

甲磺隆降解菌 FLDA 的分离鉴定及其降解特性研究*

黄星 何健 潘继杰 孙纪全 顾立锋 李顺鹏[†]

(南京农业大学生命科学学院,农业部农业环境微生物工程重点开放实验室,南京 210095)

摘要 从生产甲磺隆的农药厂内采取污泥,经驯化富集后筛选到一株能高效降解甲磺隆的细菌 FLDA,根据表型特征、生理生化特性及 16S rDNA 序列同源性分析,将 FLDA 初步鉴定为假单胞菌(*Pseudomonas* sp)。该菌能在含甲磺隆(30 mg L^{-1})的基础盐液体培养基中降解甲磺隆,5 d 降解率达 72.6%,该菌降解甲磺隆的最适 pH 为 7.0,最适温度为 30,该菌降解甲磺隆的速率和起始接种量呈正相关。酶的定域实验表明,该菌中甲磺隆水解酶为胞内酶。FLDA 投加土壤,可提高土壤中甲磺隆的降解速率。

关键词 甲磺隆;假单胞菌;生物降解

中图分类号 S154.39 **文献标识码** A

甲磺隆是 20 世纪 80 年代由美国杜邦公司开发的一种磺酰脲类除草剂,它通过抑制植物体内乙酰乳酸合酶(ALS),阻碍细胞分裂而达到杀草目的^[1,2]。甲磺隆具有极高的活性和极强的选择性,土壤中少量的残留即可对后茬敏感作物产生药害,造成经济损失,所以该除草剂在土壤中的残留对后茬作物药害的问题受到普遍关注^[1,3,4]。微生物对土壤中的农药降解起着重要作用,分离筛选能够高效降解甲磺隆的微生物是人们进行甲磺隆环境污染治理、土壤生物修复的一种有效途径。目前国内外对于甲磺隆降解菌的报道较少,Zanardini 分离了一株荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)以共代谢的形式降解甲磺隆,14 d 的降解率为 21%^[5],Boschin 获得了一株黑曲霉(*Aspergillus niger*)以共代谢降解甲磺隆,28 d 的降解率为 33%^[6]。沈东升分离了一株青霉菌(*Penicillium* sp),投加甲磺隆污染土壤中,可使甲磺隆在土壤中的半衰期由对照的 27.7 d 缩短到 16.5~18.8 d^[7]。本实验室开展了甲磺隆降解菌株的筛选工作,获得一株降解细菌,命名为 FLDA,该菌降解甲磺隆的性能优良,并对该菌的分类鉴定、降解特性与甲磺隆水解酶的定域进行了初步研究,以期对甲磺隆的生物降解与污染土壤的生物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与培养基

甲磺隆原药购自江苏省常州农药厂(纯度为 98.7%)。基础盐培养基: NaNO_3 4.0 g, KH_2PO_4 1.5 g, Na_2HPO_4 0.5 g, FeCl_3 0.005 g, CaCl_2 0.01 g, 葡萄糖 0.2 g, 酵母浸提膏 0.02 g, 蒸馏水 1 000 ml, pH7.0。LB 培养基: NaCl 10 g, 酵母膏 5 g, 蛋白胨 10 g, 蒸馏水 1 000 ml, pH7.0, 固体培养基加入 2% 的琼脂。向基础盐培养基中加入不同体积甲磺隆母液($1\ 000 \text{ mg L}^{-1}$)制成各浓度甲磺隆培养基。

1.2 甲磺隆降解细菌的富集、分离和纯化

取江苏省常州农药厂生产车间下水道污泥。在 100 ml 浓度 20 mg L^{-1} 甲磺隆基础盐培养液中加入 1 g 污泥, 30 、 170 r min^{-1} 摇床培养 7 d 后,以 1% 接种量转接至相同浓度的甲磺隆富集培养液中,连续富集、转接 5 次。富集培养液经测定有降解效果后提高富集培养液中甲磺隆的浓度至 30 mg L^{-1} ,继续富集。转接 5 次经测定验证降解效果后,在 30 mg L^{-1} 的甲磺隆基础盐固体培养基平板上接入 0.2 ml 富集液涂布, 30 培养。待平板上出现单菌落后,挑取单菌落划线分离 3~4 次进行纯化,纯化后将菌株转接至含甲磺隆 30 mg L^{-1} 的基础盐液体

