

# 两株分解除草剂丁·苄的双效菌株筛选、 鉴定及其降解特性研究

刘 军 霍光华\*

(江西农业大学 生物科学与工程学院 江西 南昌 330045)

**摘要:**为了获得能同时分解丁草胺和苄嘧磺隆的菌株,从连续施用丁·苄3年以上的水稻田土壤中分离筛选出15株能以丁草胺和苄嘧磺隆为唯一碳源的菌株,进一步复筛获得了两株菌Dx9、Dx12。通过ITS序列分析确定Dx9与青霉属的*Penicillium expansum* Y2-08(GU134896),Dx12与曲霉属的*Aspergillus fumigatus*(FM999061)均有99%同源性。在底物浓度为100 mg/L(20%丁·苄500 mg/L),pH 7.0,培养温度为35℃,摇床转速为180 r/min的条件下,接种1.0 mL( $10^7$  cfu/mL)培养72 h,Dx9对丁草胺和苄嘧磺隆的降解率分别为87.3%和95.6%,Dx12对丁草胺和苄嘧磺隆的降解率分别为92.1%和88.5%。由此可见,该两菌株对除草剂丁·苄污染的土壤具有较好地生物修复作用。

**关键词:**双效分解菌;丁草胺;苄嘧磺隆;降解特性

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2011)06-1212-07

## A Study on Screening , Identification and Degradation Characteristics of Two Strains with Double Effects on Butachlor and Bensulfuron Methyl

LIU Jun ,HUO Guang-hua\*

( College of Biological Science and Engineering , Jiangxi Agricultural University , Nanchang 330045 , China)

**Abstract:** Two strains of fungi Dx9 and Dx12 capable of simultaneously degrading butachlor and bensulfuron methyl were obtained from primarily screened fifteen strains which only degradate butachlor or bensulfuron methyl from paddy field soil which was applied with butachlor and bensulfuron methyl for over three years. Based on the phylogenetic analysis of ITS sequence , the strains Dx9 and Dx12 were identified as 99% homologous with *Penicillium expansum* Y2-08( GU134896) and *Aspergillus fumigatus*( FM999061) respectively. The degradation rates of strain Dx9 on butachlor and bensulfuron methyl were 87.3% and 95.6% , while the rates of strain Dx12 were 92.1% and 88.5% at the concentration of 100 mg/L( 20% butachlor and bensulfuron methyl 500 mg/L) and under the condition of 30℃ , pH 7.0 , 180 r/min , inoculation  $1 \times 10^7$  cfu/mL and incubation 72 h. Judging from this , the strains Dx9 and Dx12 are of good bioremediation function for soil polluted by herbicides of butachlor and bensulfuron methyl.

**Key words:** double effect degradation strain; butachlor; bensulfuron methyl; degradation characteristics

我国是农业大国,除草剂的施用一直是保证粮食稳定高产的有效手段之一,但是随之带来的化学有机污染也出现了十分严重的问题。目前稻田使用最广泛的除草剂之一是丁·苄<sup>[1]</sup>,它由丁草胺和苄嘧

收稿日期:2011-05-05 修回日期:2011-09-15

基金项目:国家科技支撑项目(2006BAD05B09)和江西省研究生创新基金项目(YC08A055)

作者简介:刘军(1982—)男,硕士,主要从事生物芯片研究,E-mail:liujunwyp520@163.com;\*通讯作者:霍光华,教授,博士,E-mail:hgh3813899@sohu.com。

磺隆复配而成的一种新型稻田除草剂。

丁草胺防除稗、千金子、硬草、看麦娘、牛筋草、狗尾草、异型莎草、碎米莎草、牛毛毡等一年生禾本科杂草与莎草。由于丁草胺的大量施用, 不可避免地在农田生态系统中残留, 对环境造成很大污染<sup>[2-4]</sup>。有研究<sup>[5-6]</sup>报道, 一定剂量的丁草胺可导致正常人体淋巴细胞的染色体失常, 改变正常小鼠肝脏细胞(BNLCL2)的生长特征, 并通过细胞增殖诱导细胞的恶性变异<sup>[7]</sup>; 微核试验显示丁草胺可引发鲮鱼红细胞的染色体改变<sup>[8]</sup>。

