

周亮成, 李运, 李卓苗, 等. 枯草芽孢杆菌 BSF01 菌剂制备及对高效氯氰菊酯的降解效果[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(3): 54-59.

枯草芽孢杆菌 BSF01 菌剂制备及对 高效氯氰菊酯的降解效果

周亮成[†], 李 运[†], 李卓苗, 林培炯, 钟国华

(华南农业大学 农学院/农业部华南作物有害生物综合治理重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】制备高效氯氰菊酯 (β -CP) 的降解菌菌剂。【方法】将前期分离驯化的 β -CP 高效降解菌株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* BSF01, 通过各助剂成分及含量优化, 获得菌剂最佳配方。采用室内模拟试验, 检验该菌剂对土壤中 β -CP 的降解效果。【结果】试验明确了 BSF01 菌剂的最佳配方为: 以 w 为 30% 的 BSF01 菌粉为主体, 添加 w 为 5% 的十二烷基苯磺酸钠作为润湿剂、 w 为 7% 的阿拉伯树胶为分散剂、 w 为 4% 的磷酸钾为稳定剂和 w 为 1% 的糊精为保护剂, 并补足载体高岭土至 w 为 100%。该菌剂主要质量指标的检测结果表明, BSF01 菌剂芽孢含量为 6.50×10^{11} cfu·g⁻¹, 含水量 (w) $\leq 0.6\%$, 细度 $\geq 99\%$, 润湿时间为 32.0 s, 悬浮率为 78.0%, 符合国家标准。将 BSF01 菌剂稀释 100、1 000 及 2 000 倍后, 分别投入受 β -CP 污染的田间土壤, 5 d 后, 以 100 倍菌剂稀释液处理的土壤中 β -CP 降解率达到 87.50%, 有效降低了土壤中 β -CP 的残留水平。【结论】枯草芽孢杆菌 BSF01 菌剂可成为消除农田拟除虫菊酯类农药残留污染的高效安全生物制品。

关键词: 高效氯氰菊酯; 枯草芽孢杆菌; 生物降解; 菌剂; 农药
中图分类号: S482.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2018)03-0054-06

Preparation of bacterial agent based on *Bacillus subtilis* BSF01 and its biodegradation effect on beta-cypermethrin

ZHOU Liangcheng[†], LI Yun[†], LI Zhuomiao, LIN Peijiong, ZHONG Guohua
(College of Agriculture, South China Agricultural University/Key Laboratory of Integrated Pest Management of Crop in South China, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To prepare a bacterial agent that is able to degrade beta-cypermethrin (β -CP). 【Method】Based on previously isolated and cultured *Bacillus subtilis* BSF01 which had excellent potential in rapidly degrading β -CP, the bacterial formulation was determined by optimizing additives and dosage. The degrading ability of prepared bacterial agent was evaluated in β -CP-contaminated soil under laboratory conditions. 【Result】The optimal formulation was determined to blend 30% bacterial powder with 5% sodium dodecyl benzene sulfonate as wetting agent, 7% acacia gum as dispersant and 4% potassium phosphate as stabilizer, appending kaolin as the carrier to 100%. The quality assessment verified that the spore intensity of prepared bacterial agent reached 6.50×10^{11} cfu·g⁻¹ with low water content ($\leq 0.6\%$), high fineness ($\geq 99\%$), short wetting time (32 s) and 78% suspensibility. The prepared agent was sprayed on β -CP-contaminated soil by diluting to 100, 1 000 and 2 000 times, respectively. After five days, about 87.50% of residual β -CP in soil was degraded by bacterial agent at 100-fold dilution, which rapidly decreased the residual

收稿日期: 2017-10-09 优先出版日期: 2018-04-16
优先出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20180416.1032.030.html>
作者简介: 周亮成 (1991—), 男, 硕士研究生, E-mail: 282424436@qq.com; 李 运 (1995—), 男, E-mail: 472600616@qq.com; [†]对本文贡献相同; 通信作者: 钟国华 (1973—), 男, 教授, 博士, E-mail: guohuazhong@scau.edu.cn
基金项目: 广东省科技计划项目 (2015B020207003); 广东大学生科技创新培育专项 (PDJH2016B0085)
<http://xuebao.scau.edu.cn>

level of β -CP in soil. 【Conclusion】 The prepared β -CP bacterial agent exhibits outstanding potential in realistic application with further optimization, which may provide an effective, safe and promising bacterial product for eliminating pyrethroid contamination in agricultural environment.

