

阿维菌素在土壤中的降解和高效降解菌的筛选*

张 卫 虞云龙 吴加伦 李少南 樊德方

(浙江大学农药环境毒理研究所, 杭州 310029)

摘要 运用恒温培养法研究了阿维菌素在不同土壤中的降解动力学。结果表明, 土壤有机质、土壤温度和农药浓度对阿维菌素的降解有较大影响, 这可能和土壤微生物有关。从试验土壤中分离到一株高效降解阿维菌素的菌株, 经 16S rDNA 鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。土壤接种该优势菌后有助于加快阿维菌素的降解。

关键词 阿维菌素; 土壤; 微生物降解; 优势菌; 接种

中图分类号 X172

文献标识码 A

阿维菌素, 通用名 Abamectin, 其杀虫活性之强和杀虫谱之广具有划时代意义^[1~3]。适用作物有蔬菜、果树、棉花和花卉等, 目前已在很多国家登记使用^[4,5]。近年来阿维菌素在我国已成为甲胺磷等高毒农药的替代品, 其单剂和混剂产品在害虫防治工作中发挥着重要作用。目前国外有关该农药环境归趋的研究, 主要集中于其光解动态, 对其微生物降解方面的研究甚少^[6~8]; 而国内关于阿维菌素环境行为的研究尚未见报道, 这必将成为今后该农药污染治理的瓶颈, 相关研究亟待加强。

16S rDNA 序列分析法是最近十年来发展起来的一种分子指纹技术, 广泛应用于分子的系统发育分类学研究^[9]。16S rDNA 有很高的保守性, 通过未知菌与基因库中已知种属的 16S rDNA 序列作同源性比较, 可以鉴定到种的水平^[10], 目前这种核酸测定方法用于农药降解菌种类鉴定的报道在国内时而可见。

微生物的降解作用是环境中农药分解与转化的重要途径, 利用微生物治理农药污染是一种行之有效的方法, 已显示出良好的应用前景^[11~13]。本文研究了阿维菌素在不同土壤中的降解, 并从试验土壤中分离到一株高效降解菌株, 利用 16S rDNA 序列分析法对其进行种的鉴定, 为今后进一步克隆与

阿维菌素降解有关的基因和构建降解多种污染物的环保工程菌提供了科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

HP1100G 型液相色谱仪(DAD 检测器, 色谱工作站), 色谱柱为长 250 mm、涂有 YWG-C₁₈ 的不锈钢柱, 内径 4.6 mm, 国际型电动振荡机, 2FG-85A 型旋转蒸发仪, 50 μl 微量进样器等仪器。

二氯甲烷、甲醇、无水硫酸钠、氯化钠等均为 A.R. 级, 二次重蒸水, 阿维菌素标样($B_{1a} > 96.5\%$)由浙江省钱江生化股份有限公司提供。

基础培养基^[14,15]: MgSO₄ · 7H₂O 0.04 g; FeSO₄ · 7H₂O 0.002 g; K₂HPO₄ 0.2 g; (NH₄)₂SO₄ 0.2 g; CaSO₄ 0.08 g; 蒸馏水 1 L; pH 值为 7.0; 121℃ 湿热灭菌 30 min。

活化富集培养基: 牛肉膏 3 g; 蛋白胨 5 g; NaCl 5 g; 蒸馏水 1 L; pH 值为 7.2; 121℃ 湿热灭菌 30 min。

1.2 供试土壤

土样(5~10 cm 深度)采自浙江省境内, 除去砂砾和植株残物, 经风干后碾碎, 过 40 目筛。加入适量蒸馏水, 使含水量为田间最大持水量的 60%, 备用。五

* 国家自然科学基金项目(30270880)资助

作者简介: 张 卫(1975~), 男, 江西贵溪人, 博士, 研究方向为有机污染物环境安全性评价和生物修复

收稿日期: 2003-06-06 收到修改稿日期: 2003-11-27

种土壤^[16,17]及各土样理化性质^[18]如表1所示。

表1 供试土壤的理化性质
Table 1 Physical and chemical properties of tested soils

土壤 Soil	采样地 Sampling site	pH	有机质 (g kg ⁻¹)	阳离子交换量 (cmol kg ⁻¹)	总氮含量 (g kg ⁻¹)	田间最大持水量 Field maximum moisture capacity (%)
湿润雏形土 Udic Cambosols	龙游 Longyou	4.46	6.10	9.51	0.15	43.63
湿润富铁土 Udic Ferrosols	衢州 Quzhou	5.09	20.5	17.51	0.29	69.41
湿润淋溶土 Udic Argosols	杭州 Hangzhou	6.44	33.5	10.63	1.58	49.76
潮湿雏形土 Aquic Cambosols	嘉兴 Jiaxing	7.78	34.5	9.00	0.32	71.43
正常盐成土 Orthic Halosols	宁波 Ningbo	8.31	11.6	12.54	0.12	53.56