* 国家自然科学基金“30500010”项目和江苏省自然科学基金“BE2003343, BE2002303”项目资助

[†] 通讯作者, Tel: 025-84396314, E-mail: lsp@njau.edu.cn

作者简介: 黄星(1977~),男,江苏南京人,主要从事环境微生物学研究

收稿日期: 2005-06-28; 收到修改稿日期: 2005-09-25

培养基试管中,30、170 r min⁻¹摇培,验证单菌的降解效果。

1.3 分析测定方法

1.3.1 甲磺隆测定 紫外扫描仪(岛津 UV-2401PC)测定:取 1 ml 培养液,离心,取上清液于 10 ml 刻度试管中,加 4 ml 的二氯甲烷,剧烈振荡后静至分层,弃水相收集有机相,加入过量无水硫酸钠饱和残留的少量水分,上机,于 200~400 nm 连续扫描测定,特征吸收峰为 235 nm。

液相色谱法测定:采用高效液相色谱仪(Waters600),使用可变波长紫外检测器,分离柱为 20 cm 长内填有 C18 的反相柱。流动相为甲醇/水(70/30, v/v),流量为 1 ml min⁻¹,可变波长紫外检测器的工作波长为 235 nm,进样量为 20 μl,按峰面积定量。取 1 ml 培养液,离心,取上清液于 10 ml 刻度试管中,加 4 ml 的二氯甲烷,剧烈振荡后静至分层,弃水相收集有机相,收集有机相过无水硫酸钠柱,收集液体, N₂吹干,甲醇定容至 1 ml,上机检测。甲磺隆提取效率实验结果表明二氯甲烷萃取甲磺隆回收率可达 95%。

1.3.2 菌株生长量的测定 以未接种的培养基作空白对照,用 722 型分光光度计在 600 nm 波长下测定菌悬液的 OD 值。

1.4 菌株的鉴定

菌株形态及生理生化特性测定参照文献[8]进行。菌株 16S rDNA 的克隆及序列测定和比较参照文献[9]。提取 FLDA 的总 DNA 进行 16S rDNA 扩增。用于 16S rDNA 的 PCR 反应的引物为一对细菌 16S rDNA 扩增通用引物(上海博亚生物技术有限公司合成)。正向引物:5'-AGAGTTGATCCTGGC-TCAG-3 (*Escherichia coli* 对应位置为 8~27);反向引物:5'-AAGGAGGATCCAGCCGCA-3 (*E. coli* 对应位置为 1541~1522)。以 FLDA 总 DNA 为模板,25 μl 体系为:模板 1 μl, dNTP(25 mmol L⁻¹) 2 μl,引物(1 mmol L⁻¹) 各 1 μl, 10 × Taq 缓冲液 2.5 μl, Mg²⁺ (25 mmol L⁻¹) 1.5 μl, Taq 酶(5U μl⁻¹) 0.3 μl, 超纯水 15.7 μl。聚合酶链式反应条件:95℃, 3 min; 94℃, 1 min; 52℃, 1 min; 72℃, 3 min; 循环 30 次, 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物采用 Vitagene 公司的试剂盒纯化后酶连至 pMT-18 载体(TAKARA 公司),转化 *E. coli* DH5 感受态细胞,挑取阳性克隆,验证插入片断后测序(由上海博亚生物技术有限公司完成)。将测序结果与 GenBank 中的 16S rDNA 序列进行同源性比较。从 GenBank 中调取亲缘关系近的假

单胞菌 12 个菌株的 16S rDNA 序列用于系统发育学分析,16S rDNA 全序列用 MEGA version 2 软件包排序,用 MEGA version 2 软件包中的 Kimura2-Parameter Distance 模型计算进化距离,用 Neighbor-Joining 法构建系统发生树,1 000 次随机抽样,计算自引导值(Bootstrap)以评估系统发生树的置信度。

1.5 甲磺隆的降解速度与 FLDA 生长速度测定

挑取 FLDA 单菌落于 3 ml LB 液体培养基中,30、165 r min⁻¹振荡培养 24 h,获得新鲜菌液。在 30 mg L⁻¹甲磺隆基础盐液体培养基中,接入 3% 的新鲜菌液,于 30℃ 摇床培养(170 r min⁻¹),分别于第 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5 天取样,测定甲磺隆的含量及菌体生长量(以下各处理培养与检测条件与本处理相同),以不接菌液为空白对照。

