

光合细菌 PSB07-15 对辣椒及土壤中 甲氰菊酯残留的生物修复

戴建平¹, 程菊娥¹, 刘勇^{1*}, 罗香文¹, 刘建宇¹, 张志荣²

1. 湖南省植物保护研究所, 湖南 长沙 410125; 2. 湖南省出入境检验检疫局, 湖南 长沙 410004

摘要: 利用光合细菌菌株PSB07-15对辣椒促生作用及对植株与土壤中甲氰菊酯残留的生物修复进行了研究, 为光合细菌生物修复菊酯类农药残留的实际应用提供科学依据。结果表明: 菌株PSB07-15菌液用ddH₂O稀释100倍液、200倍液浸种处理后能够显著提高辣椒种子发芽率; 田间小区试验结果表明, 菌株PSB07-15施用1 875、3 750、7 500 mL·hm⁻², 辣椒鲜质量分别增加15.12%、21.68%、14.79%; 菌株PSB07-15能够有效降解辣椒和土壤中甲氰菊酯残留(辣椒中大于47.20%, 土壤中大于50.73%)。

关键词: 沼泽红假单胞菌 PSB07-15; 辣椒; 土壤; 甲氰菊酯; 生物修复

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2010) 10-2441-04

化学杀虫剂的使用为农业生产挽回了大量因虫害原因造成的损失, 大大促进了现代农业生产的发展^[1]。但是, 化学杀虫剂在杀死害虫的同时, 也杀死了有益生物, 并残留在生态系统中, 对生态系统及人类自身具有严重危害的潜在风险^[2-3]。

菊酯类杀虫剂是一类人工合成的、类似天然除虫菊酯的化合物^[4]。甲氰菊酯作为一种广谱高效的菊酯类杀虫剂, 从20世纪80年代以后, 在我国被广泛用于粮食、蔬菜和果树等多种作物, 该类农药是目前我国出口蔬菜、水果中主要的3类农药残留之一^[5], 严重地影响了我国农产品的出口创汇以及国际竞争力。

生物修复是目前国内外降低和去除农产品和农业生产环境中农药残留的研究热点, 菊酯类农药残留的微生物降解研究在微生物降解资源的分离以及生理生化特性方面, 已有大量的研究报道^[6], 但是在菊酯类农药生物修复的实际应用方面的研究报道相对较少, 需要进一步深入研究。

本文利用前期分离的高效降解甲氰菊酯的光合细菌菌株PSB07-15^[7], 对该菌株对辣椒的发芽率和产量的影响, 辣椒以及种植辣椒的土壤中甲氰菊酯的生物修复效果进行测定, 为利用光合细菌生物修复菊酯类农药的实际应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要培养基和试剂

光合细菌(PSB)培养基: MM培养基添加0.15%

酵母膏^[8], PSB固体培养基: PSB培养基添加0.2%琼脂糖。

40%甲氰菊酯乳油, 海南正业化工有限公司惠赠; 98%甲氰菊酯标准品, 购自天津东方绿色科技发展有限公司; 其他农药残留检测试剂均为色谱纯。

1.2 供试菌株及辣椒品种

辣椒品种: 湘研19号, 自购。

光合细菌菌株沼泽红假单胞菌PSB07-15 (*Rhodospseudomonas palustiris* sp. PSB07-15) (CCTCC No. M 209024), 保存于湖南省植物保护研究所。

光合细菌准备: 从-80℃超低温冰箱中取出保存的菌株PSB07-15, PSB双层固体培养基划线活化, (30±1)℃、约3 000 lx光照培养, 挑取单菌落接种于PSB液体培养基中, 同等条件下培养15 d, 梯度稀释平板法计数, 用PSB液体培养基调节至约10⁹·mL⁻²。

1.3 菌株 PSB07-15 对辣椒发芽率的影响

将辣椒种子浸泡6~8 h, 取出用清水冲洗后稍微凉干; 巴氏培养皿(Φ9 cm)中, 放入5张定性滤纸(Φ9 cm), 加入25 mL ddH₂O和5 mL用ddH₂O光合细菌PSB07-15稀释100倍液(100×)、200倍液(200×), 光合细菌液体培养基100倍液(100×)、200倍液(200×); 均匀播入浸泡好的辣椒种子, 30粒/皿。于光照培养箱中(28±1)℃培养, 分别计算种子发芽率。以清水处理作为对照。所有处理均重复3次。

基金项目: 国家大宗蔬菜产业技术体系岗位专家项目(ncytx-35-gw30); 湖南省农村科技计划重点项目(2008NK2009)