1.3 试验设计

处理1: 取20 g备用的五种土壤样品放入250 ml 锥型瓶中, 按10 mg kg⁻¹的量加入阿维菌素, 混匀, 然后将所有土样放入25℃恒温培养箱内黑暗培养。

处理2: 取20 g备用的湿润淋溶土放入250 ml 锥型瓶中, 按10 mg kg⁻¹的量加入阿维菌素, 混匀, 然后将所有土样放入15℃、25℃、35℃和45℃恒温培养箱内黑暗培养。

处理3: 取20 g备用的湿润淋溶土放入250 ml 锥型瓶中, 按1、5、10和50 mg kg⁻¹的量加入阿维菌素, 混匀, 然后将所有土样放入25℃恒温培养箱内黑暗培养。

处理4: 取20 g备用的湿润淋溶土放入250 ml 锥型瓶中, 按10 mg kg⁻¹的量加入阿维菌素, 混匀。样品作灭菌(湿热灭菌)及未灭菌处理, 然后将所有土样放入25℃恒温培养箱内黑暗培养。

以上每个处理均设4次重复,于培养的0、5、10、20、30、40和60 d取样测定阿维菌素的含量。

1.4 高效降解菌的选育

1.4.1 降解菌的分离与纯化 将采集的20 g长期使用过阿维菌素的湿润淋溶土接种到含5 mg L⁻¹阿维菌素的50 ml基础培养基中, 30℃ 150 r min⁻¹振荡培养7 d, 为第一个驯化周期, 接着与第一个驯化周期相同操作, 将培养物移接到新鲜培养基中, 开始以后几个周期的培养, 并逐倍增加新鲜培养液中阿维菌素浓度(从5 mg L⁻¹直至浓度为200 mg L⁻¹)。

培养结束后, 平板划线分离、纯化, 挑取平板上单一菌落接种于斜面上, 培养后放入冰箱(4℃)中保存。

1.4.2 菌悬母液的配制 取30℃下生长24 h的斜面菌种一环于100 ml活化富集培养基中振荡培养24 h, 培养液以4 000 r min⁻¹离心分离10 min, 收集菌体, 用pH 7.0的0.02 mol L⁻¹的Na₂HPO₄-NaH₂PO₄缓冲液洗涤3次, 再用该缓冲液将菌体配成pH 7.0的15%(每100 ml缓冲液含15 g菌体)菌悬液备用, 以上操作在无菌条件下进行。

1.4.3 高效降解菌的筛选 分别吸取0.5 ml的15%菌悬液于含10 mg L⁻¹阿维菌素的20 ml基础培养基中, 30℃ 150 r min⁻¹振荡培养。每个处理设4次重复, 并用不加菌体的培养液进行对照试验。于培养的0、2、5、10、15和20 d取样测定阿维菌素含量, 从而筛选出降解能力强的高活性优势菌株。

1.5 高效降解菌的鉴定

PCR反应引物为一对通用引物。正向引物BSF8/20: 5'-AGACT TTGAT CCTGG CTCAG-3' (*Escherichia coli* 对应位置为8-27); 反向引物BSR1541/20: 5'-AAGGA GGTGA TCCAG CCGCA-3' (*E. coli* 对应位置为1541-1522)。

PCR反应体系(100 μl)为: 10×PCR缓冲液5 μl, MgCl₂(0.025 mol L⁻¹)4 μl, dNTP 2 μl, 引物BSF8/20和引物BSR1541/20各1.5 μl, 模板DNA 1 μl, Taq酶(10 000 U ml⁻¹)0.5 μl, 重蒸水34.5 μl, 甘油50 μl^[19]。PCR温度转换程序如下:(1) 94℃ 2 min;

