

海水养殖环境中拟除虫菊酯类农药降解菌的 分离鉴定及降解特性研究*

孙爱丽 刘菁华 史西志 张蓉蓉 肖婷婷 李德祥 陈炯 唐道军

(宁波大学海洋学院 应用海洋生物技术教育部重点实验室 宁波 315211)

提要 从近岸海水养殖环境中分离获得一株能高效降解氯氰菊酯(Cypermethrin, CYP)和溴氰菊酯(Deltamethrin, DEL)的菌株 HS-10, 经生理生化和 16S rDNA 分析, 初步鉴定其为假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.)。不同降解条件下的实验结果表明, 菌株 HS-10 在 pH 7.0、温度 28°C 的环境中具有较好的生长和降解效率, 在该条件下, 对初始浓度为 100mg/L 的 CYP 和 DEL 的降解效率分别为 75.6%和 90.9%。进一步采用发光细菌和核磁共振(NMR)方法对菌株 HS-10 的降解产物进行分析, 结果表明, CYP 和 DEL 主要通过微生物降解消除, 其降解产物的毒性显著降低。同时, 考察了菌株 HS-10 对氯氰菊酯、溴氰菊酯、联苯菊酯(BIF)、氟氯菊酯(CYF)和氰戊菊酯(FEN)5 种拟除虫菊酯类农药(浓度分别为 100mg/L)的降解效率, 结果表明, 对 5 种农药的降解率均达到 50%以上, 本研究获得的菌株 HS-10 可用于海水养殖环境中拟除虫菊酯类农药残留污染的生物修复。

关键词 拟除虫菊酯类农药; 降解菌; 海水养殖环境

中图分类号 X511 doi: 10.11693/hyhz20131100175

拟除虫菊酯类农药是一类高效广谱农药, 经常用于渔业生产上杀灭寄生虫和敌害生物, 但由于没有指导性用量及养殖户缺乏科学理论知识, 在清塘时使用违禁、不规范、盲目大量使用药物的现象普遍存在, 导致近海海域水环境和沉积物中农药残留污染(王帅等, 2013)。目前, 越来越多的研究表明, 该类农药对人类等非靶标生物产生相当大的威胁, 具有内分泌干扰、免疫和神经毒性等多种潜在毒性, 对鱼、贝和甲壳类等水生生物毒性较大, 尤其是存在于沉积物中的农药降解速度较慢。且该类农药属亲脂性农药, 易被水生生物富集, 对水体生态系统、水产品质量和人类健康产生严重影响(Almakkawy *et al.*, 1999; 于蓉蓉等, 2009; 魏华等, 2010)。因此, 为实现绿色健康养殖和保障人类健康, 以生物修复为理论基础的农药残留降解技术, 由于具有降解速度快、降解过程为自然过程的强化, 不会导致二次污染和污

染物的转移, 可使环境中的污染物减少到最小程度等优点(Li *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2010), 已引起了越来越广泛的关注, 成为当前的一个研究热点。

目前, 国内外已有不少学者对环境中拟除虫菊酯类农药残留的微生物降解进行了研究报道, Rangaswamy 等(1992)研究发现土壤中的某些细菌对氯氰菊酯和氰戊菊酯农药具有降解作用; 虞云龙等(1999)从农药厂的废水中分离得到一株光谱农药降解菌, 对氰戊菊酯、溴氰菊酯、甲基对硫磷和对硫磷等具有降解功效; Grant 等(2002)从使用拟除虫菊酯类农药的土壤中分离得到拟除虫菊酯类农药降解菌, 并对其生长限制因子进行了研究; Chen 等(2012)研究表明, 蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* ZH-3 和金色链霉菌 *Streptomyces aureus* HP-S-01 组成的复合菌群可充分利用氯氰菊酯, 降解较彻底。对于拟除虫菊酯类农药降解产物的研究也有少量报道, Stratton 等(1982)报道

*浙江省公益性技术应用研究计划项目, 2013C33091 号; 国家星火计划项目, 2013GA701025 号; 宁波大学学科基金, xkl11D2098 号, xkl11091 号。孙爱丽, 博士研究生, E-mail: sunaili@nbu.edu.cn