作者简介: 戴建平(1977年生), 男, 助理研究员, 主要从事植保研究与技术推广工作。E-mail: djpzs@sohu.com

*通讯作者: 刘勇(1966年生), 男, 研究员, 主要从事环境微生物、农用微生物制品、植物病毒及病毒病防治、无公害蔬菜生产等研究工作。E-mail: haoasliu@163.com

收稿日期: 2010-09-13

1.4 菌株 PSB07-15 的对辣椒及土壤中的甲氰菊酯的降解

1.4.1 试验地基本情况及气象条件

试验地设在湖南省蔬菜研究所。试验地地势平坦,面积约1 250 m²,土壤pH值6.8,土壤有机质质量分数1.82%。每667 m²定植2 800株。试验地不再施用其它微生物菌剂,其他田间管理按常规进行。

1.4.2 试验设计

试验共设5个处理:PSB07-15菌液7 500、3 750、1 875 mL·hm⁻²,光合细菌培养基2 250 mL·hm⁻²,清水对照(空白CK)。

1.4.3 菌液喷施时间、次数及取样、计算方法

喷施方法及次数:辣椒定植缓苗后喷施40%甲氰菊酯乳液2 000倍液,喷施农药10 d后开始喷菌液,每隔5~7 d喷1次,共喷菌液3次。第3次喷施菌液后7 d采集辣椒样品及相应的土壤样品。3次施菌液当天均为阴或晴天,施菌液后24 h内均未降雨;田间试验期间日平均温度25.2 ℃。

调查方法:“Z”字形随机五点取样(辣椒和田间土壤样品),气相色谱法检测甲氰菊酯残留量;收获时测量各小区产量,计算折合产量与增产率。

1.5 甲氰菊酯残留量测定

辣椒及土壤中甲氰菊酯残留量测定参照中华人民共和国农业行业标准NY/T 761—2004《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法》,根据试验实际情况略做修改。

降解率计算方法:降解率=(1-C_t/C₀)×100%

式中:C_t为各处理的甲氰菊酯残留浓度,C₀为空白对照甲氰菊酯残留浓度。

1.6 数据处理

所有试验数据均为3次重复的平均值,数据均值及标准偏差(±SD)用Microsoft Excel 2003 分析软件处理。显著性差异用DPS 9.5 分析软件处理。

2 结果与讨论

2.1 菌株 PSB07-15 对辣椒种子发芽的影响

试验结果如图1所示,与清水对照相比,光合细菌PSB07-15及PSB培养基均能促进辣椒的发芽,表明适当添加外源营养物质能够促进辣椒的发芽率。图1结果还表明,仅施用光合细菌PSB07-15处理(PSB07-15 200×、100×)能显著提高辣椒种子的发芽率,并且种子发芽时间提早0.5 d左右。刘勇等^[9]研究表明:利用光合细菌PSB-1能够显著提高辣椒、茄子等茄科作物的发芽率及成苗率。这可能是因为光合细菌能够产生一些促进作物生长的物质如吡啶乙酸、辅酶Q、生物素等等^[10-11]。

2.2 菌株 PSB07-15 对辣椒产量的影响

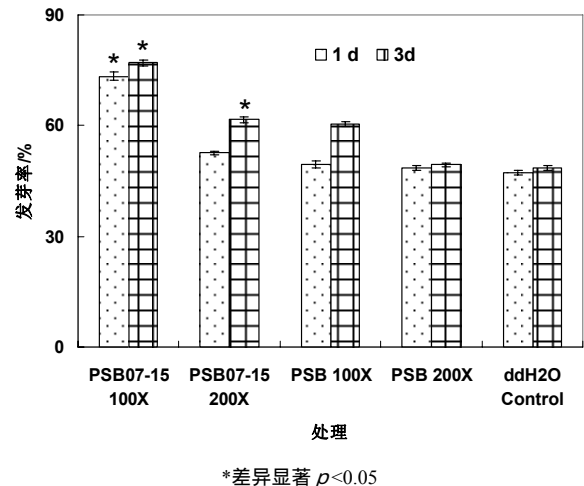


图1 菌株 PSB07-15 对辣椒种子发芽率的影响

Fig.1 The effect of budding of pepper seeds by strain PSB07-15

菌株 PSB07-15 对辣椒产量的影响如表1所示,菌株 PSB07-15 施用 1 875、3 750、7 500 mL·hm⁻² 处理小区折合平均产量分别为 45 595.0、48 200.0、45 465.0 kg·hm⁻²,与空白对照相比分别增产率为 15.12%、21.68%、14.79%,均达到显著水平,表明施用光合细菌 PSB07-15 能显著增加辣椒的产量。施用 PSB 培养基 2 250 mL·hm⁻² 时小区折合产量为 43 027.5 kg·hm⁻²,与空白对照相比增产 8.63%。表1结果还显示过量使用光合细菌 PSB07-15 菌液(7 500 mL·hm⁻²)对辣椒产量促进作用较小,可能是因为过量的光合细菌的投入,影响了辣椒根际有益土著微生物的作用。