(2)94℃ 1 min, 56℃ 1 min, 72℃ 2 min; (3)第2步循环29次; (4)72℃ 10 min; (5)4℃ 10 min; (6)室温放置^[20]。PCR产物纯化和测序由上海申友生物技术有限责任公司完成。测序得到分离菌株16S rDNA(约700 bp)部分序列, 将所得序列通过Blast程序与GenBank中核酸数据进行比对分析。

1.6 阿维菌素降解菌的接种试验

取20 g备用的湿润淋溶土放入250 ml锥型瓶中, 按10 mg kg⁻¹的量加入阿维菌素, 混匀。按0.1、2.3和4 ml的量接种15%高效降解菌悬液, 然后将所有土样放入35℃恒温培养箱内黑暗培养。每个处理设4次重复, 于培养的0.2.5.10.20和40 d取样测定阿维菌素的含量。

1.7 阿维菌素浓度的测定

将定时取出的20 g土样放入250 ml锥形瓶中, 加入80 ml甲醇提取液。在振荡机上振荡提取1 h, 抽滤后用50 ml甲醇洗残渣, 合并滤液于250 ml圆底烧瓶中, 用旋转蒸发仪(80℃水浴)将甲醇浓缩至10 ml左右, 剩余的溶液转入250 ml分液漏斗中, 加入60 g L⁻¹氯化钠水溶液60 ml, 用3×50 ml二氯甲烷萃取, 经无水硫酸钠过滤后, 用旋转蒸发仪(50℃水浴)将二氯甲烷浓缩至1~2 ml左右, 然后用高纯氮吹干, 色谱甲醇定容至5 ml后待测。

将定时取出的20 ml培养液直接用3×30 ml二氯甲烷萃取, 经无水硫酸钠过滤后在旋转蒸发仪上将二氯甲烷浓缩至1~2 ml左右, 然后用高纯氮吹干, 色谱甲醇定容至5 ml后待测。

采用液相色谱对阿维菌素浓度进行测定。流动

相梯度洗脱程序(A:水 B:乙腈):(1)0 min, A:B=80:20(V:V, 下同); (2)4.0 min, A:B=55:45; (3)5.0 min, A:B=10:90; (4)12.5 min, A:B=10:90; (5)13.0 min, A:B=0:100。流量0.7 ml min⁻¹, 检测波长254 nm, 进样量20 μl, 按外标峰面积法定量。在上述条件下, 阿维菌素的保留时间为10.733 min。

2 结果与分析

2.1 阿维菌素在土壤中的降解

对各处理阿维菌素残留量(C)和时间(t)进行指数相关回归分析, 发现相关系数(r)都在0.96~0.99之间, 故可认为用一级动力学方程来描述阿维菌素在土壤中的降解过程是合理的。运用EXCEL软件进行方程拟合, 降解动力学方程为 $C_t = C_0 \times e^{-kt}$, 其中 C_t 为t时间阿维菌素的残留量, C_0 为样品的初始浓度, K为降解速率常数。

2.1.1 土壤类型对阿维菌素降解的影响 从表2可以看出, 在土壤理化性质中, 影响阿维菌素在土壤中降解的最主要因子为有机质含量。有机质含量越高(如潮湿雏形土和湿润淋溶土), 其降解越快, 这可能与有机质含量越高的土壤微生物数量越多有一定关系。Nedwell等^[21]认为微生物在土壤中并不是均匀分布的, 而是大多以许多孤立群体存在于土壤有机质中, 虽然土壤有机质占土壤颗粒表面的比例不超过15%, 却有占土壤总含量的60%的微生物与其相关联, 这些微生物约覆盖土壤有机质表面的0.2%。

表2 不同土壤类型中阿维菌素降解的动力学参数

Table 2 Degradation kinetic parameters of Abamectin in different types of soils

土壤 Soil	降解动力学方程 Degradation kinetic equation $C_t = C_0 \times e^{-kt}$	相关系数r Correlation coefficient r	降解速率常数K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
湿润雏形土 Udic Cambosols	$C_t = 10.67 \times e^{-0.0160t}$	0.981 6	0.016 0	43.3
湿润富铁土 Udic Ferrosols	$C_t = 10.26 \times e^{-0.0179t}$	0.979 4	0.017 9	38.7
湿润淋溶土 Udic Argosols	$C_t = 10.03 \times e^{-0.0199t}$	0.989 8	0.019 9	34.8
潮湿雏形土 Aquic Cambosols	$C_t = 9.98 \times e^{-0.0240t}$	0.967 9	0.024 0	28.9
正常盐成土 Orthic Halosols	$C_t = 10.41 \times e^{-0.0170t}$	0.972 5	0.017 0	40.8