1.6 FLDA 降解甲磺隆的影响因素

1.6.1 温度 将菌株接种于含 30 mg L⁻¹甲磺隆的基础盐培养基中,分别在 25、30、37、40℃ 摇培,分别于第 0、1、2、3、4、5 d 取样,检测甲磺隆含量。

1.6.2 pH 将菌株接种于含 30 mg L⁻¹甲磺隆的不同 pH 值(5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0)的基础盐培养基中,摇培,分别于第 0、1、2、3、4、5 天取样,取样检测甲磺隆含量。

1.6.3 细菌接种量 将菌株分别按 1%、2%、5%、10%、20% 的接种量接入 100 ml 的 30 mg L⁻¹甲磺隆基础盐培养基中,摇培,分别于第 0、1、2、3、4、5 天取样检测甲磺隆含量。

1.6.4 通气量 在 250 ml 三角瓶中分别装入 30、50、70、100、150、180 ml 的 30 mg L⁻¹甲磺隆基础盐液体培养基,按 3% 接种量接种菌株 FLDA 摇培,分别于第 2.5、5 天取样检测甲磺隆含量。

以上实验均以不接菌液为空白对照,每处理重复 3 次。

1.7 酶活力测定

粗酶液的制备参照文献[10]。酶活力测定方法为甲磺隆浓度为 30 mg L⁻¹的 0.1 mol L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH7.0) 3 ml,加入粗酶液 100 μl,30℃ 条件下反应 48 h 后,用 20 μl 6 mol L⁻¹ HCl 终止反应,12 000 r min⁻¹离心 5 min,取上清液进行 HPLC 检测,酶活力单位(U)定义为在本实验条件下,1 h 内降解 1 nmol 甲磺隆的酶量定义为 1 个酶活力单位。

1.8 甲磺隆降解酶的定域实验

应用渗透休克原理^[11,12],按下列步骤分步提取。取步骤 1.5 中获得的菌液以 6 000 r min⁻¹离心

10 min, 上清液(S_1)冻存; 沉淀物(P_1)用 10 mmol L^{-1} (pH8.0) 盐酸三羟甲基氨基甲烷溶液(Tris-HCl) 10 ml 重悬, 离心(6000 r min^{-1} , 10 min), 洗涤 2 次, 上清液(S_2)冻存; 沉淀物(P_2)以 25% 的蔗糖溶液 10 ml 重悬, 于 25℃ 振荡 10 min, 以 13000 r min^{-1} 离心 10 min, 上清液(S_3)冻存; 沉淀物(P_3)加冷超纯水重悬, 在冰浴中振荡 10 min, 以 13000 r min^{-1} 离心 10 min, 上清液(S_4)冻存; 沉淀物(P_4)于 10 mmol L^{-1} (pH7.5) Tris-HCl 10 ml 溶液中重悬, 在冰浴中超声波破碎 1 min, 间隔 1 min, 重复 5 次, 以 15000 r min^{-1} 离心 20 min, 上清液(S_5)冻存, 沉淀物(P_5)弃去。将 S_1 、 S_2 和 S_3 合并, 即为胞外提取液, S_4 为周质提取液, S_5 为膜内提取液。

1.9 土壤降解实验

供试土壤为南京农业大学校园内采集的表层土(0~30 cm), 土壤经风干, 过筛(2 mm), 备用。土壤基本性质如下: 土壤为重壤土, pH 为 6.95, 有机质含量 22.8 g kg^{-1} , 该土壤未使用过甲磺隆。

处理一: 称取 15 g 土壤, 加入甲磺隆药液, 使土壤中甲磺隆浓度为 10 mg kg^{-1} , 加入 FLDA 菌液, 混匀, 置于 30℃ 培养箱中黑暗条件下恒温培养, 定时取样测定甲磺隆在土壤中的残留量, 以不加 FLDA 菌液为对照。

处理二: 供试土壤湿热灭菌, 甲磺隆药液、FLDA 菌液的加入同上。以灭菌土壤不加 FLDA 菌液为对照。

以上每处理均重复 3 次。

1.10 数据处理

实验所得数据, 由 DPSV2.00 版软件进行统计分析和显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离和鉴定及其生理生化性质

通过对污泥样品中微生物的分离和纯化, 得到一株甲磺隆降解菌, 命名为 FLDA, 图 1、图 2 表明 FLDA 对甲磺隆的降解效果。检测结果表明该菌能在含甲磺隆(30 mg L^{-1})的基础盐液体培养基中降解甲磺隆。同时, 在实验中发现 FLDA 可在含药平板上形成明显的透明圈, 见图 3。