Key words: beta-cypermethrin; *Bacillus subtilis*; biodegradation; bacterial agent; pesticide

拟除虫菊酯类农药是一类高效、广谱、低毒的仿生杀虫剂,通过触杀和胃毒作用,可有效防治农业、公共卫生、城市绿化中多种害虫、害螨等,在全球范围内广泛使用^[1]。氯原子和 3-苯氧基苄基取代天然除虫菊素的部分侧链,显著改进了菊酯类农药的光稳定性,使高效低毒的拟除虫菊酯类农药在农业生产中迅速推广^[2],目前该类农药已商业化的品种约为 70 多种,产量占据了全球杀虫剂市场的 30% 左右^[3]。然而,化学结构的改造极大提高了该类农药的生物毒性^[4]。拟除虫菊酯类农药作用于昆虫神经系统,因此,哺乳动物神经传导系统的钠离子通道也成为菊酯类农药的潜在作用位点^[5]。研究表明,拟除虫菊酯类农药对非靶标哺乳动物的中枢神经和外周神经表现出较高的神经毒性^[6-8],逐渐成为人类健康及生态系统安全的潜在威胁,因此,如何消除拟除虫菊酯类农药在环境中的残留污染是保障农业安全生产的迫切问题^[9-10]。

微生物群落的多样性及丰富性促进了土壤有机质的分解和养分的转化,微生物可快速响应土壤环境中的农药蓄积压力,并激发其特有的生物解毒机制^[11]。研究表明,经筛选、驯化后,微生物可有效代谢环境中残留的农药,具有操作简单、高效、低成本、无二次污染等优点^[12-13]。然而,在田间应用中,因菌株的直接投放导致菌群存活率低、生长繁殖慢、易受原生菌群及环境因素影响等问题,大幅削弱了农药降解菌的生物修复效果,从而阻碍了降解微生物在田间农药残留污染修复中的大规模推广和应用。本研究利用前期筛选的高效氯氰菊酯(Beta-cypermethrin, β -CP) 降解菌株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* BSF01,通过助剂成分筛选及比例优化,制备活性高、持效性好、能够在田间广泛运用的降解菌剂,为今后该降解菌的产业化生产和应用提供重要基础,同时,为治理农田环境中的拟除虫菊酯类农药的残留污染提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株枯草芽孢杆菌 BSF01 是由华南农业大学昆虫毒理研究室从广西农药厂废水活性污泥中

<http://xuebao.scau.edu.cn>

筛选、分离与鉴定。现保存于该实验室及中国典型培养物保藏中心,菌种保藏号为 CCTCCAB2014103。根据文献方法,制备种子液培养基^[3],计数培养基^[3]及发酵培养基^[14]。

质量分数为 95% 的 β -CP 原药由江苏扬农股份化工有限公司提供。色谱级有机溶剂购自瑞典 Oceanpak 公司;其余试剂均为国产分析纯。

准确称取一定质量的原药,加入丙酮振荡使其充分溶解,并定容至 100 mL,配制为 1 000 mg·L⁻¹ 的农药母液,经 0.22 μ m 有机滤膜过滤后避光低温保存于棕色瓶中。