2.1.2 温度对阿维菌素降解的影响

由表3可

知, 阿维菌素的降解对温度表现出较强的敏感性。

在 15~35℃ 范围内, 温度升高促使反应速率加快, 这可能是由于温度升高使有机物粘度降低, 挥发性增大, 生物可利用性增强, 更主要的可能是随着环境温度逐渐接近于微生物生长的最适温度, 微生物酶

活性大大提高, 使阿维菌素的降解速率加快。但当温度过高时, 由于微生物活动受到抑制, 降解速率又开始变慢, 阿维菌素在 45℃ 时的半衰期明显延长。

表 3 阿维菌素在不同温度土壤中降解的动力学参数

Table 3 Degradation kinetic parameters of Abamectin in soil at different temperature

温度 Temperature (℃)	降解动力学方程 Degradation kinetic equation $C_t = C_0 \times e^{-kt}$	相关系数 r Correlation coefficient r	降解速率常数 K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
15	$C_t = 9.72 \times e^{-0.0123t}$	0.980 5	0.012 3	56.4
25	$C_t = 10.03 \times e^{-0.0199t}$	0.989 8	0.019 9	34.8
35	$C_t = 10.18 \times e^{-0.0289t}$	0.992 3	0.028 9	24.0
45	$C_t = 10.12 \times e^{-0.0132t}$	0.986 6	0.013 2	52.5

2.1.3 农药浓度对阿维菌素降解的影响 表 4 的结果表明, 在一定范围内, 阿维菌素浓度升高有利于阿维菌素的降解, 其原因可能是微生物在降解过程中以阿维菌素为底物, 在未达到其毒性耐受限度

时, 较高浓度的农药会使培养初期微生物个体数量显著增加, 从而导致降解半衰期缩短。但当农药浓度 (50 mg kg^{-1}) 超过微生物的忍受极限时, 其活动将受到明显抑制, 导致降解速率又趋于下降。

表 4 不同浓度阿维菌素在土壤中降解的动力学参数

Table 4 Degradation kinetic parameters of Abamectin at different concentration in soil

阿维菌素浓度 Abamectin concentration (mg kg^{-1})	降解动力学方程 Degradation kinetic equation $C_t = C_0 \times e^{-kt}$	相关系数 r Correlation coefficient r	降解速率常数 K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
1	$C_t = 1.13 \times e^{-0.0178t}$	0.985 2	0.017 8	38.9
5	$C_t = 4.48 \times e^{-0.0190t}$	0.991 1	0.019 0	36.5
10	$C_t = 10.03 \times e^{-0.0199t}$	0.989 8	0.019 9	34.8
50	$C_t = 49.55 \times e^{-0.0149t}$	0.981 9	0.014 9	46.5

2.1.4 土壤灭菌与未灭菌条件下阿维菌素的降解

在土壤降解试验中, 灭菌样品试验结果反应了非生物消减作用(包括挥发、水解和化学降解等), 而未灭菌样品试验结果则反应了微生物降解和非生物消减的共同作用, 因此微生物降解的试验数据应当是由灭菌土壤药剂残留量减去同一时间未灭菌土壤药剂残留量^[22,23]。

由表 5 和表 6 可知, 微生物对阿维菌素的降解随时间增加越来越快, 降解率从 5 d 时的 7.90% 升至 60 d 的 52.82%; 另外阿维菌素在未灭菌和灭菌条件下的降解半衰期分别为 34.8 d 和 277.3 d, 灭菌条件下的半衰期是未灭菌的 8 倍, 说明阿维菌素在土壤中的降解主要由微生物引起, 而非生物消减作用较少, 这与 Joan 等^[2]报道的结果基本一致。

表 5 阿维菌素在灭菌与未灭菌土壤中的降解动力学

Table 5 Degradation dynamics of Abamectin in sterilized and non-sterilized soils

时间 Time (d)	阿维菌素残留量 Abamectin residue (mg kg^{-1})		微生物降解量 Microbial degradation amount (mg kg^{-1})	降解率 Degradation rate (%)
	灭菌土壤 Sterilized soil	未灭菌土壤 Non-sterilized soil		
0	9.75	9.75	—	—
5	9.64	8.87	0.77	7.90
10	9.32	8.45	0.87	8.92
20	9.17	7.53	1.64	16.82
30	9.03	5.32	3.71	38.05
40	8.98	4.21	4.77	48.92
60	8.29	3.14	5.15	52.82

