

甲基对硫磷降解菌的生态效应及应用*

李顺鹏 沈 标 魏社林 季玉玲

(南京农业大学微生物研究室, 210095)

丁宪根 金存虎

(江浦县建设乡农技站)

摘 要

从活性污泥中分离的甲基对硫磷降解菌接种于含有甲基对硫磷的土壤中,表现了较强的降解农药残留的生态效应。在盆栽试验中,处理的各叶片变黄程度比对照均要轻,统计差异显著,稻米与稻壳中甲基对硫磷处理比对照下降了82.2—100%。田间试验中,农药加菌,农药加有机肥加菌的处理,其稻米中的甲基对硫磷残留均检测不到,而对照(只施农药不加菌),稻米中的甲基对硫磷含量为0.065mg/kg,超过国家标准(0.05mg/kg)。

关键词 甲基对硫磷,降解菌,残留,生态效应

环境污染物质进入人体影响人的健康有多种途径,通常它首先通过植物吸收进入植物体内,人以这些农产品为主要食物,于是污染物残留就进入人体,这是环境污染物质进入人体的主要途径之一。因此通过降低土壤污染源,从而降低作物产品中污染物含量,以至减少其对人体健康的危害。国外曾报道,接种假单胞菌株到土壤或污水中,降解芳香化合物有较好的效果^[3-5]。本项目基于这种思路,设计了水稻盆栽、小区和田间应用试验。在向水稻喷洒农药后,随即又在土壤中喷洒本室所分离的农药残留降解菌,观测其降解残留效果。结果表明,农药残留降解菌可用于农田生态保护,从而找到了一条利用微生物资源消除农产品化学农药残留的新途径。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

甲基对硫磷兼厌气性降解菌 *Alcaligenes* sp. 于活性污泥中分离。

1.2 生态试验设计

1.2.1 盆栽试验 时间为1991.6—10,盆钵为上釉陶盆,直径25cm,高40cm,每盆装未接触农药的土壤10kg;供试植物为汕优63杂交稻,每盆中栽插4株。5月1日育秧,6月15日栽插,8月23日齐穗;

* 国家自然科学基金项目(No. 39070025)。

收到修改稿日期: 1995-09-15

1991年8月5日布置第一批试验,6盆处理,5盆对照。处理每盆施甲基对硫磷0.7g,降解菌 4.6×10^{12} 个,对照每盆施甲基对硫磷0.7g,不施降解菌。

1991年8月6日布置第二批试验。5盆处理,4盆对照。用药较前一批减少,处理每盆施甲基对硫磷0.5g,降解菌数为 4.6×10^{12} 个。对照每盆仅施甲基对硫磷0.5g,不施降解菌。

叶色变黄指数:以叶片黄色 $1/4$ 长度以下者为0级,变黄长度在 $1/4$ 到 $1/2$ 为1级, $1/2$ 以上长度变黄为2级。

管理措施:试验前用常规管理。试验布置后始终保持盆钵中水层3cm左右,以保持土壤厌氧状态。由于第一批试验用药量较大,造成水稻急性中毒,叶片发黄。为了保证水稻能正常抽穗结籽,对照和处理均在施药后5天追施尿素0.5g/盆。第二批试验因叶色表现正常,没有在施用甲基对硫磷后再追肥。

取样是在水稻成熟后,每组处理各个重复混合收割脱粒,去壳磨碎待测定。对照取样与此相同。

1.2.2 小区试验^[4] 时间为1993年6月—10月,地点为校园内老水稻田,面积 160m^2 。处理与对照各三个小区。农药用量 $0.8\text{g}/\text{m}^2$,喷洒菌数 3.3×10^{10} 个/ m^2 。水稻品种同上。8月16日抽穗前,先喷洒农药,然后将降解菌洒入稻田,紧接灌水,不串流,常规管理,10月1日前收获。农药为50%农用甲基对硫磷乳油。

1.2.3 田间应用试验^[1] 时间为1993年6月—10月,地点为江浦县建设乡。老水稻田,面积 $1,400\text{m}^2$ 。考虑到农村使用方便,增加了降解菌和有机肥混合使用,以节约劳力。三种处理:农药+菌+有机肥,农药+菌,农药+有机肥;对照(只用农药不加菌);空白。50%农用甲基对硫磷乳油: $0.8\text{g}/\text{m}^2$,洒入菌数 3.3×10^{10} 个/ m^2 。水稻品种为杂交稻。8月18日抽穗前,农药与菌施入试验地,然后灌水,其余均常规管理。