表1 用菌株 PSB07-15 对辣椒产量的影响

Table The effect of using strain PSB07-15 on the yield of chili

处理	折合平均产量/(kg·hm ⁻²)	增产率/%
菌株 PSB07-15 1 875 mL·hm ⁻²	45 595.0	15.12 b
菌株 PSB07-15 3 750 mL·hm ⁻²	48 200.0	21.68 a
菌株 PSB07-15 7 500 mL·hm ⁻²	45 465.0	14.79 b
空白培养基 2 250 mL·hm ⁻²	43 027.5	8.63 c
空白对照	39 610.0	-

同一列中不同字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)

大量的研究表明^[12-13],光合细菌能促进多种作物的产量,其主要原因是光合细菌能促进土壤物质转化,改善土壤结构;光合细菌大都具有固氮能力,能提高土壤氮素水平;光合细菌能增强作物的抗病防病能力。光合细菌 PSB07-15 的固氮能力及增强作物抗病防病能力等研究正在进行。

2.3 菌株 PSB07-15 对辣椒和土壤中甲氰菊酯的降解

菌株 PSB07-15 对辣椒和土壤中甲氰菊酯的降解效果如表2所示,结果表明:供试菌剂 1 875、

表 2 菌株 PSB07-15 降解辣椒植株和田间土壤甲氰菊酯农药残留
Table 2 The degradation efficiency of fenpropathrin residue by strain PSB07-15 in chili and soil

处理	甲氰菊酯残留量/(mg·kg ⁻¹)			
	辣椒	降解率/%	田间土壤	降解率/%
菌株 PSB07-15 1 875 mL·hm ⁻²	0.124 4	47.20c	0.141 9	50.73c
菌株 PSB07-15 3 750 mL·hm ⁻²	0.088 9	62.28a	0.099 7	65.42a
菌株 PSB07-15 7 500 mL·hm ⁻²	0.100 5	57.34b	0.111 4	61.36b
空白培养基 2 250 mL·hm ⁻²	0.215 8	8.41d	0.255 5	11.34d
空白对照	0.235 7	-	0.288 3	-

同一列中不同字母表示处理间差异显著 ($p < 0.05$)

3 750、7 500 mL·hm⁻² 对甲氰菊酯农药具有较好有降解性能，其中对辣椒中甲氰菊酯降解率分别为 47.20%、62.28%、57.34%；对土壤中甲氰菊酯的降解率分别为 50.73%、65.42%、61.36%。

与在实验室降解效果相比^[7,14]，光合细菌 PSB07-15 降解辣椒及土壤中甲氰菊酯的效率大大降低。其可能的原因：一是相比 PSB 培养基，自然环境中营养物质较少；二是自然环境中，其环境条件(特别是温度和 pH)并不都处于光合细菌最佳生长条件，以及土著微生物的竞争作用等；进一步的光合细菌在环境中的定殖、降解特性研究，将可以更好的降解该结果。