苄嘧磺隆是支链氨基酸合成的一种抑制剂, 通过抑制植物体内乙酞乳酸合成酶(ALS)的活性来阻碍缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成, 最终导致杂草死亡。苄嘧磺隆具弱酸性(pH5.2), 土壤对其吸附能力弱<sup>[9-11]</sup>, 因此容易对地表水和地下水造成污染。苄嘧磺隆进入水体后, 很低浓度下即可对水生生物产生毒害。Wei等<sup>[12]</sup>研究了磺酰脲类除草剂及其降解产物对绿藻的毒性, 结果表明苄嘧磺隆是磺酰脲类除草剂中毒性最大。

当前丁草胺和苄嘧磺隆的复配使用, 使水稻田受到双重污染。李川等<sup>[13]</sup>从经常使用丁草胺的稻田土壤中分离到一株茄类镰刀菌(*Fusarium solani*), 王占利等<sup>[14]</sup>从农药污染的土壤中分离筛选出降解苄嘧磺隆的微生物菌株(黄单胞菌属*Xanthomonas*), 但是这些仅能单独分解一种除草剂。若能获得同时降解丁草胺和苄嘧磺隆的降解菌将对污染的农田土壤修复具有重要意义。本研究报道从施用丁·苄的稻田土壤中分离的能同时分解丁草胺和苄嘧磺隆的两株真菌Dx9、Dx12及其鉴定和降解特性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 土样 采集已连续使用丁·苄3年以上的水稻田土壤, 采集深度5~20 cm的土样, 置于已灭菌的广口塑料瓶中备用。

1.1.2 试剂 20%丁·苄WP(19.4%丁草胺、0.4%苄嘧磺隆)(江西盛华生物农药有限责任公司), 90%丁草胺原药、90%苄嘧磺隆原药(广州润土农药化工有限公司)。

1.1.3 培养基 ①丁·苄基础无机盐培养液: 将基础无机盐溶液进行高压蒸汽灭菌后, 按试验要求加入不同浓度的丁草胺和苄嘧磺隆作为唯一碳源<sup>[15]</sup>。

②丁·苄固体基础培养基: 在丁·苄基础无机盐培养液里面添加浸泡2 d的琼脂20 g/L<sup>[15]</sup>。

### 1.2 方法

1.2.1 降解菌的筛选、分离 (1) 降解菌的富集: 在250 mL的三角瓶中加入50 mL丁·苄基础无机盐培养液(含丁·苄100 mg/L), 加入10 g新鲜土样, 置于30℃恒温摇床(180 r/min)培养, 每7 d添加10 mL新鲜培养液, 每次增加浓度100 mg/L的丁·苄溶液, 富集培养时间约2个月, 至培养液中的丁·苄浓度达到200 mg/L<sup>[13]</sup>。

(2) 降解菌的分离纯化: 用平板划线法, 在丁·苄固体基础培养基上对富集培养后的菌液进行分离纯化。取优势菌落, 在相同培养基上连续纯化3次。

(3) 高效降解菌的筛选与保藏: 将纯化的菌株接种于斜面培养基上培养, 用无菌水制备菌悬液, 接种1 mL菌悬液于含200 mg/L丁·苄的100 mL基础无机盐培养液中, 30℃恒温摇床(180 r/min)培养72 h, 提取丁草胺和苄嘧磺隆并进行分析。挑选出既能降解丁草胺又能降解苄嘧磺隆的菌株, 将其接种到马丁氏斜面培养基<sup>[13]</sup>上, 30℃恒温培养24 h, 置于4℃冰箱保藏, 作为后续研究的高效降解菌种。

1.2.2 丁草胺和苄嘧磺隆的降解率测定 (1) 丁草胺样品处理 将分离已降解的反应液离心(4 000 r/min, 30 min)过滤后取10 mL上层液, 移置125 mL分液漏斗中, 3×30 mL重蒸石油醚振荡萃取3次, 取有机相经无水硫酸钠柱过滤, 将收集到的有机相经旋转蒸发后定容至2 mL, 待测。

(2) 丁草胺测定的气相色谱操作条件 采用气相色谱仪(SP6800A) FID检测器, 细管柱SE-30(2.0 m×3.2 mm)。进样口温度185℃, 柱温180℃, 检测器温度250℃, N<sub>2</sub>流速为35 mL/min, H<sub>2</sub>流速为45 mL/min, 空气流速450 mL/min, 进样量: 1.0 μL。

(3) 苄嘧磺隆样品处理: 发酵液摇匀、静置、过滤后量取100 mL, 于分液漏斗中, 加入5 g NaCl、6 mol/L HCl 1 mL, 用25 mL乙酸乙酯提取3次, 弃去下层水相, 合并有机相。于有机相中加入100、100、50 mL 2%