1.2 菌粉的制备

在 50 mL 种子液培养基中按 1% 的体积分数添加活化菌液,置于 200 r·min⁻¹、35 $^{\circ}$ C 摇床中培养 24 h 后,制得菌株 BSF01 的活化种子液。扩大培养时,将发酵罐蒸汽灭菌之后装入发酵培养基 15 L,继续蒸汽灭菌 30 min,待发酵液温度下降至 40 $^{\circ}$ C 后,按 1% 的体积分数 (150 mL) 接种活化种子液至发酵罐中,调节 pH 为 7.0 $\pm$ 0.2,加入适量灭菌消泡剂,于 350 r·min⁻¹、35 $^{\circ}$ C 条件下发酵培养 16 h。在发酵后期,每隔 1 h 从发酵罐中取样制片,结晶紫染色后将其置于光学显微镜下观察枯草芽孢杆菌形态,待视野中芽孢生成率大于 99% 且芽孢形态均一时结束发酵,将发酵液分装后,以 4 $^{\circ}$ C、3 600 r·min⁻¹ 离心 30 min,弃上清液,按沉淀质量的 3% 添加载体填料高岭土用于喷制菌粉。喷雾干燥制备菌粉时,将进样泵的转速设置为 14~16 r·min⁻¹,喷雾干燥机进风温度 195 $^{\circ}$ C,出风温度 90 $^{\circ}$ C,雾化器转速 250~260 r·min⁻¹,每次进行喷雾干燥前先清洁干燥器内壁及管道,进样前开引风机热机 0.5 h,喷雾干燥完成后开引风机降温,待温度低于 50 $^{\circ}$ C 时,收集喷雾塔中的菌粉,称质量,测定芽孢含量,密封保存。

1.3 菌剂助剂的筛选

1.3.1 润湿剂的筛选 以洗衣粉、十二烷基磺酸钠 (Sodium dodecyl sulfonate, SDS) 及十二烷基苯磺酸钠 (Sodium dodecyl benzene sulfonate, SDBS) 为待测润湿剂,使菌粉中各润湿剂的质量分数分别为 3%、5% 和 7%,每个处理 3 个重复,并设置未添加润湿剂的空白对照。经过微型粉碎机粉碎后收集混

合物, 参照《农药可湿性粉剂润湿性测定方法 (GB/T 5451—2001)》^[15], 测定不同润湿剂混合物的润湿时间。同时, 将混合物常温条件贮存 7 d 后用稀释涂布平板法计算混合物中枯草芽孢杆菌的芽孢含量。

1.3.2 分散剂的筛选 以阿拉伯树胶、聚乙烯醇 (Polyvinyl alcohol, PVA) 及 PEG-8000 为待测分散剂, 使菌粉中各分散剂的质量分数分别为 3%、5% 和 7%, 每个处理 3 个重复, 并设置未添加分散剂的空白对照。经过微型粉碎机粉碎后收集混合物, 参照《农药可湿性粉剂润湿性测定方法 (GB/T 5451—2001)》^[15], 测定不同分散剂混合物的悬浮率。同时, 将混合物常温条件贮存 7 d 后用稀释涂布平板法计算混合物中枯草芽孢杆菌的芽孢含量。

1.3.3 稳定剂的筛选 以磷酸钾、碳酸钙、磷酸氢二钾及羧甲基纤维素钠为待测稳定剂, 添加质量分数为 4%, 每个处理 3 个重复, 并设置未添加稳定剂的空白对照。将配置好的混合物置于 50 ℃ 电热鼓风干燥箱中, 每隔 7 d 取样测定不同处理条件下混合物的芽孢含量。

1.3.4 紫外保护剂的筛选 向待测混合粉剂中分别加入质量分数为 0.5% 和 1.0% 的抗坏血酸 (VC) 或糊精为紫外照射保护剂, 并将菌剂稀释涂布于平板中, 置于 15 W 紫外灯下, 照射距离为 40 cm, 照射 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、4.0、6.0、8.0 和 10.0 h 后, 将平板置于 35 ℃ 接种培养箱培养 18.0 h, 记录芽孢杆菌的菌落数量。

1.4 菌剂质量检测

BSF01 菌剂的质量检测参照《农用微生物菌剂 (GB 20287—2006)》标准^[16]。将 1 g 菌粉添加至装有 10~20 颗玻璃珠及 100 mL 无菌水的三角瓶中, 置于 35 ℃、150 r·min⁻¹ 摇床中震荡培养 30 min 后, 将菌液进行梯度稀释, 取稀释菌液 100 mL 均匀涂布于培养基平板, 并置于 35 ℃ 培养箱中培养 15~18 h, 记录平板菌落数, 计算菌粉芽孢含量。