菌株 FLDA 为短杆状, $0.7 \mu\text{m} \sim 1.1 \mu\text{m} \times 1.3 \mu\text{m} \sim 2.6 \mu\text{m}$, 革兰氏染色阴性, 不产芽孢, 能运动, 有一根或数根极生鞭毛, 菌体电镜照片见图 4。在 LB 平板上 30℃ 培养 24 h, 菌落白色、圆形、光滑、

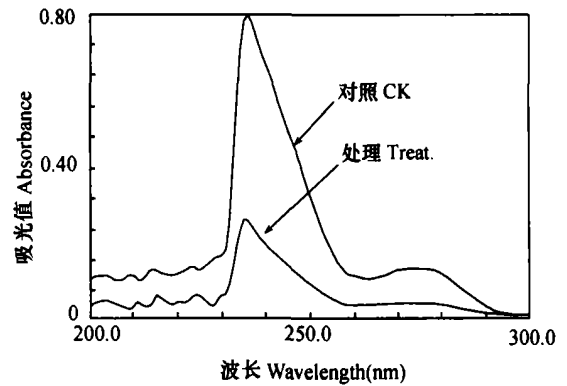


图 1 甲磺隆降解的连续紫外扫描图谱

Fig. 1 UV scanning of degrading metsulfuron methyl

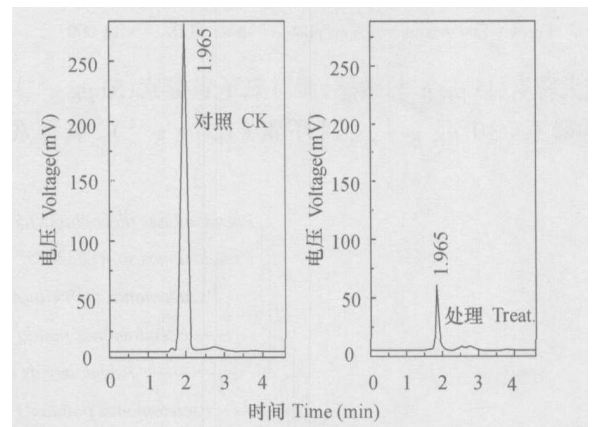


图 2 甲磺隆降解的液相色谱图(左为对照, 右为处理)

Fig. 2 HPLC of degrading metsulfuron methyl (Left: CK, Right: treatment)

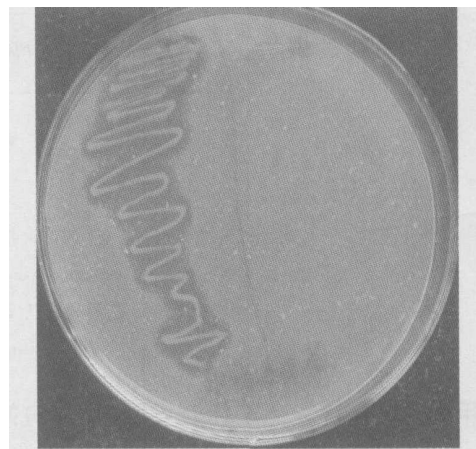


图 3 甲磺隆降解菌在含药平板上形成的透明圈

Fig. 3 Metsulfuron-methyl degrading bacteria on an agar plate showing clearing formed from the degradation of metsulfuron-methyl

不透明。菌株 FLDA 的生理生化性质: 甲基红反应、V. P 反应、吲哚反应、淀粉水解、乙醇氧化、明胶液化均呈阴性, 氧化酶反应、接触酶、脲酶反应呈阳性, 能发酵葡萄糖、果糖产气。菌株 FLDA 的抗生素抗性检测结果表明^[9], FLDA 对卡那霉素($15 \mu\text{g g}^{-1}$)、

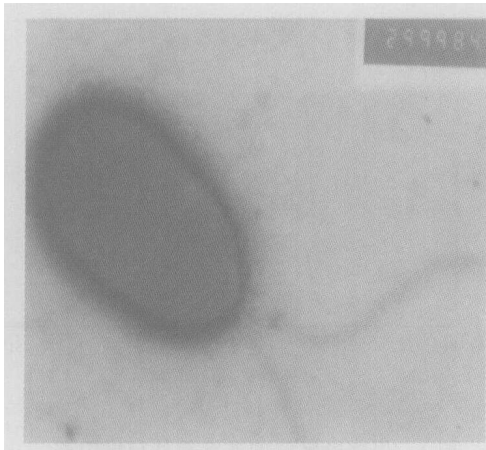


图4 FLDA的电镜照片($\times 12\ 000$)

