

高效降解真菌对大豆田除草剂 氯嘧磺隆的降解特性研究^{*}

滕春红 陶 波 赵世君

(东北农业大学, 哈尔滨 150030)

摘要 经过摇瓶富集培养,从氯嘧磺隆驯化的土壤中分离出一株大豆田除草剂氯嘧磺隆高效降解真菌,实验室暂时命名为 F8。F8 的纯培养结果表明:在 28℃,接种量 5%(体积比)的麦芽汁液体培养基中,120r·min⁻¹ 振摇 96h,其对 10mg·L⁻¹ 氯嘧磺隆的降解率达 93.85%。当 F8 加到土壤中时,可明显促进氯嘧磺隆的降解,在 28℃,土壤含水量 20%,接种量 20ml·kg⁻¹ 时可使 30ug·kg⁻¹ 氯嘧磺隆的降解半衰期由自然条件下的 46.52d 缩短为 15.03d。

关键词 降解真菌 F8; 氯嘧磺隆; 生物降解

中图分类号 S 565.105 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)01-0058-04

在大豆栽培中,杂草防治是一个重要问题,除草剂在杂草防治中发挥了重要作用。氯嘧磺隆是 80 年代中末期由美国杜邦公司开发的磺酰脲类除草剂,自 90 年代大面积使用以来,由于其杀草谱广、超高效、高选择性、可混性强、价格低等特点,一直是大豆田化学除草的主要品种。在土壤中主要通过水解和微生物降解作用而消失^[1,2],但由于其不易挥发,不易光解,残留期比较长,易对后茬敏感作物造成伤害。因此,如何消除氯嘧磺隆的残留毒性一直受到各国科学工作者的关注。

目前,国内外学者对解决除草剂残留药害问题采取了许多有效的措施。陶波等研究了化学保护剂对长残效除草剂的解毒效应及霉菌对绿磺隆的降解效应,已经取得一定成果。Madan 等报道了土壤真菌对氯磺隆的降解作用^[3],Wega 等研究了土壤微生物对甲磺隆的降解作用^[4],但有关微生物对氯嘧磺隆的降解研究很少。本文针对氯嘧磺隆的残留药害问题,从土壤中富集筛选出氯嘧磺隆的高效降解菌,研究了该菌对氯嘧磺隆的降解特性,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 土样采集

供试土壤采自东北农业大学校内小麦试验田(未施用过除草剂),土壤类型为黑土,土壤基础肥力及机械组成见表 1。

表 1 供试土壤特性

Table 1 Soil characteristics for the experiment

pH	有机质 (%) Organic matter	全氮 (%) Total N	全磷 (%) Total P	碱解氮 (mg/100g) Alk aline N	速效磷 (mg/100g) Tast P	速效钾 (mg/100g) Tast K
6.75	4.17	0.185	0.546	15.5	9.55	23.59

1.1.2 试验作物

玉米,品种为东农 248(东北农业大学玉米研究室提供)。

1.1.3 菌株来源

从氯嘧磺隆驯化的土壤中分离得到的一株氯嘧磺隆高效降解真菌,命名为 F8。

1.1.4 试验药剂

97.4%氯嘧磺隆原粉(大连瑞泽农药股份有限公司提供)。

20%氯嘧磺隆可湿性粉剂(大连瑞泽农药股份有限公司产品)。

1.1.5 培养基的制备

采用《常见与常用真菌》中的培养基^[5],并进行

^{*} 收稿日期: 2005-10-08
作者简介: 滕春红(1976-),女,博士研究生,主要从事除草剂和微生物研究工作。E-mail: tchgnace@163.com
通讯作者: 陶波

改进。菌的培养采用 pH 为 5.4 的麦芽汁液体培养基, 培养基中降解试验采用麦芽汁培养基中添加一定量的氯嘧磺隆。

1.2 试验方法及测定方法

1.2.1 最适降解条件试验方法

1.2.1.1 采用正交试验来确定最适降解条件, 因素水平见表 2。

250mL 三角瓶中, 装 100mL 含一定量(1mg、5mg、10mg · L⁻¹)的氯嘧磺隆(用原药)的麦芽汁液体培养基, 接种一定量的 F8(3%、5%、8%), 置不同温度(20℃、28℃、35℃), 120r · min⁻¹ 的摇床培养, 进行降解试验, 4d 后取菌悬液做生测, 同时设清水加药不加降解菌做对照, 测定菌株对氯嘧磺隆的降解能力。