在初始质量浓度为 50 mg·L⁻¹ 的 β -CP 培养液中, 分别添加稀释了 100、1 000 和 2 000 倍的 BSF01 菌剂, 每个处理设置 3 个重复, 记录各处理芽孢含量, 并以未添加菌剂的 β -CP 培养液为空白对照, 处理 1、3、5 和 7 d 后, 通过高效液相色谱法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 分析检测 β -CP 的质量浓度, 并计算降解率。

1.5 β -CP 的 HPLC 分析检测

分别配制 0.1、0.5、1.0、2.0 和 5.0 mg·L⁻¹ 的工作标准液, 经 HPLC 测定^[3], β -CP 的标准曲线符合方程 $y=153.78+7.263\ 8x$, 相关性好 ($R^2=0.999\ 9$), 满足

液相色谱分析要求。土壤样品取自华南农业大学教学农场, 过筛处理后, 土壤空白样品中分别添加 β -CP 标准溶液至 0.1、0.5 和 1.0 mg·kg⁻¹, 每个处理设 5 个重复, 以不添加 β -CP 标准溶液作为空白对照, 混匀静置 30 min 后进行提取和净化^[17-18], 通过 HPLC 测定, 其回收率为 82.5%~105.2%, 相对标准偏差为 3.8%~6.1%, 方法准确可信, 满足农药残留检测要求。

1.6 菌剂对高效氯氰菊酯的降解试验

从华南农业大学教学实习农场取回菜地用土 (未经烘烤、灭菌), 用于室内模拟试验。按喷雾量 0.075 L·m⁻² 喷施 36 mg·L⁻¹ β -CP 悬浮剂。48 h 后, 将制备菌剂兑水稀释 100、1 000 和 2 000 倍, 按 0.075 L·m⁻² 用量喷雾, 以喷施等量清水为空白对照, 每个处理设 3 个重复。菌剂施用 2 h 后检测土壤中 β -CP 的原始沉积量, 5 d 后按“5 点取样法”分析检测 β -CP 残留量, 并计算降解率和相对降解率。

$$\text{降解率} = (1 - w_T/w_0) \times 100\%,$$

式中, w_T 为处理 5 d 后的残留量, w_0 为原始沉积量。

$$\text{相对降解率} = (1 - w_T/w_{CK}) \times 100\%,$$

式中, w_T 和 w_{CK} 分别为菌剂和空白对照处理 5 d 后土壤中 β -CP 残留量。

2 结果与分析

2.1 润湿剂的筛选

加入润湿剂之后, 复合菌粉的润湿时间明显缩短 (表 1)。以 SDS 为润湿剂的菌粉润湿时间最短, 当添加质量分数为 3%、5% 和 7% 时, 润湿时间分别为 11.2、9.6 和 9.0 s; 以洗衣粉为润湿剂的润湿时间次之, 在添加质量分数为 5% 和 7% 时, 用时分别为 10.4 和 10.6 s; 以 SDBS 为润湿剂时, 耗时较长, 与对照组相当, 需要 30.0 s 以上。比较各润湿剂处理菌粉的芽孢含量, 以 SDBS 为润湿剂时芽孢含量最高, 其中, 添加质量分数为 5% 的 SDBS 后, 菌剂芽孢含量达到 4.8×10^{13} cfu·g⁻¹, 与洗衣粉或 SDS 处理组均存在显著差异 ($P<0.05$)。由于芽孢含量是衡量菌剂质量的重要指标, 且其润湿时间 (31.2 s) 足以满足实际运用需要, 因此, 选择质量分数为 5% 的 SDBS 作为 BSF01 菌剂的润湿剂。

2.2 分散剂的筛选

以阿拉伯树胶为分散剂的菌剂悬浮率最高 (表 2), 当添加质量分数为 7% 时, 悬浮率可高达 77%; 以 PEG-8000 或 PVA 为分散剂, 菌剂悬浮率

表 1 添加不同种类及质量分数润湿剂后 BSF01 菌剂的润湿时间和芽孢含量¹⁾

Tab. 1 The wetting time and spore intensity of strain BSF01 agent with different types and contents of wetting agents