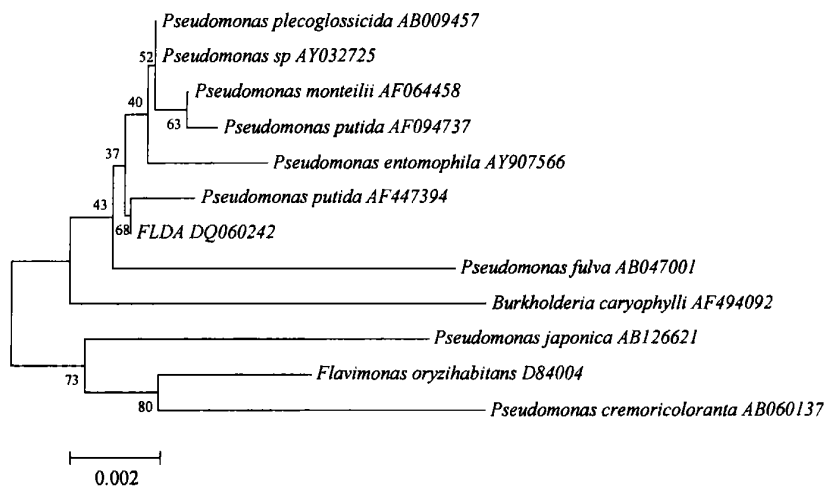
Fig. 4 Electron microscopic photo of strain FLDA ($\times 12\ 000$)

庆大霉素($15\ \mu\text{g g}^{-1}$)敏感,而对氨基青霉素($50\ \mu\text{g g}^{-1}$)、链霉素($30\ \mu\text{g g}^{-1}$)、四环素($12\ \mu\text{g g}^{-1}$)、氯霉素

($20\ \mu\text{g g}^{-1}$)不敏感。

2.2 菌株 16S rDNA 的克隆及序列测定和比较

以 FLDA 的总 DNA 为模板,利用细菌 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增,得到长度约为 1.5kb 的扩增产物,测序由博亚公司完成,菌株 FLDA 16S rDNA 序列 GenBank 登录号 DQ060242。根据 GeneBank 序列同源性比较,菌株 FLDA 与 *Pseudomonas putida* AK5 (GenBank 登录号为 AF447394) 同源性为 99%,与 *Pseudomonas putida* ATCC17390 (GenBank 登录号 AF094737) 同源性为 99%,与 *Pseudomonas plecoglossicida* (GenBank 登录号为 AB009457.1) 同源性为 99%,与 *Pseudomonas* sp. HR 13 (GenBank 登录号 AY032725.1) 同源性为 99%,再结合生理生化特性结果,可将该菌鉴定为假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.), FLDA 的系统发育树见图 5。



注:图中各分支数值为菌株的系统分类距离,括号中的值为相关菌株的 GenBank 序列号 Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 2% sequence divergence

图5 基于甲磺隆降解菌株 FLDA 亲缘关系相近菌株 16S rDNA 序列的无根系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequences of strain FLDA and relating species

2.3 甲磺隆的降解速度与 FLDA 生长速度的关系

由图 6 可知菌株的生长曲线和甲磺隆的降解曲线相吻合。开始时菌株生长处于延迟期,对甲磺隆的降解非常缓慢,随着菌株进入对数生长期,甲磺隆的降解速率也增加,而到稳定期和衰亡期时,降解速度又趋于缓慢,菌体培养至 5d 时降解率可达 72.6%。

2.4 甲磺隆降解的影响因素

2.4.1 温度 如图 7 所示,FLDA 在 30 时对甲磺隆的降解效果最好,可达 73.1%。在 25、37 降解效果有所下降,分别为 54% 和 48%。当温度为

40 时,菌体生长缓慢,甲磺隆降解率仅为 22%。

2.4.2 pH 值 如图 8 所示,甲磺隆的降解在 pH 6.0~8.0 之间比较稳定,在 pH 7.0 时降解效果最佳,达 74.3%。培养基 pH 值为 5.0 和 9.0 时对甲磺隆的降解有影响,降解率分别下降为 48.3% 和 33.3%。