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  水溶液振摇萃取3次,合并下层水相置于另一分液漏斗中,再加入6 mol/L HCl 6~8 mL调节pH值为 $(2.0 \pm 0.5)$  25 mL乙酸乙酯三次提取,有机相经无水硫酸钠脱水入平底烧瓶浓缩至干。样品用液相色谱流动相定容至2 mL,过有机相膜直接进样。用同样的方法从含50、100、200 mg/L丁·苄反应液中提取苄嘧磺隆,并计算苄嘧磺隆回收率<sup>[18]</sup>。

(4) 苄嘧磺隆测定的液相色谱操作条件采用液相色谱仪(LC-1000) 填充柱 C18 150 mm × 4.6 mm 波长 250 nm 流动相为 V(甲醇):V(水):V(冰醋酸) = 100:50:0.9 流速 1 mL/min,保留时间 4 min 6 s,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

(5) 计算公式:

$$X = (A/B - C/D) / (A/B) \times 100\% \quad (1)$$

式中: X: 丁草胺或苄嘧磺隆的降解率(%); A: 对照培养液中丁草胺或苄嘧磺隆的浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); B: 对照发酵液中提取丁草胺或苄嘧磺隆的回收率(%); C: 分解菌培养液中丁草胺或苄嘧磺隆的浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); D: 接分解菌发酵液中提取的丁草胺或苄嘧磺隆的回收率(%).

1.2.3 降解菌对丁草胺和苄嘧磺隆的降解性能测定 (1) 菌悬液的制备: 将保藏的供试菌种放在30  $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养活化24 h,然后在菌株斜面上加入无菌水至斜面顶,用接种环刮下菌苔,接种于含有25 mL马丁氏液体培养基100 mL三角瓶中,35  $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床(180 r/min)培养20 h后,培养液经4 500 r/min离心10 min,弃去清液,菌体用pH 7.0 0.2 mol/L  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 磷酸盐缓冲液10 mL分5次洗涤,并用该缓冲液稀释,使其浓度约为 $10^7$  cfu/mL。

(2) 反应液的配制: 将菌悬液和丁·苄基础无机盐培养液以一定比例在烧杯中混合均匀,使混合液达到试验所需要的丁·苄浓度和菌体浓度,然后用1 mol/L的HCl和的1 mol/L NaOH调节pH到一定值,即得反应液。

(3) 影响丁·苄降解率的因素: 每250 mL三角瓶中装入100 mL反应液作为处理样,35  $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床(180 r/min)培养72 h,间隔取样,测定残余丁草胺和苄嘧磺隆的浓度,求出降解率,在接种量、温度、pH值、时间等因素中,分别考察某个因素的不同水平对丁草胺和苄嘧磺隆降解的影响。试验重复3次。

1.2.4 分解菌种的鉴定 采用文献[19]的方法提取真菌的总DNA,用真菌ITS序列通用引物ITS1:(5' - TCCGTAGGTAACCTGCGG - 3')和ITS4(5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3')扩增两株真菌的ITS区,扩增片段长度为600 bp左右。扩增体系为50  $\mu\text{L}$ 体系,其中上下游引物各0.5  $\mu\text{L}$ (10  $\mu\text{mol/L}$ ),PCR Loading Dye Mix (TaKaRa) 25  $\mu\text{L}$ ,适量模板,加无菌去离子水至50  $\mu\text{L}$ 。PCR反应条件:95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,然后95  $^{\circ}\text{C}$  30 s,55  $^{\circ}\text{C}$  30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  1 min,共30个循环;最后72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。10 g/L琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增结果,送华大基因科技有限公司测序。

1.2.5 基于真菌ITS序列的系统发育树的构建 将所得序列在NCBI上利用Blast搜索GenBank数据库,找出相似序列,用Clustal X进行多序列比对,用MEGA 4.0程序中的邻接法(Neighbor-Joining),采用Kimura双参数计算模型构建系统发育树。本研究所得两真菌的ITS序列提交至GenBank数据库,获得登录号分别为GU726140和GU726139。