表 6 阿维菌素在灭菌与未灭菌土壤中降解的动力学参数

Table 6 Degradation kinetic parameters of Abamectin in sterilized and non-sterilized soil

处理 Treatment	降解动力学方程 Degradation kinetic equation	相关系数 r Correlation coefficient r	降解速率常数 K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
	$C_t = C_0 \times e^{-kt}$			
灭菌土壤 Sterilized soil	$C_t = 9.70 \times e^{-0.0025t}$	0.973 9	0.002 5	277.3
未灭菌土壤 Non-sterilized soil	$C_t = 10.03 \times e^{-0.0199t}$	0.989 8	0.019 9	34.8

2.2 菌株的分离与筛选

通过对菌株的富集培养、划线分离与纯化,共得到 7 株降解菌。对这些菌进行筛选试验,结果如表

7 所示。从表中可以看出,菌株 ZF-4 降解阿维菌素能力最强,降解速率常数达到 0.131 0,半衰期仅 5.3 d,为阿维菌素的高效降解菌。

表 7 不同菌株对阿维菌素降解的动力学参数

Table 7 Degradation kinetic parameters of different strains to Abamectin

菌株 Strains	降解动力学方程 Degradation kinetic equation	相关系数 r Correlation coefficient r	降解速率常数 K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
	$C_t = C_0 \times e^{-kt}$			
ZF-1	$C_t = 9.71 \times e^{-0.0589t}$	0.991 6	0.058 9	11.8
ZF-2	$C_t = 10.17 \times e^{-0.0768t}$	0.971 3	0.076 8	9.0
ZF-3	$C_t = 9.86 \times e^{-0.0706t}$	0.987 5	0.070 6	9.8
ZF-4	$C_t = 8.81 \times e^{-0.1310t}$	0.994 2	0.131 0	5.3
ZF-5	$C_t = 10.60 \times e^{-0.0833t}$	0.985 1	0.083 3	8.3
ZF-6	$C_t = 9.75 \times e^{-0.0537t}$	0.963 7	0.053 7	12.9
ZF-7	$C_t = 9.92 \times e^{-0.0787t}$	0.983 4	0.078 7	8.8

2.3 高效降解菌的鉴定(16SrDNA序列分析及其分子鉴定)

以细菌总 DNA 为模板,利用细菌 16S rDNA 通

用引物 BSF8/20 和 BSR1541/20 进行 PCR 扩增,得到长约 1.5 kb 的 PCR 扩增产物,测定了分离菌株部分长度的 16S rDNA(约 613 bp)序列。将所测序列通过

Blast 程序与 GenBank 中核酸数据进行比对分析, 结果表明, 分离菌株与多株菌 16S rDNA 核苷酸序列同源性均在 90% 以上, 与三株嗜麦芽寡养单胞菌 16S rDNA 序列的同源性高达 99%, 故在分子系统发育分类学上属于寡养单胞菌属嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。

2.4 接种降解菌的土壤中阿维菌素的降解

从表 8 可以看出, 接种了高效降解菌的土壤, 阿维菌素的降解速度明显快于未加菌处理。且随着接种量增加, 阿维菌素降解速率明显加快, 这种趋势在

低菌量时表现更为明显。但当接种量继续增加到 4 ml 时, 降解速率虽然仍呈上升趋势, 但已趋向平缓, 和 3 ml 时相差不大, 这可能是由于随着接种量增加, 微生物生长所需的碳源相对不足, 导致有效菌源差不多。说明对一定浓度的农药来说, 菌量适宜有利于接种微生物充分利用土壤中的底物(阿维菌素)进行生长, 最大限度地发挥其降解潜力。因此在实际应用过程中, 一定要根据实际情况, 合理添加菌量, 做到既保证效果又节约成本^[24,25]。

表 8 接种不同菌量到土壤后阿维菌素降解的动力学参数¹⁾

Table 8 Degradation kinetic parameters of Abamectin after inoculation with different amount of dominant bacteria into soil