2.4.3 细菌接种量 如图 9 所示,实验结果表明接种量对甲磺隆的降解有一定影响,当接种量为 1%~10% 时,甲磺隆的降解随着接种量的加大而加快,而当接种量为 15% 时甲磺隆的降解速率与接种

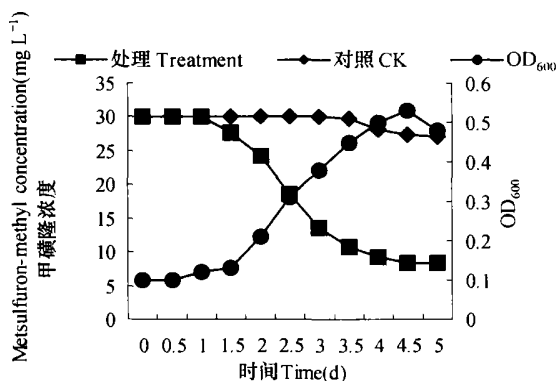


图 6 HLDA 的生长及其对甲磺隆的降解曲线

Fig. 6 Curves of degradation of metsulfuron-methyl and growth of strain HLDA in liquid basal medium

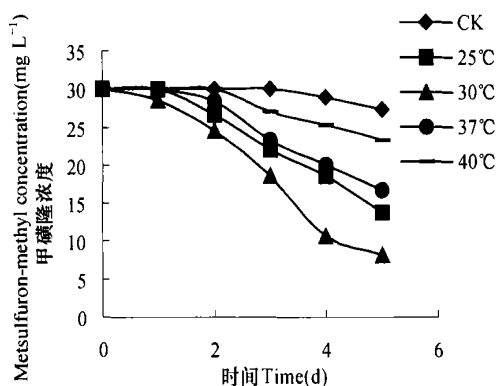


图 7 温度对 HLDA 降解甲磺隆的影响

Fig. 7 Influence of temperature on metsulfuron-methyl degradation by strain HLDA

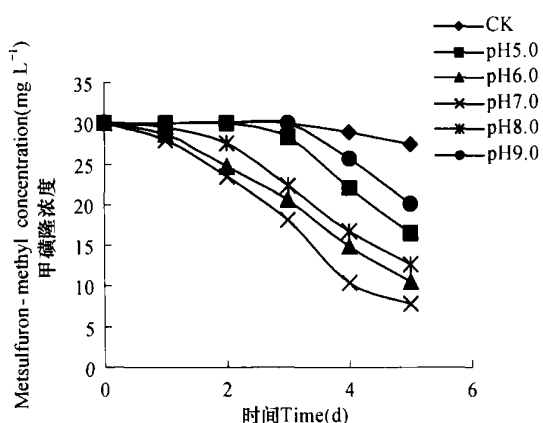


图 8 pH 对 HLDA 降解甲磺隆的影响

Fig. 8 Influence of pH on metsulfuron-methyl degradation by strain HLDA

量为 10% 时降解速率相比无显著差异。

2.4.4 通气量 如图 10 所示,菌株对甲磺隆的降解能力随着通气量的减少而递减,在装液量为 100 ml 时的降解效果最好达 71.6%,装液量为 30、

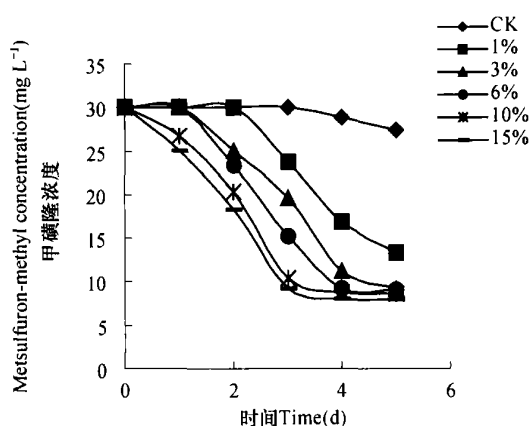


图 9 接种量对 HLDA 降解甲磺隆的影响

Fig. 9 Influence of HLDA inoculation rate on degradation of metsulfuron-methyl

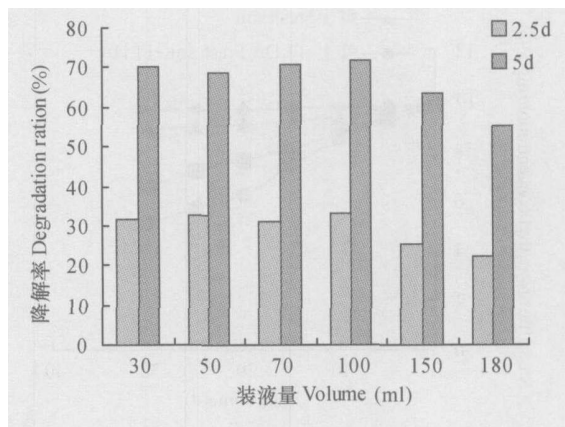


