

氰氟草酯在池塘水中的生物降解

朱国念¹, 赵 莉²

(1. 浙江大学农药与环境毒理研究所, 浙江 杭州 310029; 2. 上海市农药检定所, 上海 201103;)

摘 要:采用室内培养实验方法,研究了氰氟草酯在池塘水中的生物降解。结果表明,水中微生物可有效地促进氰氟草酯的降解,氰氟草酯对池塘水中某些细菌的生长有一定刺激作用,对放线菌和真菌的生长影响不明显。利用选择性培养基,对不同种类细菌进一步培养和鉴定发现,氰氟草酯在池水中的降解微生物主要是假单胞菌和葡萄球菌,代谢机制可能以生长代谢为主。

关键词:氰氟草酯; 生物降解

中图分类号:X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1000 - 0267(2002)02 - 0154 - 03

Microbial Degradation of Cyhalofop – Butyl in Pond Water

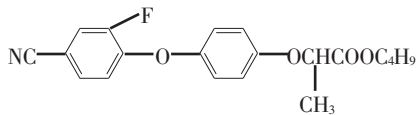
ZHU Guo-nian¹, ZHAO Li²

(1. Zhejiang University, Hangzhou 310029, P. R. China; 2. The Institute for the Control of Agrochemical, Shanghai 201103, P. R. China)

Abstract: Microbial degradation of cyhalofop – butyl in pond water is investigated in the present study. The results showed that degradation of cyhalofop – butyl in pond water was very rapid, while the degradation of cyhalofop – butyl in sterile pond water was slightly slower than that in non – sterile. An increase of temperature could promote cyhalofop – butyl degradation. In addition, cyhalofop – butyl affected total number of microbes. This study also showed that total number of bacteria increased with the decrease of cyhalofop – butyl residue in non – sterile water, but neither fungi nor actinomycetes exhibited change significantly. Main vivid microbes were Pseudomonas and Staphylococcus, respectively. It may be concluded that microbial degradation is a dominated factor for metabolism of cyhalofop – butyl in paddy rice ecosystem.

Keywords: cyhalofop – butyl; microbial degradation

氰氟草酯 (cyhalofop – butyl) 是由美国陶氏公司 (DowElanw Co. Ltd) 新开发的芳氧苯氧羧酸酯类除草剂,商品名千金 (Clincher),代号为 XDE – 537,化学名称: (R) – 2 – [4(4 – 氰基 – 2 – 氟苯氧基) 苯氧基] – 丙酸丁酯,化学结构式为:



该药剂为选择性芽后除草剂,能有效地防除稻田稗草、千金子等禾本科杂草,对水稻安全。目前氰氟草酯在我国已临时登记,但关于该药剂在环境中的生物降解作用,国内外尚未见报道。为此,本文研究了氰氟草酯在池塘水中的微生物降解以及它对微生物生长的影响,这对评价该药剂的环境安全性以及寻找控制

该农药污染的途径提供了科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

液相色谱仪 (HP1100G, DAD 检测器), 色谱柱固定相为 YWG – C₁₈, 10 μ , 柱长 250 mm $\times$ ϕ 4.6 mm 液相色谱工作站, 旋转蒸发器 (ZFQ 85A 型), 超净工作台, 高压灭菌锅等。

农药标准品: 氰氟草酯 ($\geq 99.5\%$)、ACID (99.7%) 由美国陶氏公司提供。

二氯甲烷 (分析纯经二次重蒸)、甲醇、乙腈 (色谱纯)、磷酸。

平板计数琼脂: 胰蛋白胨 5 g、酵母浸膏 2.5 g、葡萄糖 10 g、琼脂 13 g、蒸馏水 1000 mL, 调节 pH 至 6.9—7.1; 高氏 1 号培养基: 可溶性淀粉 20 g、NaCl 0.5 g、KNO₃ 1 g、FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g、K₂HPO₄ 0.5 g、

MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g、重铬酸钾 50.0 mg、琼脂 20 g、蒸馏水 1 000 mL,调节 pH 至 7.2—7.4;马丁氏(Martin)培养基:大豆胨 5 g、葡萄糖 10 g、K₂HPO₄1 g、MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g、琼脂 13 g、孟加拉红(1%)3.3 mL、链霉素 30.0 mg、水 1 000 mL、pH7.0—7.4;锰营养琼脂:胰蛋白胨 5 g、葡萄糖 5 g、酵母浸膏 5 g、磷酸氢二钾 4 g、3.08% 硫酸锰水溶液(MnSO₄ · H₂O)1 mL、琼脂约 13 g、水 1 000 mL;乙酰胺培养基、麦康凯琼脂、TCBS、中国蓝琼脂均来自杭州天和微生物试剂公司。

1.2 试验方法

1.2.1 供试水样的准备

试验用水取自浙江大学华家池池塘,水样经抽滤后去掉残叶等杂物备用,灭菌处理水样系用高压灭菌锅在 0.11MPa 压力(121℃)下湿热法灭菌 1 h,然后在恒温培养箱中培养 1 d,次日再行灭菌,供试。