润湿剂	<i>t</i> _{润湿} /s			芽孢含量/(×10 ¹³ cfu·g ⁻¹)		
	3%	5%	7%	3%	5%	7%
SDBS	32.0±1.2a	31.2±1.1a	30.4±0.6a	3.3±0.3a	4.8±0.4a	4.4±0.8a
洗衣粉	16.8±1.6b	10.4±0.9b	10.6±1.1b	2.8±0.1a	2.3±0.5b	1.9±0.2b
SDS	11.2±0.5c	9.6±1.2b	9.0±0.8b	1.6±0.1b	1.3±0.2c	1.2±0.1c
对照	32.6±0.2a	32.6±0.2a	32.6±0.2a	1.3±0.2b	1.3±0.2c	1.3±0.2c

1)表中数据为3次重复的平均值±标准误, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)

表 2 添加不同种类及质量分数分散剂后 BSF01 菌剂的悬浮率和芽孢含量¹⁾

Tab. 2 The suspending rate and spore intensity of strain BSF01 agent with different types and contents of dispersants

分散剂	悬浮率/%			芽孢含量/(×10 ¹² cfu·g ⁻¹)		
	3%	5%	7%	3%	5%	7%
PEG-8000	49.0±3.6b	58.0±4.0b	59.0±3.3b	8.3±0.7a	8.0±0.6a	7.7±0.4a
阿拉伯树胶	65.0±5.2a	67.0±2.6a	77.0±4.1a	9.7±0.5a	10.0±0.6a	8.0±0.9a
PVA	46.0±4.1b	52.0±2.2b	56.0±3.5b	0.4±0.1b	0.5±0.1b	0.6±0.2b

1)表中数据为3次重复的平均值±标准误, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)

均低于 60%, 与阿拉伯树胶存在显著差异。同时, 以阿拉伯树胶为分散剂的菌剂芽孢含量最高, 当其添加质量分数为 3%、5% 和 7% 时, 芽孢含量分别达到 9.7×10^{12} 、 10.0×10^{12} 和 8.0×10^{12} cfu·g⁻¹, 因此综合考虑以不同分散剂处理的菌剂悬浮率及芽孢含量, 选择以质量分数为 7% 的阿拉伯树胶为 BSF01 菌剂的分散剂。

2.3 稳定剂的筛选

从图 1 中可以看出, 在加入不同稳定剂后, 各处理芽孢含量均随着时间延长而减少, 最终趋于稳定。其中, 以碳酸钙, 磷酸氢二钾和羧甲基纤维素钠为稳定剂的菌粉复合物芽孢含量与对照组差异不大。当磷酸钾作为稳定剂时, 芽孢含量明显高于其他处理, 混合处理 28 d 后, 芽孢含量达 6.0×10^{12} cfu·g⁻¹,

因此, 在菌粉中添加质量分数为 4% 的磷酸钾作为稳定剂。

2.4 紫外保护剂的筛选

由图 2 可知, 紫外照射 2 h 内, 各处理中芽孢含量普遍上升后下降, 推测紫外辐射能激发枯草芽孢杆菌 BSF01 的紫外抗性。继续进行辐照 10 h, 各处理中芽孢含量均缓慢下降, 其中, 以质量分数为 1.0% 的糊精为紫外保护剂的菌剂芽孢含量高达 30.5×10^{11} cfu·g⁻¹, 显著高于其他处理组。因此, 选择以质量分数为 1.0% 的糊精为 BSF01 菌剂的紫外保护剂。

2.5 BSF01 菌剂质量检测

通过配方筛选, 确定了 BSF01 菌剂配方以及各组质量分数: 以 30% 菌粉为主体, 添加 5%SDBS 为润湿剂, 7% 阿拉伯树胶粉为分散剂, 4% 磷酸钾