图 10 通气量对 HLDA 降解甲磺隆的影响

Fig. 10 Influence of aeration on metsulfuron-methyl degradation by strain HLDA

50、70 ml 时的降解率与 100 ml 时相比无显著差异。当装液量为 180 ml 时,降解率下降为 55.1%。

2.5 甲磺隆降解酶的定域实验

由图 11 可见,甲磺隆降解酶属于胞内酶,周质空间几乎没有酶活,胞外提取液有少量酶活,推断是细胞膜内的酶通过细胞膜和细胞壁泄漏到细胞外。

2.6 土壤降解实验

土壤降解实验结果见图 12。由图 12 可知,未灭菌土壤加入 HLDA 后,甲磺隆降解速率加快,30 d 的降解率可达 48.3%,而未灭菌土壤不加入 HLDA 的同期降解率仅为 9.61%。灭菌土壤加入 HLDA 后,30 d 的降解率为 34.7%,而灭菌土壤不加 HLDA,甲磺隆基本不降解。实验结果表明,土壤投加入降解菌后,可有效地提高甲磺隆的降解速率。

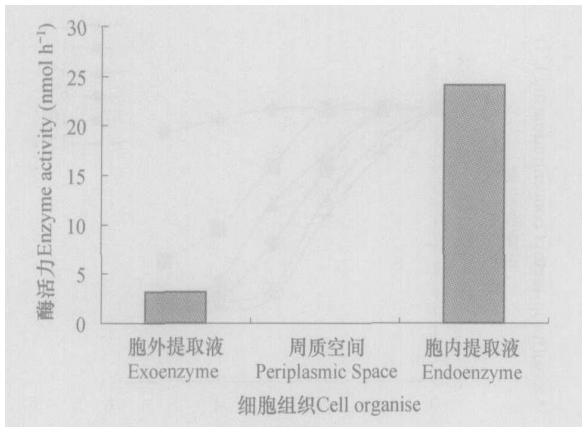


图 11 甲磺隆降解酶的定域实验

Fig. 11 Distribution of enzyme in HLDA

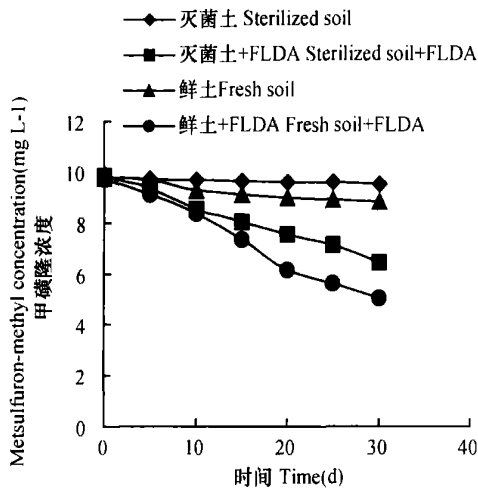


图 12 HLDA 在土壤中降解甲磺隆的效果

Fig. 12 Methyl parathion degradation by strain HLDA in soil

3 结 语

甲磺隆是使用量较大的除草剂之一,在农业生产中发挥了巨大的作用,但由于其残效期长等原因,往往会对后茬作物造成药害,造成经济损失,目前还未有较好的方法解决这一问题^[3,4]。通过筛选除草剂高效降解菌株,采用微生物原位修复在理论上是一可行的方法,也有成功的报道^[13]。