1.2.2 氰氟草酯在池塘水中的降解试验设计

取 2 500 mL 棕色广口瓶,分别加入一定量的经灭菌和不灭菌的池塘水,然后吸取 2 mL 浓度为 1.0 g · L⁻¹ 的氰氟草酯标准母液,加入其中,摇匀,再稀释至 1 000 mL 使其浓度为 2.0 mg · L⁻¹,每处理重复 3 次,另设空白对照组,分别置入 25℃ 和 35℃ 恒温培养箱中进行微生物降解试验(避光)。于加药后 0、6、12、24、30、36、72、120 h 分别定期取样,检测氰氟草酯及其水解产物 ACID(一酸)的残留量,同时测定 pH 值。灭菌试验操作在超净工作台上进行。

1.2.3 微生物的培养和检验方法

采用平板菌落计数法来计量池塘水中所含微生物的数量。将试验用池水样品配制成一系列不同浓度的稀释液,取一定稀释度的稀释液 0.5 mL 接种至培养皿中,然后将无菌的平板计数琼脂(细菌)、高氏 1 号培养基(放线菌)和马丁氏培养基(真菌)、乙酰胺培养基(假单胞菌)、麦康凯琼脂(埃希氏菌属)、TCBS(弧菌属)、锰营养琼脂(芽孢杆菌属)、中国蓝琼脂(葡萄球菌、链球菌、沙门氏菌、变形杆菌)分别倒入培养皿中,摇匀使样品溶液均匀分布于培养皿内的培养基内。经培养(细菌 35℃ /2 d、放线菌 28℃ /7—14 d、真菌 28℃ /5—7 d、假单胞菌 35℃ /18 h、埃希氏菌属 35℃ /1 d、弧菌属 35℃ /1 d、芽孢杆菌属 35℃ /3 d、葡萄球菌、链球菌、沙门氏菌、变形杆菌 35℃ /18 h)后,分别镜检记录菌落数目,并计算样品中微生物种群的数量。

1.2.4 氰氟草酯及 ACID 的提取与检测

将定期取出的样品溶液转至 250 mL 分液漏斗

中,用 1 mol · L⁻¹ 的盐酸将溶液 pH 调至 3,再用 3 × 30 mL 二氯甲烷液-液分配,浓缩,用 5 mL 甲醇定容,待测。

HPLC 检测条件: 流动相为甲醇 100%, 流速 0.9 mL · min⁻¹, 检测波长 248 nm, 进样量 20 μL, 按外标法峰面积定量, 氰氟草酯的保留时间为 4.3 min, ACID 的保留时间为 3.9 min。

2 结果与讨论

2.1 氰氟草酯在池塘水中的降解

氰氟草酯在池塘水中的生物降解试验结果见表 1 和图 1 所示。从结果可以看出, 氰氟草酯在灭菌和未灭菌处理的池塘水中降解均较快, 但与灭菌处理组的降解速度相比, 未灭菌处理组降解速率要快 2.38 (25℃) —2.64 倍(35℃)。温度升高 10℃ (25—35℃), 加速氰氟草酯的降解, 灭菌处理组的温度效应系数为 1.93, 未灭菌处理组的温度效应系数为 2.14。

表 1 氰氟草酯在池塘水中的降解动力学参数

Table 1 Kinetic parameters for degradation of Cyhalofop - butyl in pond water

处理	降解动力学方程		降解速率常数	半衰期
	$C_t = C_0 \cdot e^{-k \cdot t}$	r	(K)	$T_{1/2} (h)$
灭菌	25℃ $C_t = 3.183 1e^{-0.0365 t}$	0.963 0	0.036 5	19.0
	35℃ $C_t = 3.422 8e^{-0.0704 t}$	0.971 4	0.070 4	9.8
未灭菌	25℃ $C_t = 2.532 8e^{-0.0867 t}$	0.977 8	0.086 7	8.0
	35℃ $C_t = 2.113 7e^{-0.1858 t}$	0.999 7	0.185 8	3.7

图 1 氰氟草酯在池塘水中的降解动态

Figure 1 Degradation dynamics of Cyhalofop - butyl in pond water

2.2 氰氟草酯的降解产物 ACID 在池塘水中的含量变化

氰氟草酯的降解产物 ACID 在池塘水中的含量变化见图 2。结果显示, 无论是在灭菌还是未灭菌处理的试验样品中, 随着氰氟草酯残留量逐渐减少, 代谢产物 ACID 的量随之逐渐上升, 整个试验过程中未检测到有其它代谢产物, 这说明氰氟草酯在池塘水中生物降解后的主要代谢产物是 ACID(一酸)。