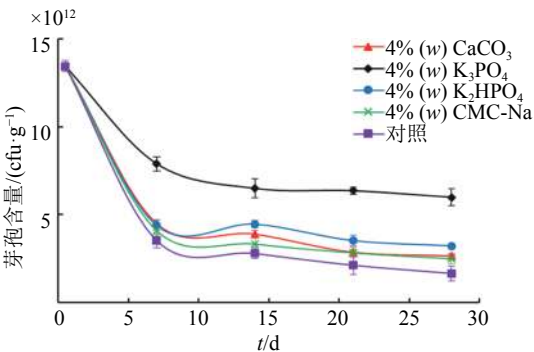


图 1 添加不同稳定剂后 BSF01 菌剂的芽孢含量
Fig. 1 The spore intensity of strain BSF01 agent with different stabilizers

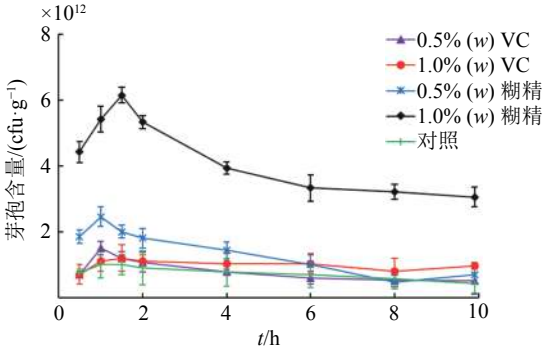


图 2 添加不同紫外保护剂后 BSF01 菌剂的芽孢含量
Fig. 2 The spore intensity of strain BSF01 agent with different UV protectants

为稳定剂及 1% 糊精为紫外保护剂, 并加入载体高岭土补足 100%。根据《农用微生物菌剂 (GB 20287—2006)》检测标准, 检测了 BSF01 菌剂的主要质量指标, 结果表明, 菌剂芽孢含量为 6.50×10^{11} cfu·g⁻¹, 含水量 (w) ≤ 0.6%, 细度 ≥ 99%, 润湿时间为 32.0 s, 悬浮率达到 78.0%, 各项指标均符合国家标准。将 BSF01 菌剂稀释 100、1 000 及 2 000 倍后, 芽孢含量为 $1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^{10}$ cfu·g⁻¹, 将稀释菌剂投入初始质量浓度为 50 mg·L⁻¹ 的 β -CP 溶液中, 培养处理后 7 d 后, 各处理中 β -CP 残留均大幅降低 (图 3), 其中, 以 100 及 1 000 倍菌剂稀释液处理 5 d 后, β -CP 的残留质量浓度不足 5 mg·L⁻¹, 降解率达到 90% 以上, 说明该菌剂对 β -CP 残留表现出显著的消解效果。

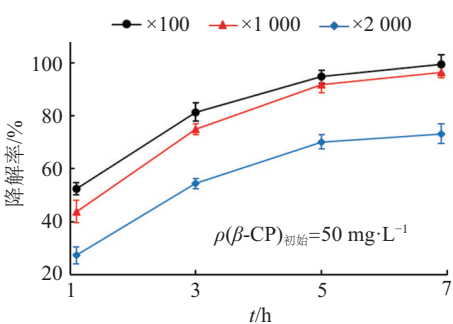


图 3 不同稀释倍数的 BSF01 菌剂对 β -CP 的降解效果
Fig. 3 The degradation of β -CP by strain BSF01 agent with different dilution

2.6 BSF01 菌剂对土壤 β -CP 的降解效果

在室内模拟条件下, 将 36 mg·kg⁻¹ β -CP 施用土壤 2 d 后, 喷施 BSF01 菌剂 100、1 000 和 2 000 倍稀释液, 经 HPLC 分析, 各处理中 β -CP 原始沉积量分别为 5.71、6.13 和 8.71 mg·kg⁻¹。5 d 后取样检测, 土壤中 β -CP 残留量分别为 0.03、0.11 和 0.21 mg·kg⁻¹, 降解率达到 99.47%、98.37% 和 97.70%, 降解效果显著 (图 4)。相较于 5 d 后空白对照的残留量