通讯作者: 陈炯, 研究员, 博士生导师, E-mail: jchen1975@163.com

收稿日期: 2013-11-07, 收修改稿日期: 2014-02-21

分离的降解菌降解产物通常比农药本体的毒性更小,但是 CYP 恰恰相反,其本体相对无毒,降解产物中有 2—5 种毒性更强; Lin 等(2011)报道分离的菌株——链霉菌 *Streptomyces* sp. HY-S-01 可通过水解酶的作用降解 CYP, 产生间苯氧基苯甲酸和二氯菊酸。总体来看,国内外对拟除虫菊酯类农药降解菌的研究主要集中在菌株的筛选、分离、鉴定及其降解特性方面,对近海水环境及沉积物中拟除虫菊酯类农药降解菌的筛选、降解机制等尚未有系统研究。本论文通过筛选、分离获得一株能高效降解拟除虫菊酯类农药的海洋降解菌 HS-10, 采用生理生化和 16S rDNA 的序列比对方法对其进行初步鉴定,并分别研究了 pH、温度和不同农药浓度对菌株 HS-10 降解特性的影响,进一步通过发光细菌和核磁共振(NMR)对菌株降解产物的毒性变化和成分进行了研究。本研究可为建立有效地去除海水养殖环境中拟除虫菊酯类农药残留的微生物修复技术,保护近海环境、治理养殖环境农药残留污染和保障食品安全提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

联苯菊酯(BIF)、氟氯氰菊酯(CYF)、氰氟菊酯(CYP)、氰戊菊酯(FEN)和溴氰菊酯(DEL)购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, 德国)。

营养培养基: 蛋白胨 5.0g, 磷酸高铁 0.01g, 酵母膏 1.0g, 过滤海水 1000mL, pH 7.6—7.8。

富集培养液: 在营养培养基中加入 CYP、DEL 乳液, 使 CYP、DEL 终浓度分别为 100mg/L。

仪器: GC-2010 型气相色谱仪(日本岛津), Microtox Model 500 毒性检测仪(美国 SDI), 核磁共振仪(Bruker NA 400, 德国)。

1.2 拟除虫菊酯类农药降解菌的分离、筛选

将 500mL 海水过滤、富集后的样品加入到 100mL 含有 CYP、DEL 各 100mg/L 的灭菌富集培养液中, 于 28°C、180r/min 摇床培养 7d 后, 按 10%接种量转移到含 2 种拟除虫菊酯类农药各 100mg/L 的富集培养液中, 继续培养 7d, 重复上述步骤连续富集培养 3 次, 取 0.1mL 培养液进行平板划线分离、纯化, 直到筛选得到单个菌落, 将其接种到试管斜面培养基上, 于 4°C 低温保存。

将分离得到的各个菌株制成菌悬液, 以相同接种量($OD_{600} = 0.2$)加入到 100mL 富集培养液中, 做 3 个平行试验, 28°C 摇床中 180r/min 培养 7d 后, 测定

拟除虫菊酯类农药的残留量, 以不接菌的培养液为对照, 采用式(1)计算农药的降解率。

$$\text{降解率}(\%) = [(W_0 - W_t) / W_0] \times 100 \quad (1)$$

式中, W_0 为空白对照中农药的含量; W_t 为接菌的培养液中农药的残留量。

1.3 菌种鉴定

利用常规方法进行革兰氏染色观察, 根据常用细菌鉴定手册对菌株进行生理生化试验(Bridge *et al.*, 1993), 通过扫描电子显微镜观察菌株 HS-10 的细胞形态。取对数生长期的新鲜菌液, 3000r/min 离心收集菌体, 提取基因组 DNA 作为扩增模板; 采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3')和 1541R (5'-ACGGCTACCTTGTTACGACT-3')(孙苏燕等, 2009)进行 PCR 扩增; PCR 反应条件: 94°C 预变性 2min; 循环扩增 35 次: 94°C 30s, 60°C 30s, 72°C 1min; 72°C 延伸 10min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳回收后, 双向测序, 通过 BLAST 进行同源性比较。