表 2 F8 在麦芽汁培养基中对氯嘧磺隆降解条件的因素编码表

Table 2 A list of coded factors of chlorimuron-ethyl degradation by F8 cultured in a Maiyazhi medium

水平 Level	氯嘧磺隆初始浓度 (A)mg · L ⁻¹ Initial concentration	温度 (B)℃ Temperature	接种量 (C)% Inoculation quantity
1	1(10)	1(20)	1(3)
2	2(5)	2(28)	2(5)
3	3(1)	3(35)	3(8)

1.2.1.2 F8 的一般性降解试验

根据优选菌株的最适降解条件试验结果, 250mL 三角瓶中, 装 100mL 含 10mg · L⁻¹ 氯嘧磺隆的麦芽汁液体培养基, 接种 5% 的 F8 (体积比), 置 28℃, 120r · min⁻¹ 的摇床培养, 进行降解试验, 定期取菌悬液做生测, 同时设清水加药不加菌做对照, 绘制菌株的降解曲线。

1.2.1.3 F8 对土壤中氯嘧磺隆的降解试验

取 5~10cm 土层的黑土, 过 20 目筛, 配制成含 20ug · kg⁻¹ 氯嘧磺隆的土壤(相当于田间氯嘧磺隆施用量为 30g · hm⁻²), 分别进行下述处理: 对照; 加菌 5 mL · kg⁻¹; 加菌 10 mL · kg⁻¹; 加菌 20 mL · kg⁻¹, 调节含水量至 20%, 于 28℃ 下进行微生物静态培养, 定期用生物测定方法测定氯嘧磺隆浓度。

1.2.2 氯嘧磺隆测定方法(参照东北农业大学农药与杂草教研室生测方法)^[6,7]

本试验采用玉米主根长抑制率法, 测定土壤中的氯嘧磺隆浓度。采集的土壤经自然风干, 去除杂质后待用。玉米种子在 27℃ 恒温培养箱中浸种 20h。将一定量的氯嘧磺隆混入土样中, 配制成 0、0.5、1、5、10、20、30、40、50ug · kg⁻¹ 9 个浓度的氯嘧

磺隆药土, 将不同处理药土装入纸杯, 每纸杯播种 5 粒玉米种子, 每处理设 4 次重复。将纸杯放入 27±1℃ 的恒温培养箱, 黑暗条件下培养, 第三天测玉米主根长, 建立氯嘧磺隆浓度与玉米主根长抑制率之间的标准曲线。

1.2.3 计算公式

1.2.3.1 微生物降解氯嘧磺隆的降解率

降解率 % = $\frac{\text{对照残留量} - \text{处理后残留量}}{\text{对照残留量}} \times 100\%$

1.2.3.2 微生物降解氯嘧磺隆的动力学方程

微生物降解氯嘧磺隆动力学方程采用一级动力学方程拟合:

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

K: 微生物降解速率常数, C₀: 氯嘧磺隆的初始浓度, C_t: t 时刻氯嘧磺隆的残留浓度

微生物降解半衰期 $T_{1/2} = \ln 2 / k$

2 结果与讨论

2.1 F8 的最适降解条件

F8 在麦芽汁培养基中的降解试验结果表明(表 3), 所选三个因子中温度(B)对 F8 降解氯嘧磺隆的影响最显著, 极差为 22.89%, 氯嘧磺隆初始浓度(A)和接种量(B)的影响很小。综合考虑 F8 的最适降解条件为: 温度 28℃, 接种量 5% (体积比), 120r · min⁻¹ 振摇 96h, 其对 10mg · L⁻¹ 的氯嘧磺隆的降解率可达 93.85%。

2.2 F8 的一般性降解研究

氯嘧磺隆降解曲线显示(图 1), F8 对氯嘧磺隆的降解很快, 在 36h 已达到 50% 以上, 96h 基本达到最大值, 降解率达 92.97%, 而后随时间变化降解率变化很小, 这是由于培养液中物质消耗殆尽, F8 进入衰亡期。这也是最适降解条件取样时间定为 96h 的主要原因。