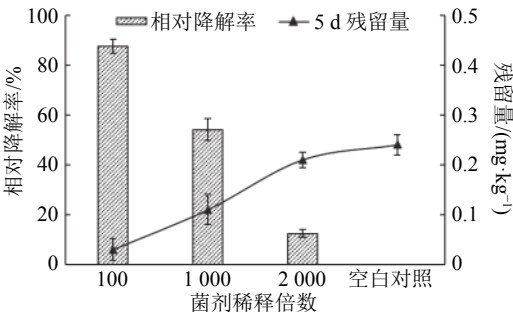


图 4 BSF01 菌剂对土壤 β -CP 残留的降解效果
Fig. 4 The degradation of β -CP residue in soil by strain BSF01 agent

(0.24 mg·kg⁻¹), 各稀释菌剂处理间差异明显, 相对降解率分别为 87.50%、58.33% 和 16.67%, 表明该菌剂对土壤中 β -CP 具有快速、高效的降解效果, 且降解能力与菌剂的使用剂量相关, 具有进一步优化应用潜力。

3 讨论与结论

随着有机氯、有机磷等高毒农药的禁用, 高效低毒广谱的拟除虫菊酯类农药在农业生产中得以广泛使用。然而, 一味追求产量及防效的传统耕作理念使得不规范、不科学、不合理施用农药的现象普遍存在, 导致了日益严重的农药残留污染问题, 对作物生长安全、农产品安全、生态环境安全造成了极大威胁, 已成为科研工作者亟待解决的具有重要经济和社会意义的重大问题。利用微生物对外源污染物的代谢作用, 有效降低或消除环境中农药残留污染已成为现代农业科学的研究热点^[19]。微生物制剂中的助剂性质决定着菌剂的各项初始理化性质^[17, 20-21], 因此, 本研究通过单因素试验法, 对 β -CP 降解菌剂的助剂成分进行筛选及优化, 确保制剂有效成分的生物活性, 得到了枯草芽孢杆菌 BSF01 菌剂的最佳配方以及各组分质量分数: 以 30% BSF01 菌粉为主体, 添加 5% SDBS, 7% 阿拉伯树胶, 4% 磷酸钾, 1% 糊精, 并添加高岭土补足 100%。经检验, 该配方制备的菌剂芽孢含量为 6.50×10^{11} cfu·g⁻¹, 含水量 (w) ≤ 0.6%, 细度 ≥ 99%, 润湿时间为 32.0 s, 悬浮率达到 78.0%, 各项指标均符合国家标准。

降解菌剂对环境中农药残留蓄积污染的修复是微生物制剂研发的最终目标^[18, 22]。本研究通过室内模拟试验, 将 BSF01 菌剂投入受 β -CP 残留污染的土壤中, 可在短期内有效降低 β -CP 残留水平, 初步验证了该菌剂的田间适用性。值得注意的是, 实际田间环境中存在多种可能影响菌剂降解效果的因素, 今后需明确各因素的潜在影响, 并通过优化配方、改良施用方式等途径, 保障 BSF01 菌剂的实际运用效果。另外, 供试降解菌剂对 β -CP 残留的降解效果, 主要与该菌剂的稀释倍数相关。试验中, 当菌剂稀释倍数为 100 倍时, 可迅速降低土壤中 β -CP 残留含量, 相对降解率达到 87.50%, 高于该菌剂的 1 000 倍及 2 000 倍稀释液。因此, 今后仍需深入研究降解效率与稀释倍数之间的关系, 并从残留污染水平及使用方式等方面指导该菌剂的实践使用。本研究结果表明, β -CP 降解菌株 BSF01 菌剂制备方法简便、性质稳定、实践应用效果良好, 具有产业化运用的前景, 值得进一步研究开发。然而, 本研究仅

测定了供试菌剂对 β -CP 的降解效果, 对于其他菊酯类农药残留污染的降解效果仍有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] KOLACZINSKI J H, CURTIS C F. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: A review of the debate[J]. Food Chem Toxicol, 2004, 42(5): 697-706.

[2] CASIDA J E. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides[J]. Environ Health Persp, 1980, 34: 189-202.

