:091120)、二氯甲烷(分析纯,天津市大茂化学试剂厂,批号:100909)等。

#### 1.1.5 仪器

UV-1240紫外可见分光光度计(日本岛津)、立式压力蒸汽灭菌锅(LS-B50L,江阴滨江医疗设备厂)、隔水式电热恒温培养箱(PYX-DHS-40×50-BS,上海跃进医疗器械厂)、超净工作台(苏净集团安泰公司)、汽浴式振荡器(ZJS-1320科大创新股份有限公司中佳分公司)等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 PT降解菌的筛选

(1)降解菌株的富集、分离

取 1.0 g 土样加入 PT 浓度为 100 mg/L 的无机盐培养基中, 35℃、150 r/min, 5 d 时取培养液以 10% 的接种量接入 PT 浓度为 300 mg/L 的无机盐培养基中, 35℃、150 r/min, 5 d 后同样的方法将培养液接入 PT 浓度为 500 mg/L 的无机盐培养基中, 相同条件培养, 5 d 时取最后一次培养液, 在 LB 平板上画线分离, 将得到的单菌落转管保藏于 4℃ 冰箱备用。

(2) 筛选

将分离得到的菌株在 LB 培养基中活化后接入 PT 浓度为 100 mg/L 的无机盐培养基中, 以加菌不加 PT 农药的无机盐培养基作为对照组, 35℃、150 r/min、48 h, 测定 OD<sub>600</sub><sup>[9]</sup> 筛选出生长情况好且可以利用农药的菌株作为试验菌株。

1.2.2 试验菌株对 PT 降解率的测定

(1) PT 最大吸收波长的确定和标准曲线的制作

用正己烷将 PT 稀释至 1.0 mg/L, 进行全波长扫描, 确定最大吸收波长; 用正己烷作溶剂配制浓度分别为 0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L、1.0 mg/L PT 标准溶液, 测定各溶液在最大波长处的吸光度, 制作标准曲线<sup>[10]</sup>。

(2) 试验菌株对 PT 降解率的测定

将试验菌株在 LB 培养基中活化后, 以 10% 的接种量接入 PT 浓度为 100 mg/L 的无机盐培养基中, 35℃、150 r/min, 分别培养 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d 后取样, 取 2 mL 培养液用等体积的二氯甲烷萃取 2 次, 水浴蒸干后用正己烷定容至 5 mL, 测定各样品在最大波长处的吸光度, 计算 PT 降解率, 制作降解曲线<sup>[11]</sup>。

PT 降解率 (%) = [(对照组吸光度 - 实验组吸光度) / 对照组吸光度] × 100%

2 结果与分析

2.1 PT 降解菌筛选结果

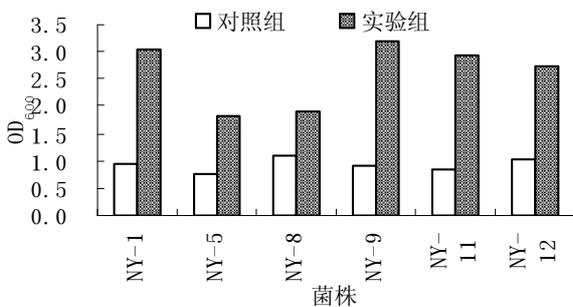


图 1 不同菌株在 PT 无机盐培养基中 48 h 的生长情况  
通过富集、分纯, 共得到 15 株可在含 PT 培

养基中生长的菌株 (分别编号为 NY-1 至 NY-15), 在含 PT 无机盐培养基中 48 h 后, 各菌株 OD<sub>600</sub> 都有不同程度的增加, 其中可以利用 PT 进行生长的共有 6 株, 如图 1 所示。

由图 1 可知, 在 6 株可利用 PT 进行生长的菌株中, NY-1、NY-9、NY-11、NY-12 生长情况较好, 将这 4 株菌作为下一步的试验菌株。

2.2 PT 降解菌的降解性能测定结果

2.2.1 PT 标准曲线的绘制结果

经全波长扫描, PT 在波长 273.4 nm 处有最大吸收峰, 以 273.4 nm 作为最大吸收波长, 绘制得到的 PT 标准曲线见图 2。

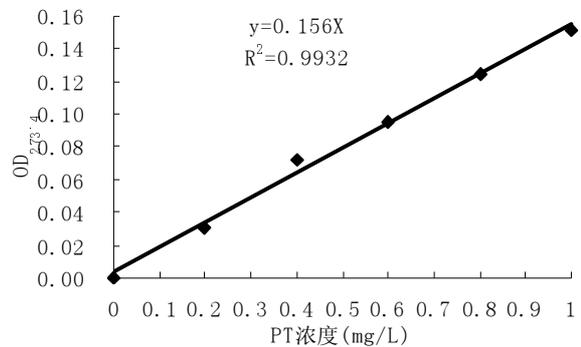


图 2 PT 标准曲线

由图 2 可知, 标准曲线方程为  $y = 0.156x$ , 相关系数  $R^2 = 0.9932$ , 拟合度较好, 可以用于后续试验中的样品测定。

2.2.2 实验菌株对 PT 降解率的测定结果

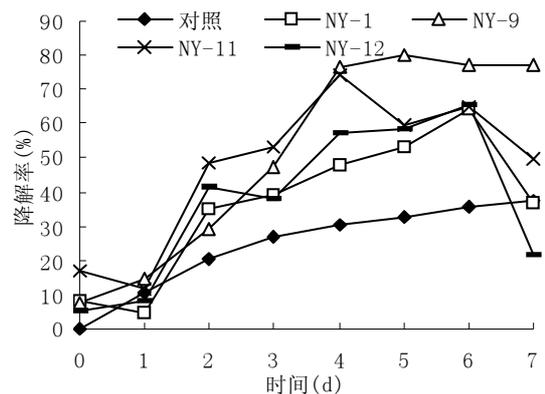


图 3 不同菌株对 PT 降解的曲线

从图 3 可知, 试验菌株对 PT 的降解率随着时间变化而变化, 对照组中的 PT 随着时间的推移也在缓慢减少, 这可能是由于自然光解作用, 使 PT 有所减少; 4 株试验菌株对 PT 的降解率都呈现出先降后升的趋势, 到了第 6 d, 降解率达到了最高, 第 6 d 后, 降解率开始下降; 这可能是由于在 0~