1.3 分析方法^[2]

1.3.1 提取 准确称取稻米粉50.0g,硫酸钠10g,丙酮20ml于250ml三角瓶中,振荡60分钟,抽滤,收集滤液于另一三角瓶,并于旋转浓缩液浓缩至干。

1.3.2 净化 在 $150\text{mm} \times 15\text{mm}$ 的层析柱中从底部向上依次填上玻璃柱;10mm高的无水硫酸钠;60mm高的氟罗里土;10mm高的无水硫酸钠。用苯预淋后,用5ml苯将上述浓缩样品转移至层析柱中,再用2—3ml苯洗涤三角瓶两次并旋转至层析柱中。在旋转浓缩仪上收集的淋洗液浓缩近干,并用苯定容至2—5ml。

1.3.3 测试^[2] 仪器为气相色谱仪DC-9A,数据处理机C-R3A,检测器FPD526nm 滋光片(日本岛津公司生产)。色谱柱为 $2.1\text{m} \times 3\text{mm}$ 玻璃柱。柱填料:OV-1,2%涂渍于Chromasorb. W. Aw. D., MCS 60—80目。温度为柱温 195°C ,汽化室 235°C ,检测器 235°C 。气体:载气 N_2 $45\text{ml}/\text{min}$, H_2 $0.75\text{kg}/\text{cm}^2$,空气 $0.9\text{kg}/\text{cm}^2$ 。

1.3.4 结果计算 根据峰面积和标准样面积及取样液的抽提所用苯的体积,进样量计算出培养液中甲基对硫磷含量。

$$\text{计算公式: } X = \frac{A_x}{A_0} \cdot a \cdot \frac{V_0}{V_x}$$

A_x 为待测样峰面积, A_0 为柱标准样峰面积, a 为标准样浓度, V_0 为标准样进样量。 V_x 为未知样进样量。

2 结果与讨论

2.1 水稻叶色变化

盆栽试验在施药后 3 天水稻叶片开始发黄。从表 1 可以看出,处理的各叶片变黄程度比对照均要轻,统计差异显著,说明降解菌在土壤中降解甲基对硫磷,减轻了对水稻的毒害作用,表现出明显的生态效应。

2.2 稻米及稻壳中甲基对硫磷

2.2.1 盆栽试验中稻米及稻壳中甲基对硫磷残留 从表 2 可以看出,处理中的稻壳和稻米均比对照的稻壳和稻米中的甲基对硫磷残留要低,即稻米低 26.7—46.9%,稻壳低 15.2—15.9%,因此用该降解菌施于土壤,可以降低农产品中甲基对硫磷残留。

表 1 各层叶变黄指数及 t 值测验结果

Table 1 The yellowing indexes of leaf layer and their t test

项 目 Item	第四层叶 Fourth leaf layer	第三层叶 Third leaf layer	第二层叶 Second leaf layer	第一层叶 First leaf layer
处理叶色指数平均数	0.2688	0.2742	0.0269	0.0215
对照叶色指数平均数	1.7755	1.3425	0.2823	0.1020
统计测验(t)值	18.1387	18.2928	18.1199	2.4618
差异水平	显著	显著	显著	显著

表 2 盆栽试验中稻米及稻壳中甲基对硫磷残留量(mg/g)

Table 2 The parathion methyl residues in rice and husk in the pot expemment

项 目 Item	第一批稻米 Rice of the first batch	第一批稻壳 Husk of the first batch	第二批稻米 Rice of the second batch	第二批稻壳 Husk of the second batch
处理	82.7	112	50.4	106
对照	113	132	94.9	126
处理比对照降低(%)	26.7	15.2	46.9	15.9

2.2.2 小区试验中稻米甲基对硫磷的残留 从表 3 可以看出,小区试验稻米中的甲基对硫磷残留,处理比对照降低 81.88—100%,效果非常显著。处理的稻米中农药残留远远低于国家标准,而对照超过 3 倍以上。

2.2.3 田间应用试验中甲基对硫磷的残留 表 4 显示,田间应用试验效果也很好。在 1400m² 的试验中,施用降解菌的稻米里测不出甲基对硫磷残留,而只施用甲基对硫磷未用降解菌的,稻米中的农药残留基本都超标。说明该降解菌可通过发酵制成菌剂在大田中应用推广。