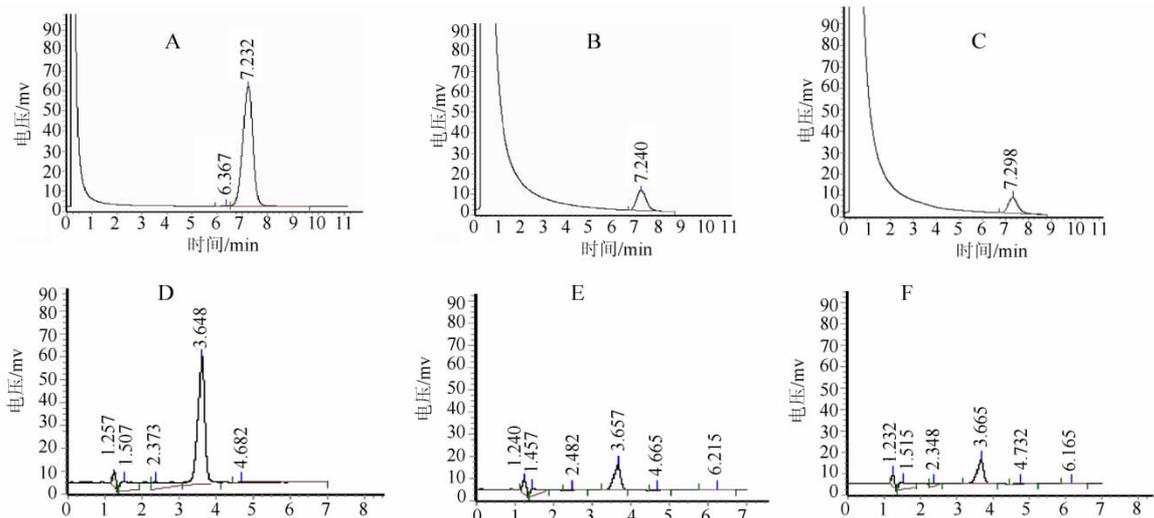
## 2 结果分析

### 2.1 丁·苄降解菌的筛选结果

2.1.1 降解菌的富集、分离和纯化 通过2个月的富集,在以丁·苄为唯一碳源的基础培养基上划线培养,在根据形态特征合并相同的菌株,共获得15株能在基础培养基上生长的菌株。再经过发酵培养,提取发酵液,以未接菌的为对照,通过液相和气相的检测,筛选到两株既能分解丁草胺又能分解苄嘧磺隆的菌株,标号为Dx9和Dx12。

2.1.2 丁·苄提取的可靠性分析 可靠性分析以全过程标准添加回收率及方法的精密度来衡量。提取效率的高低是影响标准添加回收率的决定因素,同时也是决定试验结果能否正确反应微生物降解能力的关键因素,应选择简单可行的方法,以保证农药的高效提取。

准确量取丁草胺原药和苄嘧磺隆原药溶液(按20%丁·苄浓度比例)加入到基础培养液,配制成不同浓度的丁·苄基础培养液(10、50、100 mg/L),按照上述丁草胺和苄嘧磺隆的提取方法,在相同的色谱



A: 对照气相色谱图, B: Dx9 分解丁草胺的气相色谱图, C: Dx12 分解丁草胺的气相色谱图, D: 对照液相色谱图, E: Dx9 分解苄嘧磺隆的液相色谱图; F: Dx12 分解苄嘧磺隆的液相色谱图。

A: GC map of CK with butachlor; B: GC map of butachlor degradation using Dx9; C: GC map of butachlor degradation using Dx12; D: HPLC map of CK with bensulfuron methyl; E: HPLC map of bensulfuron methyl degradation using Dx9; F: HPLC map of bensulfuron methyl degradation using Dx12.

图 1 丁草胺和苄嘧磺隆的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of butachlor and bensulfuron methyl

条件下,测定提取液中丁草胺和苄嘧磺隆的浓度,并计算标准添加回收率。丁草胺添加回收效果分别是 93.23%、95.51%、98.34%,苄嘧磺隆的添加回收效果分别是 93.52%、94.67%、97.42%,符合农药残留分析的要求<sup>[20]</sup>。

2.1.3 分解菌的降解效果 将丁草胺标准品按不同的比配成系列浓度(0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mg/mL)进样测定,结果表明:丁草胺的溶度与相应峰面积值呈良好的线性关系,线性方程为  $Y = 2.543596X + 170.274$ ,相关系数  $r^2$  为 0.9998。

将苄嘧磺隆标准样按不同比配成系列浓度(0.01、0.05、0.1、0.15、0.20 mg/mL)进样测定,结果表明:苄嘧磺隆的溶度与相应峰的面积值呈良好的线性关系,线性方程为  $Y = 117.915X - 7.681$ ,相关系数  $r^2$  为 0.9997。

以未接菌为对照,在培养液分别接入初筛获得的菌,通过气相色谱对发酵液中丁草胺含量分析,利用液相色谱对苄嘧磺隆含量分析,筛选得到 Dx9、Dx12。分解效果见图 1, Dx9、Dx12 对丁草胺降解率分别为 87.3% 和 92.1%,对苄嘧磺隆的降解率分别为 95.6% 和 88.5%。

