

氯氰菊酯农药降解菌株的稳定性研究

谢宇轩, 韩萍, 吴传兵, 林淦* (襄樊学院化学与生物科学系, 湖北襄樊 441053)

摘要 通过氯氰菊酯农药生产车间下水道中的农药的混合微生物富集驯化培养获得降解氯氰菊酯降解菌。在富集培养基中分别传代5、10、15代, 传代温度是30℃, pH值7.0, 该混合微生物呈现不同的生长曲线。继代5代的氯氰菊酯农药降解能力为55%, 继代10代的氯氰菊酯农药降解能力为52%, 继代15代的氯氰菊酯农药降解能力为50%, 表明该菌具有较好的降解能力稳定性。

关键词 氯氰菊酯; 降解菌; 稳定性

中图分类号 Q935 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02830-01

Studies on the Stability of Cypermethrin Degrading Bacterium Strain

XIE Yu-xuan et al (Department of Chemistry and Bioscience, Xiangfan College, Xiangfan, Hubei 441053)

Abstract The degrading bacterium of degrading cypermethrin was acquired through enrichment culturing of mixed microbe from pesticide in doacae of cypermethrin production workshop. The bacterium was reproduced for 5 generations (1 d as 1 generation), 10 generations, 15 generations, respectively, at 30℃, pH 7.0. The mixed microbe had different growing curves. The degrading ability of 50 ng/L cypermethrin with 5 generation reproduction was 55%, that with 10 generation reproduction was 52% and that with 15 generation reproduction was 50%, showing that the degrading bacterium had a stable degradation competence for cypermethrin.

Key words Cypermethrin; Degrading bacterium; Stability

目前氯氰菊酯农药已经广泛用于防治茶树、蔬菜、果树、棉花、花卉、林木及卫生害虫^[1]。它的应用对生态环境产生了一定的不利影响。现已通过富集驯化手段, 从农药生产车间下水道获取氯氰菊酯降解混合微生物。初步研究表明, 其对氯氰菊酯农药降解最优条件为温度35℃, pH值7.5、培养时间72 h; 以氯氰菊酯农药作为唯一生长碳源和能源时, 72 h氯氰菊酯农药降解能力为65%。为了验证该菌株降解能力的稳定性, 笔者以该菌作为降解微生物, 分别继代不同时间, 测定其对氯氰菊酯农药降解能力的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料 供试菌株为氯氰菊酯农药生产车间下水道活性污泥富集驯化培养获得的氯氰菊酯降解菌。主要试剂为5%氯氰菊酯乳油, 河北圣亚达化工有限公司; 氯氰菊酯标样, 北京康林科技有限公司。

1.2 检测方法 气相色谱测定条件^[2]: HP6890 检测, 柱温采用程序升温, 起始温度170℃, 以每分钟上升30℃的速度升至260℃, 保持10 min。检测器(FID)温度为300℃, 进样口温度为270℃, 不分流, 载气He(99.999%)流量为25 ml/min, H₂流量为30 ml/min, 空气流量为400 ml/min, 进样量为1 μl。

1.3 培养液^[3] 富集培养基。蛋白胨10 g、NaCl 1.0 g、KH₂PO₄ 1.0 g、水1 000 ml、葡萄糖1.0 g, pH值7.0; 基础培养基。NH₄NO₃ 1.00 g、MgSO₄·7H₂O 0.50 g、(NH₄)₂SO₄ 0.5 g、KH₂PO₄ 0.50 g、NaCl 0.50 g、K₂HPO₄ 1.50 g、水1 000 ml, pH值7.0; 普通培养基。牛肉膏5.0 g、蛋白胨10.0 g、NaCl 5.0 g、水1 000 ml, pH值7.0~7.2。上述培养基均经121℃灭菌30 min。

1.4 研究方法

1.4.1 降解菌的继代培养。氯氰菊酯降解菌转接入富集培养基中, 以在30℃, pH值7.0条件下培养24 h为1个传代时间, 按照该计数方式, 将氯氰菊酯降解菌分别转接5、10、15代。

1.4.2 氯氰菊酯降解菌生长曲线的制备^[4]。将继代培养5、10、15代的降解菌株, 分别用普通培养基培养, 培养条件为35℃, pH值7.5、120 r/min, 测定溶液中12、24、36、48、60、72、84、96、108、120 h的菌体浓度600 nm处的OD值(OD₆₀₀), 研究该菌在继代不同代数后的生长情况。

1.4.3 不同继代的氯氰菊酯降解菌降解能力测定。分别将原菌株和继代培养5、10、15代的氯氰菊酯降解菌接种于含50 ng/L氯氰菊酯农药的基础培养基上, 培养条件为温度35℃、pH值7.5、培养时间72 h、转速120 r/min。测定不同继代培养的氯氰菊酯降解菌对氯氰菊酯农药的降解效果。