3 结论

(1) 光合细菌 PSB07-15 能够显著提高辣椒种子的发芽率，提早发芽时间约 0.5 d。

(2) 光合细菌 PSB07-15 能够显著提高辣椒产量。

(3) 光合细菌 PSB07-15 能有效的降解辣椒及辣椒地土壤中的甲氰菊酯残留。

参考文献：

- [1] Kuniuki S. Effects of organic fertilization and pesticide application on growth and yield of field-grown rice for 10 years [J]. Japanese Journal of Crop Science, 2001, 70(4): 530-540.
- [2] Gunnell D, Eddleston M, Phillips M R, et al. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review [J]. BMC Public Health, 2007, 7: 357.
- [3] 王宗爽, 段小丽, 刘平, 等. 环境健康风险评估中我国居民暴露参数探讨[J]. 环境科学研究, 2009, 22(10): 1164-1170.
WANG Zongshuang, DUAN Xiaoli, LIU Ping, et al. Human exposure factors of chinese People in environmental health risk assessment [J]. Research of Environmental Sciences, 2009, 22(10): 1164-1170.
- [4] George N, Kalyanasundaram M. Chemistry of synthetic pyrethroid insecticides-some recent advances [J]. Journal of Scientific and Industrial Research, 1994, 53: 933-945.
- [5] 王兆守, 李顺鹏. 拟除虫菊酯类农药微生物降解研究进展[J]. 土壤, 2005, 37(6): 577-580.
WANG Zhaoshou, LI Shunpeng. Study on microbial degradation of synthetic pyrethroid insecticides [J]. Soils, 2005, 37(6): 577-580.
- [6] 丁海涛, 李顺鹏, 沈标, 等. 拟除虫菊酯类农药残留降解菌的筛选及其生理特性研究[J]. 土壤学报, 2003, 40(1): 123-129.
DING Haitao, LI Shunpeng, Shen Biao, et al. Isolation of pyrethroids degrading strain and its physiological characteristics [J]. Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(1): 123-129.
- [7] 张松柏, 张德咏, 罗香文, 等. 降解甲氰菊酯光合细菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1): 140-144.
ZHANG Songbai, ZHANG Deyong, LUO Xiangwen, et al. Isolation and identification of fenpropathrin degrading strain PSB07-15 and its degradation characteristics [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(1): 140-144.
- [8] Zhang S B, Zhang D Y, Liu Y, et al. Degradation characteristics and pathway of fenpropathrin by *Rhodopseudomonas* sp. strain PSB07-6[J]. Fresenius Environmental Bulletin, 2009, 18(11): 2060-2065.
- [9] 张德咏, 刘勇. 光合细菌 PSB-1 对几种蔬菜种子发芽及成苗的作用 [J]. 湖南农业科学, 2001, 1: 31-32.
ZHANG Deyong, LIU Yong. The effect of buding and seedling of several vegetables by photosynthetic bacterial strain PSB-1 [J]. Hunan Agricultural Science, 2001, 1: 31-32.
- [10] Herrero A, Flores E. The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution (1st ed.)[M]. Portland: Caister Academic Press, 2008: 101-112.
- [11] 龙思思, 谢数涛, 段舜山, 等. 光合细菌及其应用现状[J]. 生态科学, 2002, 21(1): 91-94.
LONG Sisi, XIE shutao, DUAN Shunshan, et al. Photosynthetic bacteria and their applied actualities [J]. Ecologic Science, 2002, 21(1): 91-94.
- [12] Sasaki K, Waanabe M, Suda Y, et al. Applications of photosynthetic bacteria for medical fields [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 100: 481-488.
- [13] 何剑丹, 龙炳清, 刘长根, 等. 光合细菌的应用现状与前景[J]. 四川师范大学学报: 自然科学版, 2005, 28(1): 114-116.
HE Jiandan, LONG Bingqing, LIU Changgen, et al. The current state and perspective of photosynthetic bacteria's application [J]. Journal of Sichuan Normal University: Natural Science, 2005, 28(1): 114-116.
- [14] 张松柏, 张德咏, 刘勇, 等. 光合细菌 PSB07-15 对水培黄瓜体系中甲氰菊酯污染的生物修复[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(10): 2198-2203.
ZHANG Songbai, ZHANG Deyong, LIU Yong, et al. Bioremediation of fenpropathrin by photosynthetic bacterial strain PSB07-15 in hydroponic system for cucumber culture [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(10): 2198-2203.

Biodegradation of Fenpropathrin by Photosynthetic Bacterial Strain PSB07-15 in Chili (*Capsicum annuum* Linn) and Soil

DAI Jianping¹, CHENG Ju'e¹, LIU Yong^{1*}, LUO Xiangwen¹, LIU Jianyu¹, ZHANG Zhirong²

1. Hunan Plant Protection Institute, Changsha 410125, China; 2. Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changsha 410004, China

Abstract: The growth promotion of chili (*Capsicum annuum* Linn) and fenproprathrin bioremediation in fruit of chili and soil by photosynthetic bacteria strain PSB07-15 were evaluated for actual potential application of bioremediation by photosynthetic bacteria. The results showed that strain PSB07-15 (diluted 100× and 200× using ddH₂O) could raise budding percentage and yields of chili significantly. The plot experiments in field indicated that the fruit yields of chili enhanced at 15.12%, 21.68%, 14.79% by spraying PSB07-15 at 1 875, 3 750, 7 500 mL·hm⁻², respectively; the results of plot experiments also showed strain PSB07-15 could degrade fenproprathrin in fruit of chili and soil of field significantly (over 47.20% in chili fruit and 50.73% in soil, respectively).

Key words: *Rhodospseudomonas palustris* PSB07-15; chili; soil; fenpropathrin; bioremediation