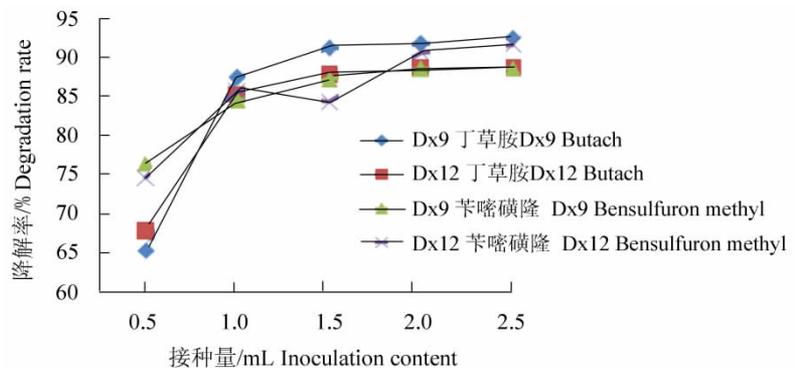


图 2 不同接种量对丁草胺和苄嘧磺隆降解影响

Fig. 2 Effect of different inoculation content on degradation of butachlor and bensulfuron methyl

## 2.2 影响丁草胺和苄嘧磺隆降解的因素

### 2.2.1 接种量 丁·苄浓度为

100 mg/L,当反应液中的接种量分别是 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 菌悬液时,调节 pH 为 6.0,35 °C 恒温摇床(180 r/min)培养 48 h 后, Dx9 号菌和 Dx12 号菌在接种量达到和超过 1.0 mL( $10^7$  cfu/mL)时,降解率都在 85% 以上(图 2)当接种量达到 2.0 mL 时,则对丁草胺的降解率影响不是很明显。Dx9 号菌和 Dx12 号菌在分解苄嘧磺隆的趋势和分解丁草胺趋势相似。

2.2.2 温度 在丁·苄浓度为 100 mg/L,菌悬液接种量为 1 mL, pH = 6.0 时。分别在 15、20、25、28,

30 33 35 37 40 42 45 °C 摇床培养 48 h ,测定菌株对丁草胺和苄嘧磺隆的降解率(图 2)。Dx9 号菌在 30 ~ 35 °C 分解丁草胺和分解苄嘧磺隆的效果最好达到 90% 以上 ,高于 37 °C 和低于 28 °C 对于分解丁草则明显下降。同样 Dx12 号菌在 28 ~ 35 °C 最适合其降解丁·苄。

2.2.3 pH 值 在丁·苄浓度为 100 mg/L ,菌悬液接种量为 1 mL ,分别在 pH 为 5.0 6.0 ,

7.0 8.0 9.0 时 ,35 °C 摇床培养 48 h 后 ,测定丁草胺和苄嘧磺隆的降解率(图 4)。两株菌在偏酸性环境下降解丁·苄效果最好 ,当 pH 6.0 和 pH 7.0 时分解丁草胺和苄嘧磺隆都达到 85% 以上 ,而 pH 大于 8 和小于 6 是其分解效果明显下降 ,这说明这两株菌对环境的 pH 有依赖性。

2.2.4 培养时间 在丁·苄浓度为 100 mg/L ,菌悬液接种量为 1 mL ,pH 7.0 时 ,35 °C 摇床培养 ,分别在 8 16 24 32 40 48 56 64 72 h 检测发酵液中丁草胺和苄嘧磺隆的分解情况。由图 5 可知: Dx9 与 Dx12 在 16 h 以前降解率都不足 30% ,在此期间主要是菌体增长和孢子的萌发阶段 ,而后进入快速降解期 ,降解速率明显提高。40 h 时 Dx9 菌苄嘧磺隆降解率达到 90% ,而 Dx12 仅为 50% ,此两菌对应的分解丁草胺的降解率是 68% 和 73%。由此可见 9 号菌分解优先利用苄嘧磺隆 ,而 12 号菌更早的利用丁草胺。72 h 后降解率均达到 95% 以上。