1.4 拟除虫菊酯类农药的检测

1.4.1 样品前处理 准确量取菌液 1.0mL, 加入 0.4g 氯化钠、4.0mL 正己烷/丙酮(1:1, V/V)混合液, 涡旋 1min, 3000r/min 离心 10min, 取上清液; 然后加入 2.0mL 正己烷/丙酮(1:1, V/V), 重新提取 1 次; 将获得的上清液加入 0.4g 无水硫酸钠, 涡旋混匀, 3000r/min 离心 5min, 取 3.0mL 上清液, 40°C 氮气吹干后, 加入 1.0mL 异辛烷/丙酮(9:1, V/V)溶解, 0.22 μ m 滤膜过滤后, GC-ECD 分析, 实验做 3 个平行。

1.4.2 色谱条件 SPB-5 石英弹性毛细管柱(30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m); ECD 检测器; 色谱柱温 150°C (5min), 40°C /min; 240°C (10min), 5°C/min; 260°C (3min); 检测器温度 320°C, 进样口温度 280°C, 进样量为 1.0 μ L, 柱流量 1.0mL/min; 分流比为 1:30; 载气为 N₂ (99.999%), 采用外标法计量。

1.5 降解条件的优化

培养温度: 培养温度分别为 20°C、28°C 和 35°C, 液体培养基(CYP 和 DEL 浓度为 100mg/L)初始 pH 为 7.6, 摇床转速 180r/min, 在此培养条件下, 测定菌株 HS-10 在 7d 后的降解率。

初始 pH: 液体培养基(CYP 和 DEL 的浓度为 100mg/L)的初始 pH 分别为 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0, 恒定温度 28°C, 摇床转速 180r/min, 测定菌株 HS-10 在 7d 后的降解率。

不同初始浓度: 液体培养基中 CYP 和 DEL 初始浓度分别为 100、200、400、600、800mg/L, 分别接

入处于对数生长期的菌液, 在温度 28°C、pH 7.0、摇床转速 180r/min 条件下培养, 测定菌株 HS-10 在 7d 后的降解率。

每个处理设置 3 个平行。

1.6 菌株降解产物分析

将菌株 HS-10 接种于含 100mg/L CYP 或 DEL 的液体培养基中, 于 28°C、180r/min 摇床培养 7d 后, 按“1.4.1 样品前处理”步骤提取降解产物后, 溶于 1.0mL 氘代丙酮(CD₃COCD₃)中, 以四甲基硅烷作为内标, 经 NMR 分析。

1.7 菌株降解产物毒性分析

将菌株 HS-10 接种于含 100mg/L CYP 或 DEL 的灭菌液体培养基中, 于 28°C、180r/min 摇床培养 7d 后, 取 2.0mL 菌液 3000r/min, 离心 10min, 取上清液通过 Microtox Model 500 Toxicity Analyzer System 进行毒性分析, 以不接菌的培养液为对照, 做 3 个平行实验, 采用式(2)计算发光抑制率。

$$\text{抑制率} = (1 - I_t / I_0) \times 100\% \quad (2)$$

式中, I_0 为初始发光强度; I_t 为样品发光强度。

2 结果

2.1 拟除虫菊酯类农药降解菌株 HS-10 的分离、筛选及特性分析

经分离、筛选获得 1 株具有高效 CYP 和 DEL 降解能力的菌株, 命名为 HS-10。生物学特性为: 革兰氏染色阴性(图 1), 为杆菌(图 2), 精氨酸双水解试验、赖氨酸脱羧酶试验、柠檬酸盐试验、鸟氨酸脱羧酶试验、尿素酶试验阳性, V-P 反应、H₂S 反应、明胶液化实验阴性, 可以利用蔗糖。在固体培养基上, 菌落圆形、凸起, 边缘完整, 呈灰白色, 半透明。