图 2 氰氟草酸在池塘水中的检出量

Figure 2 Determination of Cyhalofop – acid in pond water

2.3 氰氟草酯对水中微生物种群生长的影响

氰氟草酯对池塘水中微生物生长影响的试验结果见表 2。从结果可以看出,第 36 d 时,药剂处理组细菌菌落数比开始增加 4.3 倍,而对照组(CK₁)仅增加 2 倍,放线菌和真菌均显著减少,且与对照组相比无明显差异。这说明氰氟草酯对池塘水中细菌总数的生长似乎有一定的刺激作用,而对放线菌和真菌的生长影响不明显。

表 2 氰氟草酯对池塘水中微生物和不同种属细菌生长的影响

Table 2 Effects of Cyhalofop – butyl on growth of different bacteria in the pond

间隔时 间/d	农药残留 量/mg · L ⁻¹	微生物种群数量/菌落个数 · mL ⁻¹ 池水															
		CK ₁	细菌	CK ₂	放线菌	CK ₃	真菌	CK ₄	假单胞菌	CK ₅	埃希氏菌	CK ₆	弧菌属	CK ₇	芽孢杆菌	CK ₈	葡萄球菌
		(× 10 ⁴)	(× 10 ⁴)	(× 10 ³)	(× 10 ³)	(× 10)	(× 10)	(× 10)	(× 10)			(× 10)	(× 10)	(× 10 ²)	(× 10 ²)	(× 10)	(× 10)
0	1.99	0.62	2.5	1.06	1.0	1.4	1.6	2.6	40	4.0	8.0	1.8	1.4	1.16	1.14	1.0	1.2
6	1.53	0.82	3.9	0.5	0.62	0.6	1.0	0.4	96	4.0	14.0	1.2	0.6	0.58	0.8	0.4	1.4
12	1.04	0.96	9.6	0.42	0.7	0.2	0.2	0.2	60	6.0	10.0	0.6	2.8	3.0	2.0	8.64	86
24	0.43	1.32	10.0	0.22	0.14	0.2	0.4	0.2	240	4.0	6.0	11.2	24.6	2.0	0.9	12.8	152
30	0.22	1.76	12.6	0.62	0.8	0.2	0.2	0.2	900	4.0	10.0	9.2	15.4	1.0	0.8	18.4	160
36	0.076	1.91	13.4	0.57	0.66	0.2	0.2	0.2	1 000	4.0	12.0	8.6	13.8	0.86	0.64	20.6	186
第 36 d																	
菌落增 减倍数		+2	+4.3	-1.8	-1.5	-7	-8	-13	+24	0	+0.5	+3.8	+8.8	-1.3	-1.8	+19.6	+154

刺激作用,而对放线菌和真菌的生长影响不明显; 氰氟草酯在池塘水中的降解微生物主要是假单胞菌和葡萄球菌。

参考文献:

[1]施国涵. 土壤微生物对灭幼脉 3 号代谢作用的研究[J]. 环境科学学报,1990,**10**(3):296.

[2]张宗炳. 杀虫剂的环境毒理学[M]. 北京:农业出版社,1989. 103 – 129.

[3]郭敦成. 农药毒理及应用[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,1987. 149 – 156.

[4]郑重. 农药的微生物降解[J]. 环境科学, 1992,**11**(2): 68 – 72.

表 2 还表明了氰氟草酯对池塘水中不同种类细菌生长的影响,经初步分类鉴定,在对照处理组,芽孢杆菌属(*Bacillus*) 较多,其他种类较少;在农药处理组中,第 36 d 假单胞菌(*Pseudomonas*) 和葡萄球菌(*Staphylococcus*) 菌落数比试验开始时明显增加,说明氰氟草酯对假单胞菌和葡萄球菌的生长有一定的刺激作用,而对埃希氏菌(*Escherichia*)、弧菌属(*Vibrio*)、芽孢杆菌属真菌的生长与对照组相比却无明显差异。初步试验结果表明,氰氟草酯在池塘水中的降解微生物主要是假单胞菌、葡萄球菌。

3 结论

- (1)池塘水中的微生物对氰氟草酯的降解有显著影响。
- (2)氰氟草酯在池塘水中生物降解后的主要代谢产物是 ACID(一酸)。
- (3)氰氟草酯对池塘水中某些细菌的生长有一定

[5]冯化成译. 土壤细菌和农药分解[J]. 农药译丛,1994,**16**(4):47 – 50.

[6]薛琦摘译. 土壤微生物和农药[J]. 农药译丛,1994,**16**(4):51 – 54.

[7]虞云龙,等. 农药微生物降解的研究现状与发展策略[J]. 环境科学进展,1996,**4**(3):28 – 36.

[8]崔中利,等. 化学农药的微生物降解及其机制[J]. 江苏环境科技, 1998,3:1 – 4.

[9]戴树桂. 环境化学[M]. 北京:高等教育出版社,1997. 177 – 179.

[10]虞云龙,等. 杀灭菊酯的微生物降解及酶促降解[J]. 环境科学, 1997,**18**(2):5 – 8.

[11]王保军,等. 单甲脒农药的微生物降解代谢研究[J]. 环境科学学报,1998,**18**(3):296 – 302.