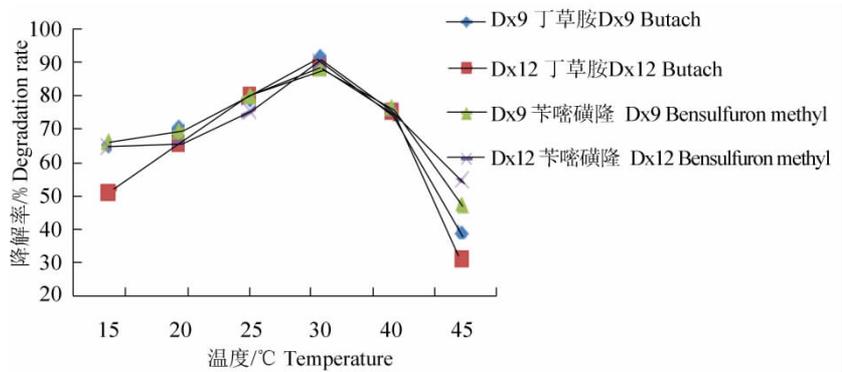


图 3 不同温度对丁草胺和苄嘧磺隆降解的影响

Fig.3 Effect of different temperature on degradation of butachlor and bensulfuron methyl

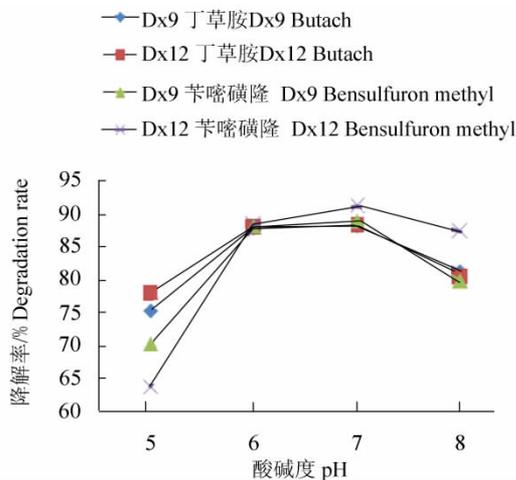


图 4 不同 pH 值对丁草胺和苄嘧磺隆降解的影响

Fig.4 Effect of different pH on degradation of butachlor and bensulfuron methyl

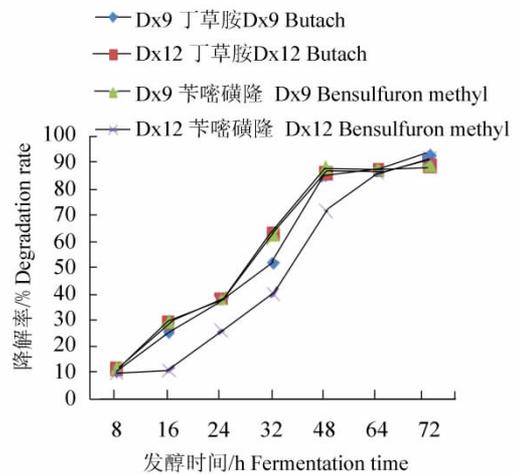


图 5 不同发酵时间对丁草胺和苄嘧磺隆降解的影响

Fig.5 Effect of different fermentation time on degradation of butachlor and bensulfuron methyl

2.3 降解菌株 ITS 的 PCR 扩增及序列测定

分离到的两株既能分解丁草胺又能分解苄嘧磺隆的降解菌株 Dx9 和 Dx12 的基因组和它们的 ITS 片段大小分别约为 2 300 kb 和 700 kb(图 6)。

通过 PCR 对目标 DNA 扩增 ,将回收的 ITS rDNA ,送华大基因进行测序 ,Dx9 和 Dx12 两菌株的 ITS 测序结果分别如下:

Dx9: CCACCCGTGTTTATCGTACCTTGTTCGCTTCGGCGGGCCCGCTCACGGCCGCCGGGGGCATCCGCCCGGGCCCGCCCGCCCGCGGAAGACACACAAACGAACCTTGTCTGAAGATTGCAGTCTGAGTACTTGACTAAATCAGTTAAAACCTTCAACAACGGA TCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCAGTGAATCATCGAGTCTT

TGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTT  
 GGGCTCTCGCCCCCGCTTCCGGGGGGCGGGCCGAAAGGCAGCGGGCGGCACCGCGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTC  
 GTCACCGCTCTGTAGGCCCGCCGGCGCCCGCGGCGAACACCATCAATCTTAACCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGAT  
 ACCCGTGAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA。

Dx12: CTATCGTACCTTGTGCTTCGGGGGGCCCGCGTTTCGACGGCCGCGGGAGGCCTTGCGCCCGGGCCCGCGCCCGCC  
 GAAGACCCCAACATGAACGCTGTTCTGAAAAGTATGCAGTCTGAGTTGATTATCGTAATCAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCT  
 CTTGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTG  
 AACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCGTGCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGG  
 CCCCCGTCCCCCTCTCCGGGGGACGGGCCGAAAGGCAGCGGGCGCACCGCGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCA  
 CCTGCTCTGTAGGCCCGCCGGCGCCAGCCGACACCCAACCTTATTTTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGC  
 TGAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA。