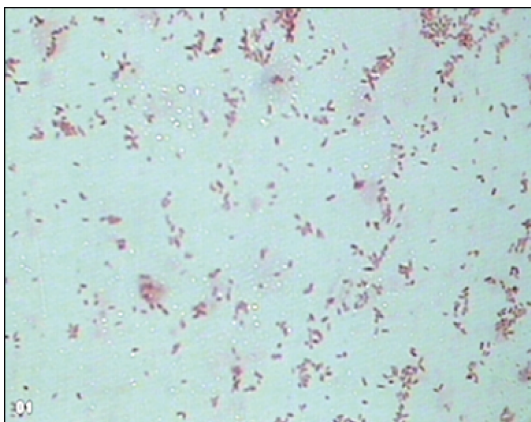


图 1 菌株 HS-10 的革兰氏染色显微镜图片

Fig.1 Microscopic image of strain HS-10 after Gram-staining

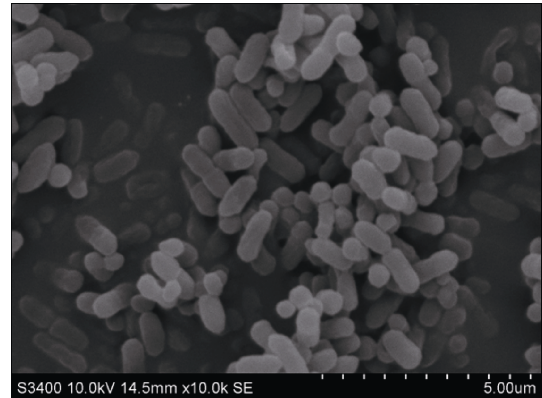


图 2 菌株 HS-10 的扫描电镜图

Fig.2 Scanning electron microscopic photography of strain HS-10

为进一步鉴定 HS-10, 在生理生化分析的基础上, 以 16S rDNA(邓先余等, 2009)通用引物 27F 和 1541R 进行 PCR 扩增(孙苏燕等, 2009), 提交 GenBank 数据库中注册得到序列号为 JX087926。经 BLAST 同源性比对发现, 该菌株的 16S rDNA 与假交替单胞菌相似度最高, 进一步结合形态学和生理生化特征可初步鉴定该菌株为假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.)。

2.2 菌株 HS-10 降解条件的优化

2.2.1 温度对菌株 HS-10 生长及降解效率的影响
温度作为微生物生长及代谢的重要因子, 在适宜的温度范围内, 微生物通常表现出较快的生长和代谢速率, 因此, 试验首先设定不同培养温度, 考察菌株 HS-10 的生长速率和降解性能。由图 3 可以看出, 在 20°C 和 28°C 培养条件下, 菌株 HS-10 在富集培养基中前 4 天生物量增长较快, 后达到稳定期, 继续培养, 其生物量则出现降低趋势; 进一步通过图 4 的降解曲线可以看出, 菌株 HS-10 对 CYP 和 DEL 的降解主要集中在对数生长期(1—4d), 这是因为该时期菌株对碳源的需求量较大, 因此对 CYP 和 DEL 的降解更快; 而随着培养基中的碳源和氮源逐渐减少及菌株代谢产物的积累, 导致菌体的生长受到抑制, 对 CYP 和 DEL 的降解效率随之减少。同时, 结果表明, 当培养温度为 35°C 时, 由于高温影响菌株的生长, 其生长相对较缓慢, 同时, CYP 和 DEL 的降解效率有所下降, 表明高温对菌株的降解效率有较大影响。其中, 28°C 培养时菌株 HS-10 的生长及降解效率明显优于其它温度, 对 CYP 和 DEL 的降解率分别为 62.1% 和 88.5%。由此可知, 菌株 HS-10 降解 CYP 和 DEL 的最佳温度为 28°C。