2.3 F8 对土壤中氯嘧磺隆的降解

2.3.1 F8 对土壤中氯嘧磺隆的降解曲线

F8 对土壤中氯嘧磺隆的降解曲线表明(图 2), 添加 F8 的土壤氯嘧磺隆的降解速度明显高于未添加 F8 的对照, 并且随着加菌量的增大, 效果更加明显, 这说明 F8 对土壤中氯嘧磺隆有较好的降解效果。处理后 45d, 对照氯嘧磺隆的残留浓度大于 10ug · kg⁻¹, 5 mL · kg⁻¹ 处理的残留浓度小于 5ug · kg⁻¹, 10 mL · kg⁻¹、20 mL · kg⁻¹ 的处理氯嘧磺隆的残留浓度小于 2.5ug · kg⁻¹, 在此浓度下

对大多数作物的生长无不良影响。

表 3 F8 在麦芽汁培养基中对氯嘧磺隆降解条件试验结果

Table 3 Result of chlorimuron – ethyl degration by F8 cultured in a Maiyazhi medium									
试验号 Treatment No.	氯嘧磺隆降解 初始浓度 (A) mg · L ⁻¹ Initial concentration	温度 (B) °C Temperature	接种量 (C) % Inoculation quatiy	降解率 (%) Degradation rate	试验号 Treatment No.	氯嘧磺隆降解 初始浓度 (A) mg · L ⁻¹ Initial concentration	温度 (B) °C Tem perature	接种量 (C) % Inoculation quatiy	降解率 (%) Degradation rate
1	1(10)	1(20)	1(3)	70. 28	K 1	252. 48	206. 9	244. 89	
2	1(10)	2(28)	2(5)	93. 85	K 2	244. 22	275. 59	249. 52	
3	1(10)	3(35)	3(8)	88. 35	K 3	45. 79	259. 98	48. 08	
4	2(5)	1(20)	3(8)	68. 25	k1	84. 16	68. 97	81. 63	
5	2(5)	2(28)	1(3)	90. 26	k2	81. 93	91. 86	83. 17	
6	2(5)	3(35)	2(5)	87. 28	k3	81. 4	86. 66	82. 69	
7	3(1)	1(20)	2(5)	68. 37	极差 R	2. 76	22. 89	1. 54	
8	3(1)	2(28)	3(8)	91. 48					
9	3(1)	3(35)	1(3)	84. 35					

2. 3. 2 不同接种量土壤中氯嘧磺隆的残留与消解

F8 对氯嘧磺隆的降解动力学参数表明(表 4), 土壤接种 F8 后, 氯嘧磺隆降解半衰期明显缩短。接种量为 5 mL · kg⁻¹、10 mL · kg⁻¹、20 mL · kg⁻¹

的处理半衰期分别比对照土壤中的缩短了 1. 3 倍、1. 79 倍、2. 10 倍, 且接种量越大, 效果越明显, 这进一步说明 F8 对土壤中氯嘧磺隆有较好的降解作用。