接种量 Inoculation amount (ml)	降解动力学方程 Degradation kinetic equation $C_t = C_0 \times e^{-kt}$	相关系数 r Correlation coefficient r	降解速率常数 K Degradation rate constant K	半衰期 Half-life (d)
0	$C_t = 10.18 \times e^{-0.0289t}$	0.962 3	0.028 9	24.0
1	$C_t = 9.95 \times e^{-0.0497t}$	0.985 1	0.049 7	13.9
2	$C_t = 9.81 \times e^{-0.0706t}$	0.976 5	0.070 6	9.8
3	$C_t = 9.26 \times e^{-0.1018t}$	0.959 2	0.101 8	6.8
4	$C_t = 9.04 \times e^{-0.1125t}$	0.974 8	0.112 5	6.2

1) 每个处理设 20 g 土壤, 添加 10 mg kg⁻¹阿维菌素 Weight of experimental soil is 20 g, adding 10 mg kg⁻¹ Abamectin for every treatment

3 结 论

1) 单因素条件下试验发现土壤有机质、土壤温度和农药浓度对阿维菌素在土壤中的降解有较大影响, 且灭菌条件下的降解半衰期是未灭菌时的 8 倍, 这说明阿维菌素在土壤中的降解可能和土壤微生物有关。

2) 从长期受阿维菌素污染的湿润淋溶土中分离到一株高效降解阿维菌素的菌株, 经 16S rDNA 序列分析法鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。

3) 接种了高效降解菌的土壤, 阿维菌素的降解速度明显快于未加菌处理, 但对一定浓度的农药来说, 存在一个最适接种量问题。

致 谢 试验中得到浙江大学微生物研究所吕镇梅博士的指导和帮助, 深表感谢!

参 考 文 献

- [1] 沙家骏, 张敏恒, 姜雅君, 等. 国外新农药品种手册. 北京: 化学工业出版社, 1992. 145~148. Sha J J, Zhang M H, Jiang Y J, et al. A Manual for all Kinds of New Pesticides Overseas (In Chinese). Beijing: Chemical Industry Press, 1992. 145~148
- [2] Joan A L, Richard A D. Avermectins, a novel class of compounds: Implications for use in Arthropod pest control. Annu. Rev. Entomol., 1991, 36: 91~117
- [3] Fisher M H. Ivermectin and Avermectin Chemistry. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 1~23
- [4] 王险峰. 进口农药应用手册. 北京: 中国农业出版社, 2000. 64~66. Wang X F. An Applications Manual for Importing Pesticides (In Chinese). Beijing: China Agricultural Press, 2000. 64~66
- [5] Miller T W. Avermectin: A new family of potent anthelmintic agents, producing organism and fermentation, antimicrob. Agents Chemother, 1979, 15: 368~371
- [6] Demchak R J. Photostability of abamectin microspheres. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(1): 260~262
- [7] Crouch L S. Photodegradation of Avermectin B_{1a} thin films on glass. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 39(7): 1310~1319
- [8] Fisher M H. Recent progress in Avermectin research. ACS Symposium Series American Chemical Society, 1993, 524: 169~182
- [9] 陈文新. 细菌系统发育. 微生物学报, 1998, 38(3): 240~243. Chen W X. Bacterial phylogeny (In Chinese). Acta Microbiologica Sinica, 1998, 38(3): 240~243
- [10] Vandamme P, Pot B. Polyphasic taxonomy, a consensus approach bacterial systematical. Microbial Reviews, 1996, 60: 407~438
- [11] Courteix A, Bergel A. Horseradish peroxidase-catalyzed hydroxylation