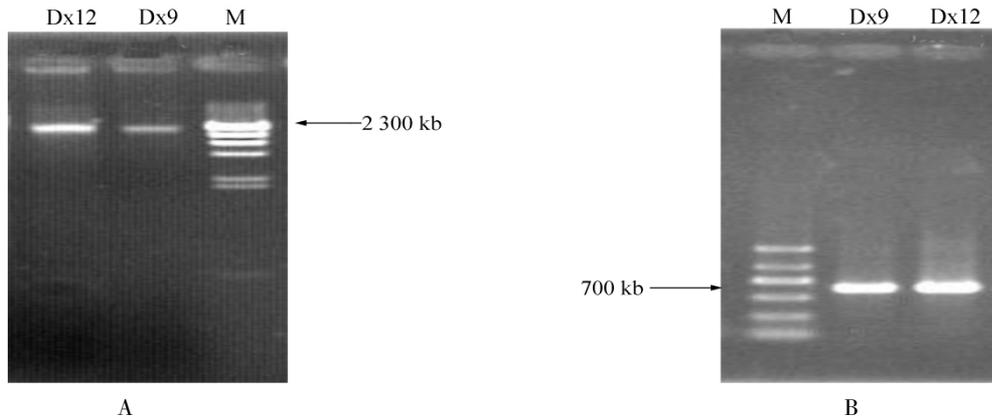
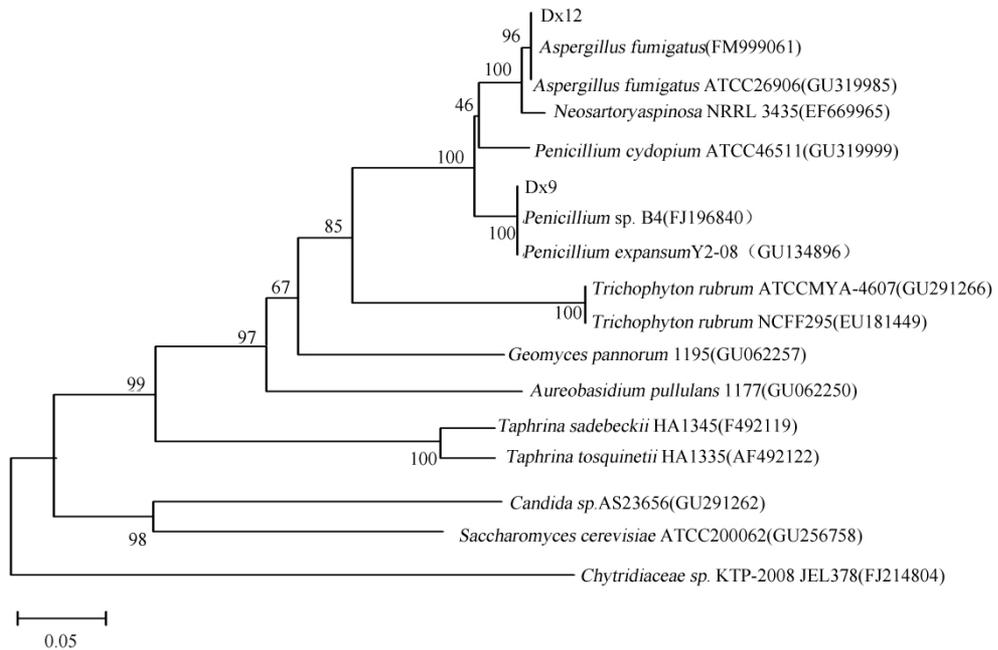


图 6 降解菌株 Dx9、Dx12 基因组及其 ITS rDNA 的电泳图

Fig. 6 Electrophoresis map of genome extracted from strain Dx9 and Dx12 and their ITS rDNA



Numbers close to nodes are bootstrap proportions. Scale bar 0.05 = 5% difference among nucleotide sequences.