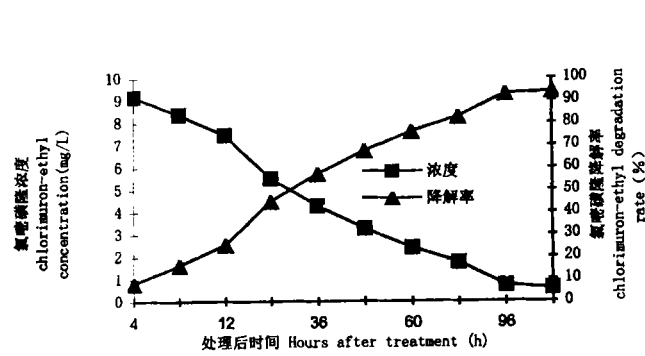


图 1 F8 对氯嘧磺隆的降解曲线

Fig. 1 The curved line of chlorimuron-ethyl degradation by F8

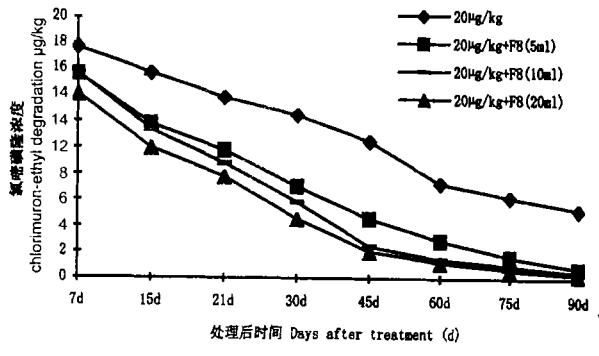


图 2 F8 对土壤中氯嘧磺隆的降解曲线

Fig. 1 The curved line of chlorimuron-ethyl degradation by F8 in soil

表 4 F8 对氯嘧磺隆的降解动力学参数

Table 4 Kinetic data of biodegradation of chlorimuron ethyl by F8					
氯嘧磺隆浓度 (mg · kg ⁻¹) Initial con centration	接菌量 (mL · kg ⁻¹) Inoculation quantity	回归方程 C _t = C ₀ e ^{-kt}	相关系数 (r)	速率常数 (k)	半衰期 (T _{1/2})
20	0	C _t = 19. 4355e ^{-0.0149t}	0. 9949	0. 0149	46. 52
20	5	C _t = 20. 3443e ^{-0.0343t}	0. 9970	0. 0343	20. 21
20	10	C _t = 20. 0574e ^{-0.0415t}	0. 9960	0. 0415	16. 70
20	20	C _t = 19. 2864e ^{-0.0461t}	0. 9983	0. 0461	15. 03

3 讨论

本文通过富集培养, 从土壤中分离出对氯嘧磺

隆有高效降解作用的菌株 F8, 其对大豆田中残留的氯嘧磺隆有较好的降解作用, 为解决大豆田氯嘧磺隆的残留药害问题提供了一条切实可行的途径。本文报道的是在实验室条件下得出的初步结果。有

关该降解菌的种类鉴定、分子生物学特性及降解机制等有待进一步深入研究。

参 考 文 献

1 陶波, 苏少泉. 农作物磺酰脲类除草剂耐性的研究[J] . 东北农业大学学报, 1995, (5): 10- 20

2 邓金保编译. 磺酰脲类除草剂综述[J] . 世界农药, 2003, 25(3): 24- 32

3 Madan. Joshi and Hugh M. Brown. Degradation of chlorsulfuron

by soil microorganism[J] . Weed Science, 1985, (33): 888 - 893

4 Vega D. Bastide J. Poulain C. Chemical or microbial degradation of sulfonylureas in the soil II: Metsulfuron - methyl[J] . Weed Res, 1992, 32: 149 - 155

5 中国科学院微生物研究所常见与常用真菌编写组. 常见与常用真菌[M] . 北京: 科学出版社, 1973, 250 - 270

6 陶波, 苏少泉. 农得时活性与在水稻田中降解动态的研究[J] . 中国水稻科学, 1995, 9(1): 57 - 59

7 宋小玲, 马波, 皇甫超河, 等. 除草剂生物测定方法[J] . 杂草科学, 2004, 3, 1 - 6

STUDY ON DEGRADATION CHARACTERISTICS OF FUNGI
F8 TO DEGRADING HERBICIDE CHLORIMURON - ETHYL

Teng Chunhong Tao Bo Zhao Shijun

(Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract A Fungi strain that is capable of degrading herbicide chlorimuron - ethyl were isolated from the acclimated soil by chlorimuron - ethyl. The fungi strain was named as F8. In synthetic medium and pure culture, about 93. 85% chlorimuron - ethyl was degraded when 5 % F8 was cultured in a Maiyazhi medium containing 10 mg · L⁻¹ chlorimuron - ethyl under the condition of 28 ℃, 120r · min⁻¹ and 96h. It was also shown introducing F8 into soil was effective in promotion chlorimuron - ethyl degradation, the effect was stable and the half lite of degradation was shortened from 46. 52d to 15. 03d.

Key words Degrading fungi F8; Chlorimuron - ethyl; Biodegradation