本试验选择甲基对硫磷进行试验,主要考虑到甲基对硫磷毒性比较大,使用量也比较

大,使用后稻米中的农药残留对人体有害。通过盆栽、小区和田间应用试验的结果表明,甲基对硫磷尽管毒性较大,但有了降解残留的有效菌,只要注意安全,严格按照操作规程使用,仍然可以在水稻、棉花等粮食与经济作物上使用。近年来,病虫害的严重抗药性,如1993年鲁西北的严重棉铃虫危害,提示了使用有机磷农药后再加上用降解菌是一个有效办法,从而开创了一条应用微生物资源消除农药残留的新途径。

表3 小区试验中稻米甲基对硫磷的残留

Table 3 The parathion methyl (PM) residues in rice from the plot experiment

项 目	处理 1 (农药+菌) Treatment 1 PM+bacteria	对照 1 (农药) CK 1 PM	处理 2 (农药+菌) Treatment 2 PM+bacteria	对照 2 (农药) CK 2 PM	处理 3 (农药+菌) Treatment 3 PM+bacteria	对照 3 (农药) CK 3 PM
稻种甲基对硫 磷含量(%)	ND	0.162	0.027	0.49	0.032	0.183
处理比对照 降低(%)	100		81.88		82.15	

注: 1 稻米甲基 1605 允许残留量为 0.05(mg/kg)。

2 ND < 0.007(mg/kg), (小于仪器测量下限)。

表4 田间试验稻米中甲基对硫磷的残留(mg/kg)

Table 4 The parathion methyl PM residues of rice in the field experiment

甲基对硫磷+ 菌+有机肥 PM+bacteria+ organic manure	甲基对硫磷 PM	甲基对硫磷+菌 PM+bacteria	甲基对硫磷+ 有机肥 PM+organic manure	空白 Control
ND	0.034	ND	0.043	ND
ND	0.063	ND	—	ND
ND	0.066	ND	—	ND

注(Note): ND < 0.007mg/kg.

3 结论

1. 分离到的降解甲基对硫磷的有效菌株 *Alcaligenes* sp.。在盆栽试验中,处理比对照稻叶变化明显,差异显著,稻米中的残留下降低 47%,稻壳中下降 15.9%。
2. 小区试验效果显著,处理比对照稻米中甲基对硫磷含量下降 81.88—100%。
3. 田间试验处理中的稻米农药残留检测不到,而对照却超标 (>0.05mg/kg)。
4. 稻米中的农药残留主要来自土壤,因此可以通过施用有效降解菌减少或消除土壤中的残留,最终达到消除稻米等农产品中的残留。

参 考 文 献

1. 马育华等, 1987: 田间试验和统计方法。20—50页, 农业出版社。
2. 肖弘琨, 1984: 甲基对硫磷的气相色谱法测定。农药(4): 45—46页。
3. Papmond, D. G. M., Alexander M., 1971: Microbial metabolism and cometabolism of nitrophenol. Pestic Biochem Physiol, 1: 123—130.
4. Rubin, H. E., Alexander, M., 1983: Effect of nutrients on the rates of mineralization of trace concentration of phenol and P-nitrophenol. Environ Sci Techol, 17: 104—107.
5. Li Tseou and Anil Sharma, 1989: Degradation of methyl parathion by a mixed bacterial culture and a bacillus sp. isolation from different soils. J. Agric Food Chem 37: 1514—1518.

ECOLOGICAL EFFECT OF BACTERIUM TO DEGRADE PARATHION METHYL (PM) AND ITS APPLICATION

Li Shunpeng Shen Biao Wei Shelin and Ji Yuling

(*Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095*)

Ding Xiangen and Jin Cunhu

(*Agro-technical Station of Jianshe Township, Jiangpu County*)

Summary

An anaerobic bacterium strain isolated from activated sludge showed a strong ecological effect on the degradation of PM residues after inoculation into the PM-polluted soil. The results showed that in the pot experiment, the yellowing degree of rice leaves of bacterium treatment was remarkably slighter than that of control.

The PM residues in rice of the bacterium treatment reduced by 82.2—100%. In the field experiment, no PM residues were found in rice of the bacterium treatments. But the PM content of control was over 0.065mg/kg, which exceeded the national standard of 0.05mg/kg.

Key words Parathion Methyl, Bacterium, PM Degradation, Residues, Ecological Effect