1.5 菌体浓度 OD 值测定^[5] 采用分光光度法测定。混合液充分摇匀后直接在波长 = 600 nm处测定其吸光度。溶液的菌体浓度等于实际测定的 OD 值减去空白值(不接菌液的 OD 值)。

2 结果与分析

2.1 氯氰菊酯降解菌继代培养5代生长曲线 继代培养5代的氯氰菊酯降解菌在普通培养基上的生长曲线见图1。

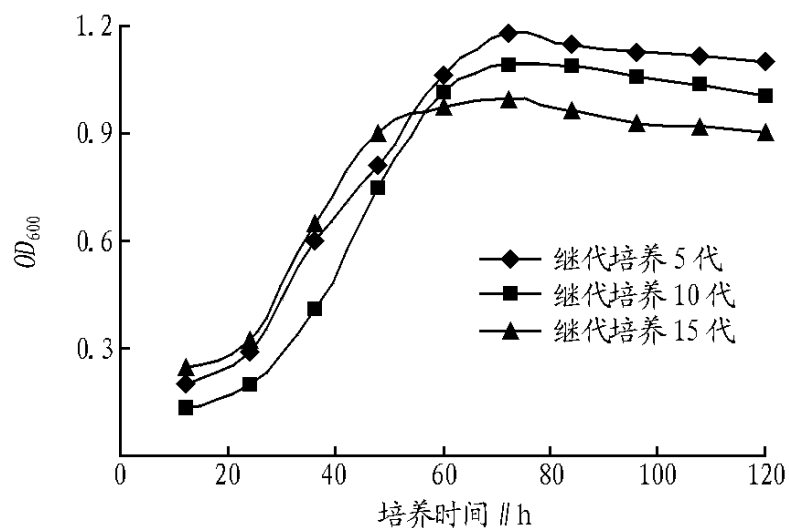


图1 继代培养5、10、15代的氯氰菊酯降解菌生长曲线

由图1可知, 在培养前期, 随培养时间延长, 菌体浓度增大; 培养72 h的菌体浓度最高, 其OD值为1.18; 之后随培养时间延长, 菌体浓度呈下降趋势。这表明该细菌生长的最适时间为72 h, 该培养时间最有利于氯氰菊酯农药的降解。

2.2 氯氰菊酯降解菌继代培养10代生长曲线 继代培养

(下转第2836页)

基金项目 湖北省教育厅科学厅科学技术研究项目(Q200625003)。

作者简介 谢宇轩(1984-), 男, 吉林长春人, 本科生, 专业: 生物技术。

* 通讯作者。

收稿日期 2006-12-31

(上接第2830页)

10代的氯氰菊酯降解菌在普通培养基上的生长曲线见图1。

由图1可知,在培养前期,随培养时间延长,菌体浓度增大;培养72 h的菌体浓度最高,其OD值为1.10;之后随培养时间延长,菌体浓度呈下降趋势。这表明该细菌生长的最适时间为72 h,该培养时间最有利于氯氰菊酯农药的降解。

2.3 氯氰菊酯降解菌继代培养15代生长曲线 继代培养15代的氯氰菊酯降解菌在普通培养基上的生长曲线见图1。

由图1可知,继代培养15代的氯氰菊酯降解菌与继代培养5代和10代的氯氰菊酯降解菌生长曲线一致。在培养前期,随培养时间延长,其菌体浓度升高;培养72 h的菌体浓度最高,其OD值为1.00。这表明该细菌生长的最适时间为72 h,该培养时间最有利于氯氰菊酯农药的降解。

2.4 不同继代培养降解菌的降解效果 试验发现,原菌株和继代培养5、10、15代的氯氰菊酯降解菌在基础培养基上培养72 h后对氯氰菊酯农药的降解率分别为65%、55%、52%

和50%。

可见,氯氰菊酯农药降解菌具有较好的降解稳定性,继代培养15代后,还能保持原菌株75%以上的降解能力。

3 结论

试验发现,氯氰菊酯降解菌在好氧条件下对氯氰菊酯农药具有较高的降解率,继代5、10、15代培养物的氯氰菊酯农药降解率仍达55%、52%及50%,表明该菌株具有较好的降解稳定性和较强的应用性。

参考文献

- [1] 陈雪芬. 茶园常用农药简介(二)[J]. 中国茶叶,1991(2): 35.
- [2] 王兆守,林淦,尤民生,等. 拟除虫菊酯类农药降解菌的紫外线诱变[J]. 华东昆虫学报,2003,12(2): 82-86.
- [3] 王兆守,林淦,尤民生,等. 拟除虫菊酯降解菌的分离、筛选及鉴定[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2003,32(2): 176-180.
- [4] 李湛江,韦朝海,任源,等. 硝基苯降解菌生长特性及其降解活性[J]. 环境科学,1999,20(5): 20-24.
- [5] 曹郁生,刘兰,洪亦武,等. 鸡盲肠菌群的厌氧连续培养及培养物的生理生长特性[J]. 中国微生态学杂志,2000,12(4): 208-210.