1 d 内,试验菌株处于生长的迟缓期,是适应新环境的过程,第 1~6 d 内,是菌体的旺盛生长阶段,试验菌株可能以 PT 作为营养物质,因而菌株对 PT 的降解与菌体的生长具有一定的相关性,到了第 6 d 之后,试验菌株进入衰亡期,对 PT 的降解率也开始呈下降趋势。

### 3 结论与讨论

3.1 试验菌株 NY-9 在 35℃、5 d 时,对 PT 的降解率可达 79.85%。从而得到一株能高效降解 PT 的菌株,为今后利用微生物降低农残的技术奠定了科学基础,还可用于有机磷农药生产企业污水的处理<sup>[12]</sup>。

3.2 菌株在降解 PT 的过程中,受到温度、溶氧、PT 初始浓度、菌浓、时间、pH、外加碳源<sup>[13]</sup>等诸多因素的影响,此次试验是以选定的温度(35℃)、PT 质量浓度(100 mg/L)、菌浓(10%)、pH(7.0)进行研究的,详细的相关因素的优化还有待于进一步研究。

3.3 PT 降解菌是以 PT 为碳源,通过共代谢作用<sup>[4]</sup>,将农药中对硫磷转化为低毒或无毒物质,而使农药降低(失去)毒性,生成的 CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O、HNO<sub>3</sub> 等物质可被植物生长所利用,减少了水和化肥的施用,起到了多重功效,这是其它化学处理法无法比拟的。

3.4 有的微生物本身含有可降解该农药的酶基因,有的微生物本身并无可降解该农药的酶基因,但在农药环境中基因发生重组或改变,产生新的降解酶系<sup>[1]</sup>,因此 NY-9 降解 PT 的分子机制有待进一步研究。

3.5 有机磷农药的微生物降解途径主要有氧化、还原、脱氢、水解、脱卤、缩合、脱羧、异构化、合成等几种类型<sup>[15]</sup>,目前研究较多的主要有甲胺磷、甲基对硫磷等<sup>[16]</sup>。而菌株 NY-9 对乙基对硫磷的降

解途径及代谢产物有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘维屏. 农药环境化学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 205-207.
- [2] 刘勇, 付荣恕, 任宗明. 2 种有机磷农药联合胁迫下日本青鳉的逐级行为响应[J]. 环境科学, 2010, 31(5): 1328-1332.
- [3] Karanth S, Olivier K, Liu J, et al. In vivo interaction between chlorpyrifos and parathion in adult rats sequence of administration can markedly influence toxic outcome[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2001, 177(9): 247-255.
- [4] Yang C, Dong M, Yuan Y, et al. Reductive transformation of parathion and methyl parathion by *Bacillus* sp. [J]. Biotechnol Lett, 2007, 29 (3): 487-493.
- [5] 梁伊丽, 曾富华, 卢向阳. 有机磷农药的微生物降解研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(6): 51-55.
- [6] 王占利, 王克柱, 高乐全, 等. 一株苯噻磺隆降解菌的分离筛选与鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(25): 11880-11881.
- [7] 沈萍, 陈向东. 微生物学实验(第四版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- [8] 姜红霞, 王圣惠, 薛庆杰, 等. 甲基对硫磷降解菌 *Alcaligenes*.sp.YcX-20 的分离鉴定及降解性能研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5): 962-965.
- [9] 李海雷, 孙宏春, 张奇志, 等. 节杆菌属甲基对硫磷的降解菌株 L-W 的分离及降解特性[J]. 核农学报, 2008, 22(2): 192-195.
- [10] 姜彬慧, 史艳芳, 李志明, 等. 一株对硫磷降解菌的诱变复壮研究[J]. 安全与环境学报, 2008, 8(6): 9-13.
- [11] 张威, 唐纲岭, 刘惠民, 等. 烟草中含硫有机磷杀虫剂残留量的测定[J]. 烟草科技, 2006(4): 27-30.
- [12] 刘云焕, 陈东海. 微生物降解有机磷农药的研究进展[J]. 北方环境, 2005, 30(1): 22-24.
- [13] 王永杰, 李顺鹏, 沈标, 等. 有机磷农药广谱活性降解菌的分离及其生理特性研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 42-45.
- [14] 崔中利, 李顺鹏, 何健. 甲基一六〇降解菌 J5 的分离及降解性状研究[J]. 农村生态环境, 2001, 17(3): 21-25.
- [15] 何霞, 红娟. 微生物降解有机磷农药残留的研究进展[J]. 山西化工, 2011, 31(4): 27-29.
- [16] 李福后, 王伟霞. 微生物降解有机磷农药的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(22): 10659-10661.

(上接第 32 页)

- [15] Heijman, C. G., Griender, E., Holliger, C., Schwarzenbach, R. P. Environ. Sci. Technol. 1995(29): 775.

- [16] Lovley, D. R., Phillips, E. J. P. Appl. Environ. Microbiol. 1986(51): 683.