- of phen I. Thermodynamic analysis. *Enzyme Microb. Technol.*, 1995, 17: 1 087 ~ 1 093
- [12] 虞云龙,樊德方,陈鹤鑫.农药微生物降解的研究现状与发展策略. *环境科学进展*, 1996, 4(3): 28 ~ 36. Yu Y L, Fan D F, Chen H X. The current situation and research trend of degradation of pesticides by microorganisms (In Chinese). *Advances In Environmental Science*, 1996, 4(3): 28 ~ 36
- [13] Mulbry W, Kearney P C. Degradation of pesticides by micro-organisms and the potential for genetic manipulation. *Crop Protection*, 1991, 10: 334 ~ 346
- [14] 钱存柔,黄仪秀,林稚兰.微生物学实验.北京:北京大学出版社, 1984. 38 ~ 48. Qian C R, Huang Y X, Lin Z L. *Laboratory Exercises in Microbiology* (In Chinese). Beijing: Peking University Press, 1984. 38 ~ 48
- [15] 中国科学院南京土壤研究所编.土壤微生物研究法.北京:科学出版社, 1985. 43 ~ 53. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences ed. *Methodology for Soil Microorganisms Research* (In Chinese). Beijing: Science Press, 1985. 43 ~ 53
- [16] 浙江省土壤普查办公室.浙江土种志.杭州:浙江科学技术出版社, 1993. 249 ~ 273. General Detailed Soil Survey Office of Zhejiang Province. *Zhejiang Soil Species Reports* (In Chinese). Hangzhou: Zhejiang Science & Technology Press, 1993. 249 ~ 273
- [17] 中国科学院南京土壤研究所编.中国土壤系统分类检索(第三版).合肥:中国科学技术大学出版社, 2001. 75 ~ 215. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. ed. *Keys to Chinese Soil Taxonomy* (In Chinese). 3rd Ed. Hefei: University of Science and Technology of China Press, 2001. 75 ~ 215
- [18] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法.北京:中国农业科技出版社, 1999. 12 ~ 295. Lu R K. *Analytical Method of Soil Agricultural Chemistry* (In Chinese). Beijing: Agricultural Science and Technology of China Press, 1999. 12 ~ 295
- [19] Devereux R, Willis S G. *Amplification of Ribosomal RNA Sequences: Molecular Microbial Ecology Manual*. Netherland: Kluwer Academic Publishers, 1995. 3 ~ 11
- [20] Damiani G, Amedeo P, Bandi C, et al. *Bacteria Identification by PCR-Based Techniques*. Chapter 10. In: Adolph K W. ed. *Microbial Genome Methods*. CRC Press, 1996. 167 ~ 177
- [21] Nedwell D B, Gray T R G. Soils and sediments as matrices for microbial growth. *Ecology of Microbial Communities*. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press, 1987. 21 ~ 24
- [22] 叶常明,王杏君,弓爱君,等.阿特拉津在土壤中的生物降解研究. *环境化学*, 2000, 19(4): 300 ~ 305. Ye C M, Wang X J, Gong A J, et al. Study on biodegradation of atrazine in soil (In Chinese). *Environmental Chemistry*, 2000, 19(4): 300 ~ 305
- [23] 薛琦.土壤微生物和农药.农药译丛, 1994, 16(4): 51 ~ 55. Xue Q. *Edaphon and pesticide* (In Chinese). World Pesticides, 1994, 16(4): 51 ~ 55
- [24] 周军英,林玉锁,陈良燕,等.巨大芽孢杆菌 LY-4 对土壤中杀虫单农药的降解. *中国环境科学*, 2000, 20(6): 511 ~ 514. Zhou J Y, Lin Y S, Chen L Y, et al. Degradation of monosulfotol by *Bacillus megaterium* LY-4 in soil (In Chinese). *China Environmental Science*, 2000, 20(6): 511 ~ 514
- [25] 石利利,林玉锁,周军英,等. DLL-1 菌在土壤中对甲基对硫磷农药的降解性能与影响因素研究. *环境科学学报*, 2001, 21(5): 597 ~ 600. Shi L L, Lin Y S, Zhou J Y, et al. Studies on the biodegradation characteristics of parathion-methyl by *Plesiomonas* sp. (DLL-1) in soils and the influence factors (In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2001, 21(5): 597 ~ 600

DEGRADATION OF ABAMECTIN IN SOILS AND SCREENING OF HIGHLY EFFICIENT DEGRADATION BACTERIUM

Zhang Wei Yu Yunlong Wu Jialun Li Shaonan Fan Defang

(Pesticide Environmental Toxicity Research Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Degradation dynamics of Abamectin in different soils were studied by in cubation method. The result shows that soil organic matter, soil temperature and pesticide concentration can obviously affect Abamectin degradation, maybe which contributes to microorganism in soil. The dominant bacteria which can effectively degrade Abamectin was isolated from experimental soil, and it was identified by 16S rDNA as *Stenotrophomonas maltophilia*. After the inoculation of dominant bacteria into soil Abamectin degradation was further augmented.

Key words Abamectin; Soil; Microbial degradation; Dominant bacteria; Inoculation