目前国内外已报道的甲磺隆降解细菌与真菌的降解率均在 20%~35%之间^[5~7],而本实验分离获得的甲磺隆降解菌 HLDA 在 5d 的降解率可达 72.6%,降解能力优于已报道甲磺隆降解菌,且该菌易培养,具有较好的应用前景。有关其降解甲磺隆的分子生物学特性和降解途径,在土壤中的生态学行为等有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Bayer EM, Duffy MJ, Hay J V, et al. Herbicides, Chemistry, Degradation and Mode of Action. New York: PC Keamey & DD Kaufinan Marcel Deller Inc, 1987. 117~180
- [2] Hay J V. Chemistry of sulfonylurea herbicides. Pestic. Sci., 1990, 29:247~248
- [3] Dastgheib F, Andrews M, Morton J D, et al. Mode of action of chlorsulfuron in a sensitive wheat (*Triticum aestivum*) cultivar: Primary and secondary effect on nitrogen assimilation. Ann. Appl. Biol., 1995, 127:125~135
- [4] John S F, Thomas G P, Human C R. Potential environmental risks associated with the new sulfonylurea herbicides. Environ. Sci. Technol., 1993, (27): 2250~2254
- [5] Zanardini E, Arnoldi A, Boschini G, et al. Degradation pathways of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by a *Pseudomonas fluorescens* strain. Annals of Microbiology, 2002, 52:25~37
- [6] Boschini G, Agostina A, Arnoldi A. Biodegradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by *Aspergillus niger* in laboratory conditions. J. Environ. Sci. Health, 2003, 38:737~746
- [7] 沈东升, 方程冉, 周旭辉. 土壤中降解甲磺隆除草剂的微生物的分离与筛选. 上海交通大学学报(农业科学版), 2002, 20(3): 186~190. Sheng D S, Fang C R, Zhou X H. Isolation and selection of microorganism degrading metsulfuron-methyl herbicide in soil (In Chinese). Journal of Shanghai JiaoTong University (Agric. Sci. Ed.), 2002, 20(3): 186~190
- [8] 东秀珠, 蔡妙英, 等. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001. Dong X Z, Cai M Y, et al. Manual of Common Systematic Determinative Bacteriology (In Chinese). Beijing: Science Press, 2001
- [9] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning a Laboratory Manual. 2nd Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989
- [10] 刘智, 马爱芝, 张晓舟, 等. 甲基对硫磷水解酶酶促反应体系建立及特性研究. 南京农业大学学报, 2003, 26(4): 60~63. Liu Z, Ma A Z, Zhang X Z, et al. Study on reaction system and characteristics of methyl parathion hydrolase (In Chinese). Journal of Nanjing Agricultural University, 2003, 26(4): 60~63
- [11] Harold C Neu, Leon A Heppel. The release of enzymes from *Escherichia coli* by osmotic shock and during the formation of spheroplasts. J. Biol. Chem., 1965, 240(9): 3685~3692
- [12] 戴树桂, 庄源益, 陈勇生, 等. 两种假单胞菌中二氯酚降解酶活性及其定域研究. 环境科学学报, 1996, 16(2): 173~178. Dai S G, Zhuang Y Y, Chen Y S, et al. Study on enzyme activity and distribution in two strains of bacteria by dichlorophenol degradation (In Chinese). Acta Science Circumstantiae, 1996, 16(2): 173~178
- [13] Struthers J K, Jayachandram K, Morman T B. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. Appl. Environ. Microbiol., 1998, 64(9): 3368~3375

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF METSULFUON-METHYL DEGRADING STRAIN FLDA AND ITS DEGRADATING CHARACTERISTICS

Huang Xing He Jian Pan Jijie Sun Jiquan Gu Lifeng Li Shunpeng[†]

(Key Lab of Microbiological Engineering of Agricultural Environment , Ministry of Agriculture , Microbiology Department , College of Life Science , Nanjing Agricultural University , Nanjing 210095 , China)

Abstract A strain of FLDA capable of degrading metsulfuron-methyl aerobically was isolated from sludge collected from a pesticide(metsulfuron-methyl) plant. Based on analysis of its 16S rDNA , morphology , physiological and biochemical characteristics , strain FLDA was identified preliminarily as *Pseudomonas* sp. This strain of bacteria could degrade 72.6 % of 30mgL⁻¹ metsulfuron-methyl in liquid medium within 5 days. The optimal pH and temperature for metsulfuron-methyl degradation was 7.0 and 30 , respectively. The degradation rate was related positively to initial inoculation rate. Enzyme distribution experiment showed that the metsulfuron-methyl degradeing enzyme in the bacterium was endoenzyme. Strain FLDA could be used to degrade metsulfuron-methyl in soil.

Key words Metsulfuron-methyl ; *Pseudomonas* sp ; Biodegradation