[3] XIAO Y, CHEN S, GAO Y, et al. Isolation of a novel beta-cypermethrin degrading strain *Bacillus subtilis* BSF01 and its biodegradation pathway[J]. Appl Microbiol Biot, 2015, 99(6): 2849-2859.

[4] FIELD L M, EMYR DAVIES T G, O'REILLY A O, et al. Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides[J]. Eur Biophys J, 2017, 46(7): 675-679.

[5] HANSEN M R H, J R S E, LANDER F, et al. Neurological deficits after long-term pyrethroid exposure[J]. Environ Health Insights, 2017. doi: 10.1177/1178630217700628.

[6] JOHNSTONE A F M, STRICKLAND J D, CROFTON K M, et al. Effects of an environmentally relevant mixture of pyrethroid insecticides on spontaneous activity in primary cortical networks on microelectrode arrays[J]. Neurotoxicology, 2017, 60: 234-239.

[7] CORCELLAS C, ELJARRAT E, BARCEL D. First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: A case study in Iberian river basins (Spain)[J]. Environ Int, 2015, 75: 110-116.

[8] MUGGELBERG L L, HUFF HARTZ K E, NUTILE S A, et al. Do pyrethroid-resistant *Hyalella azteca* have greater bioaccumulation potential compared to non-resistant populations? Implications for bioaccumulation in fish[J]. Environ Pollut, 2017, 220(Pt A): 375-382.

[9] HUGHES M F, ROSS D G, STARR J M, et al. Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat[J]. Toxicology, 2016, 359/360: 19-28.

[10] AZNAR-ALEMANY Ò, ELJARRAT E, BARCEL D. Effect of pyrethroid treatment against sea lice in salmon farming regarding consumers' health[J]. Food Chem Toxicol, 2017, 105: 347-354.

[11] CYCÓN M, PIOTROWSKA-SEGET Z. Pyrethroid-degrading microorganisms and their potential for the bioremediation of contaminated soils: A review[J]. Front Microbiol, 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01463.

[12] TRAN N H, URASE T, NGO H H, et al. Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants[J]. Bioresource Technol, 2013, 146(10): 721-731.

[13] CYCÓN M, MROZIK A, PIOTROWSKA-SEGET Z. Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review[J]. Chemosphere, 2017, 172: 52-71.

[14] XIAO Z J, LIU P H, QIN J Y, et al. Statistical optimization of medium components for enhanced acetoin production from molasses and soybean meal hydrolysate[J]. Appl Microbiol Biot, 2007, 74(1): 61-68.

[15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 农药可湿性粉剂润湿性测定方法: GB/T 5451—2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.

[16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 农用微生物菌剂: GB 20287—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[17] LIU J, HUANG W, HAN H, et al. Characterization of cell-free extracts from fenpropathrin-degrading strain *Bacillus cereus* ZH-3 and its potential for bioremediation of pyrethroid-contaminated soils[J]. Sci Total Environ, 2015, 523: 50-58.

[18] CHEN S, CHANG C, DENG Y, et al. Fenpropathrin biodegradation pathway in *Bacillus* sp. DG-02 and its potential for bioremediation of pyrethroid-contaminated soils[J]. J Agr Food Chem, 2014, 62(10): 2147-2157.

[19] FERNANDEZ-FONTAINE E, PINHO I, CARBALLA M, et al. Biodegradation kinetic constants and sorption coefficients of micropollutants in membrane bioreactors[J]. Biodegradation, 2013, 24(2): 165-177.

[20] DUAN H, KOE L C C, YAN R, et al. Biological treatment of H₂S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter[J]. Water Res, 2006, 40(14): 2629-2636.

[21] ZHU S M, DENG Y L, RUAN Y J, et al. Biological denitrification using poly(butylene succinate) as carbon source and biofilm carrier for recirculating aquaculture system effluent treatment[J]. Bioresource Technol, 2015, 192: 603-610.

[22] WEN D, ZHANG J, XIONG R, et al. Bioaugmentation with a pyridine-degrading bacterium in a membrane bioreactor treating pharmaceutical wastewater[J]. J Environ Sci, 2013, 25(11): 2265-2271.

【责任编辑 庄 延】