

一株新耐冷菌 SA-8 降解有机磷农药的研究^{*}

李 荷, 梁卫驱, 吴小映, 刘玉焕

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 从东北地区受农药长期污染的土壤中通过富集培养、分离筛选到一株甲基对硫磷高效降解菌 SA-8, 根据生理生化特征, 初步鉴定为邻单胞菌 *Plesiomonas* sp.。菌株降解甲基对硫磷的最适温度和 pH 分别为 20 ℃ 和 7.0, 在此条件下培养 24 h, 降解率达 93%; 当温度位于 10 ℃ 时, 降解率也有 66.2%; 而在 35 ℃ 时降解率仅为 27.3%。这些结果表明 SA-8 是一株耐冷有机磷农药降解菌。

关键词: 邻单胞菌; 耐冷菌; 机磷农药

中图分类号: S182 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 03-0131-02

随着现代农业的发展, 农药作为杀虫剂在农业得到广泛应用。由于它们大多是有毒或巨毒的化学合成物质, 长期大规模的生产和使用对人类赖以生存的环境造成了严重的污染和危害, 危害人们的身体健康。迫切需要经济方便、安全实用的净化措施消除有机磷农药的污染, 妥善地解决好有机磷农药生产使用 and 环境保护的问题, 实现社会的可持续发展^[1]。

传统的物理和化学方法降解有机磷农药虽然处理效果不错, 但成本太高, 而且容易造成二次污染, 因此只能作为一种辅助手段加以利用。随着生物技术的不断发展, 人们对有机磷农药的降解进行了大量和有益的探索, 充分肯定了中温微生物对环境中有机磷农药降解发挥非常重要作用, 利用生物修复技术可以加速环境中外源污染物的降解, 是一种高效、经济且生态可承受的清洁手段^[2]。在这一复杂的生物学过程中, 温度是影响微生物降解活性发挥的重要因素之一, 随着温度的下降, 微生物生长和代谢速率降低。当环境温度降低到低于它的最低生长温度时 (大多数中温微生物的最低生长温度为 10 ℃), 微生物停止生长, 进入休眠状态。考虑到我国北方冬季气候寒冷, 冰冻期长达 3~6 月, 这种自然条件必然对常温微生物的生物修复造成不利影响。

而低温微生物由于长期生活在寒冷的环境中, 在自然选择的作用下形成一套独特的与低温环境相适应的分子机制, 特别是耐冷菌比嗜冷菌更能忍受温度的波动, 适应范围更广泛, 所以, 耐冷菌更能适合低温条件下的生物修复过程, 较好地解决低温

条件处理效果差的难题^[3]。本文报道了从我国东北地区农田土壤中筛选的一株甲基对硫磷为唯一碳源的低温降解菌株 SA-8, 并对其降解特性进行了初步研究, 据我们所知, 这是首次冷适应微生物降解有机磷农药的研究报道。

利用富集方法将采集的农药污染土样配制成 $w=10\%$ 的悬浮液, 然后以 $w=2\%$ 的接种量接入到含有 50 mg/L 甲基对硫磷的无机盐培养基中, 并加适量玻璃珠震荡培养, 待菌长出, 取适量菌液接入同样培养基中 20 ℃ 培养, 90 d 的传代过程中甲基对硫磷的浓度从 50 mg/L 逐步增加到 500 mg/L, 利用平板稀释法分离筛选富集的农药降解单菌落。然后将单菌落点植含有 200 mg/L 对硝基苯酚的无机盐固体培养基中, 当平板的颜色由黄色变为白色时, 选取在培养基上生长速度快, 菌落形状规则的菌株进行传代实验, 性能稳定的 SA-8 转入斜面保存, 进行菌种鉴定和性能的进一步测试。

菌株 SA-8 呈短杆状, 单极生鞭毛, 革兰氏染色阴性, 不产芽孢, 氧化、发酵葡萄糖产酸不产气, 无胞外淀粉酶活性, 接触酶和氧化酶阳性, 不产非水溶性色素, 发酵肌醇产酸, 根据这些特征初步鉴定为邻单胞菌 (*Plesiomonas* sp.)。

菌株 SA-8 能够利用甲基对硫磷或对硝基苯酚在 20 ℃ 快速生长, 在生长过程中唯一碳源甲基对硫磷的浓度明显降低, 与此同时伴随着降解产物对硝基苯酚浓度的增加。经过一段时间的诱导或耐受过程, 菌株会利用二次底物对硝基苯酚为碳源和能源继续生长, 并且对硝基苯酚的减少与生物量的增加成正比例关系。

^{*} 收稿日期: 2003-12-09

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (031618); 广东省科技计划重点资助项目 (C32402)

作者简介: 李荷 (1968 年生), 女, 博士生; 通讯联系人: 刘玉焕, E-mail: ls112@zsu.edu.cn

pH 和温度对 SA-8 的生长和甲基对硫磷降解实验结果表明: SA-8 菌株生长和降解甲基对硫磷的最适是 pH 7.0, pH 过高或过低, 菌株的降解能力都会受到影响。在 10~30 °C 范围内生长较好, 温度高于 35 °C 时生长受到抑制, 降解甲基对硫磷的最适温度是 20 °C, 降解率达 93%, 即使温度在 10 °C 的条件下, 降解率也有 66.2%, 表明该菌株在低温条件下能够发挥更好的作用, 由此确定该菌株为耐冷菌。

菌株 SA-8 不仅能够降解甲基对硫磷、对硫磷、对氧磷等含有 P-O 键的有机磷农药, 而且也能水解内吸磷、亚胺硫磷等含有 P-S 键的有机磷农药, 表明该菌株所产生的降解酶具有广谱性。

鉴于菌株 SA-8 的耐冷特性以及能够降解多

种有机磷农药的特点, 该菌株有希望应用于有机磷农药污染环境的生物修复, 提高在低温环境条件下的降解效率。

参考文献:

- [1] 江希流. 农药优先监测品种的筛选研究[J]. 环境科学进展, 1993, 1(6): 1-14.
- [2] DAYANANDA S, SYED K, MIKE M, et al. Transposon-like organization of the plasmid-borne organophosphate degradation cluster found in *Flavobacterium* sp. [J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69: 2533-2539.
- [3] MARGESIN R, SCHINNER F. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in alpine soil [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 63: 2660-2664.

Research on Biodegradation of Organophosphorus Insecticide by a Novel Psychrotrophic Bacterium SA-8

LI he, LIANG Wei qu, WU Xiao ying, LIU Yu huan

(School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The bacterial strain, which was isolated from the polluted soil in north-east china, was capable of degrading various organophosphorus pesticides effectively. Strain SA-8 was initially identified as *Plesimonas* sp. According to its biochemical physiological characters. The optimal temperature and pH for strain SA-8 growth were 20 °C and 7.0 respectively. The biodegradation rate of methyl parathion can reach 93% after 24h cultivation in suitable conditions. When the temperature is 10 °C, its degradation rate is 66.2%, but only 27.3% degradation rate at 35 °C. The experiment manifested that strain SA-8 is a good psychrotroph.

Key words: *Plesimonas* sp.; psychrotroph; organophosphorus pesticides