图 7 真菌 Dx9 和 Dx12 极其相似菌株 ITS 序列的系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree based on the ITS sequences from strain Dx9 , Dx12 and relating species

2.4 菌株的系统发育定位

将 Dx9 和 Dx12 的 ITS 序列在 NCBI 上用 Blast 进行同源性比较 ,两株菌序列极其相近类群序列利用

MEGA4 软件构建系统进化树(图7)。分析结果表明菌株 Dx9 与青霉属的 *Penicillium expansum* Y2-08 (GU134896) 的相似性为 99% ,菌株 Dx12 与曲霉属的 *Aspergillus fumigatus*( FM999061) 的同源性达到 99% 。

### 3 小 结

(1) 通过富集培养从常年施用丁·苄的稻田土中获得了两株能同时分解丁草胺和苄嘧磺隆的真菌 Dx9 和 Dx12 经过菌种鉴定 Dx9 与青霉属的 *Penicillium expansum* Y2-08( GU134896) ,Dx12 与曲霉属的 *Aspergillus fumigatus*( FM999061) 的同源性均达到 99% 。两株菌均能以丁·苄为唯一碳源生长。

(2) 在丁·苄基础盐培养液中 ,Dx9、Dx12 在底物质量浓度为 100 mg/L( 20% 丁·苄 500 mg/L) , pH 7.0 培养温度为 35 ℃ 摇床转速为 180 r/min 的条件下 ,接种 1.0 mL(  $10^7$  cfu/mL) 培养 72 h ,对丁草胺的降解率分别为 87.3% 和 92.1% ,对苄嘧磺隆的降解率分别为 95.6% 和 88.5% 。

(3) 两株菌对基础无机盐溶液中的丁草胺和苄嘧磺隆均同时具有强烈的降解能力。这对生物治理丁草胺和苄嘧磺隆的农药残留及水环境污染显示出重要的潜在应用价值。

#### 参考文献:

- [1]张敏恒.新编农药商品手册[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [2]侯任昭.丁草胺对撒播水稻安全性的研究[J].农药,1988,27(5):36.
- [3]高希武,郭艳春,王恒亮,等.新编实用农药手册[M].郑州:中原农民出版社,2002:456-457.
- [4]刘长令.世界农药大全:除草剂卷[M].北京:化学工业出版社,2002:259-260.
- [5]Sapna S ,Natarajan P ,Govindaswamy S. Genotoxicity of the herbicide butachlor incultured human lymphocytes [J]. Mutat Res ,1995 ,344: 63-67.
- [6]Debnath A ,Das A C ,Mukherjee D. Persistence and effect of butachlor and basalin on the activities of phosphate solubilizing microorganisms in Wetland rice soil[J]. Bull Environ Contam Toxicol 2002 ,68:766-770.
- [7]Ou Y H ,Chung P C ,Chang Y C , et al. Butachlor a suspected carcinogen alters growth and transformation characteristics of mouse liver cells [J]. Chem Res Toxicol ,2000 ,13: 1321-1325.
- [8]Ateeq B ,Abulfarah M ,Niamatali M , et al. Induction of micronuclei and erythrocyte alteration in the catfish *Clarias batrachus* by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and butachlor [J]. Mutation Research ,2002 ,518: 135-144.
- [9]司友斌,岳永德,陈怀满,等.苄嘧磺隆在土壤中的光解[J].土壤学报,2003,40(6):963-966.
- [10]司友斌,周静,王兴祥,等.除草剂苄嘧磺隆在土壤中的吸附[J].环境科学,2003,24(3):122-125.
- [11]Sabadie J. Degradation of bensulfuron-methyl on various minerals and humic acids [J]. Weed Research ,1997 ,37: 411-418.
- [12]Wei L P ,Yu H X ,Sun Y , et al. The effects of three sulfurylurea herbicides and their degradation products on the green algae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Chemosphere ,1998. 37(4): 747-751.
- [13]李川.丁草胺高效真菌的分离及性能研究[J].农业环境科学学报,2004,23(3):611-614.
- [14]王占利.一株苄嘧磺隆降解菌的分离、筛选与鉴定[J].安徽农业科学,2009,37(25):11880-11881.
- [15]徐文东,文湘华.偶氮染料派拉丁蓝 RRN 脱色细菌的选育与研究[J].环境科学学报,2001,21:127-132.
- [16]沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].3版.北京:高等教育出版社,1999:56-57.
- [17]楚小强.丁草胺降解菌的分离鉴定及降解特性的研究[J].农业环境科学学报,2009,28(1):145-150.
- [18]吴俐勤.苄嘧磺隆在水稻上的残留降解研究[J].浙江农业学报,2000,12(6):393-396.
- [19]Hoffmann C S ,Winston F A. Ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of *Escherichia coli* [J]. Gene ,1987 ,57(2): 267-272.
- [20]岳永德.农药残留分析[M].北京:中国农业出版社,2002:53-87.