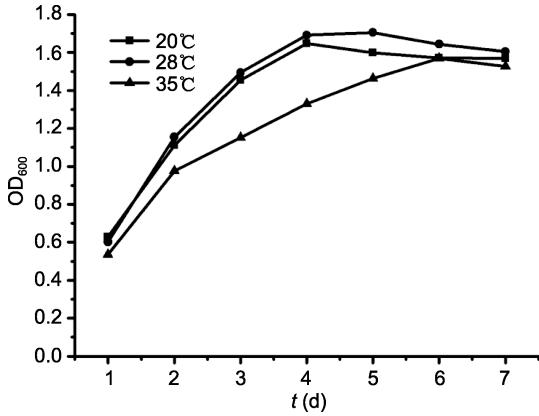


图3 不同温度下菌株 HS-10 的生长曲线

Fig.3 The growth curves of strain HS-10 at different temperature

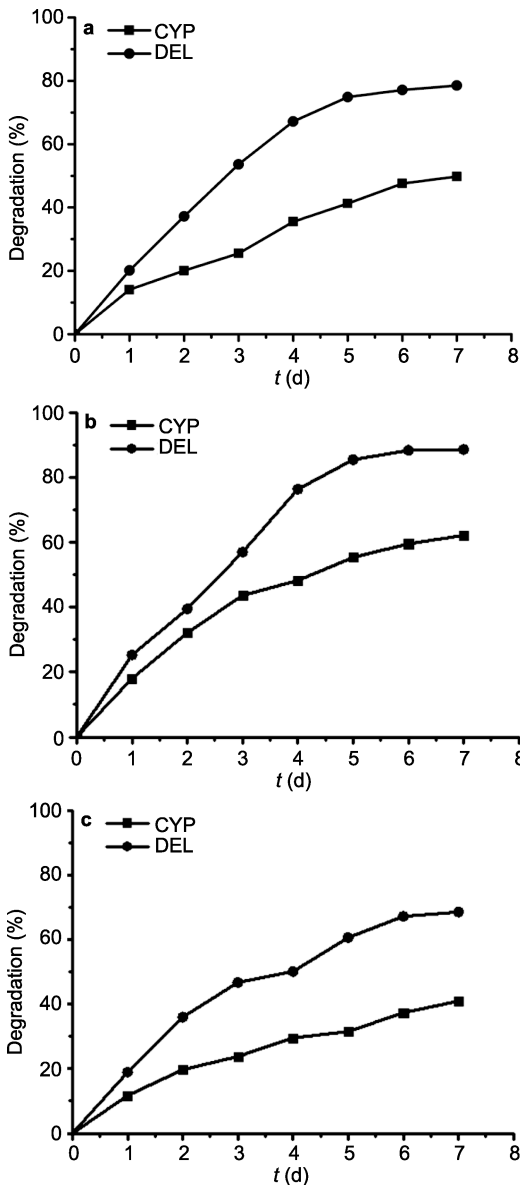


图4 温度对 CYP 和 DEL 降解率的影响

Fig.4 The effect of temperature on CYP and DEL degradation rate
a. 20°C; b. 28°C; c. 35°C

2.2.2 培养液初始 pH 对菌株 HS-10 生长及降解效率的影响 菌株 HS-10 在不同初始 pH 的液体培养基中的生长及降解效率见图 5、图 6。从图中可以看出, 菌株 HS-10 对 pH 的耐受性较为宽泛, 在 4.0—8.0 范围内可良好生长, 且对 CYP 和 DEL 的降解率均高于 50%。与酸性培养条件相比, 菌株 HS-10 在 pH 7.0 和 pH 8.0 时具有更大的生物量, 对 CYP 和 DEL 具有更大的降解效率, 尤其当 pH 7.0 时, 对 CYP 和 DEL 的降解率分别为 75.6%和 90.9%。由此可知, 菌株 HS-10 在碱性条件下能更好地生长, 表现出更大的降解活性, 其降解 CYP 和 DEL 的最佳 pH 为 7.0。

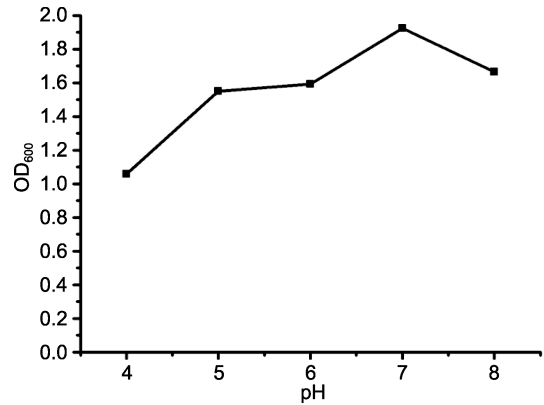


图5 初始 pH 对菌株 HS-10 生长的影响

Fig.5 The effect of initial pH on growth of strain HS-10

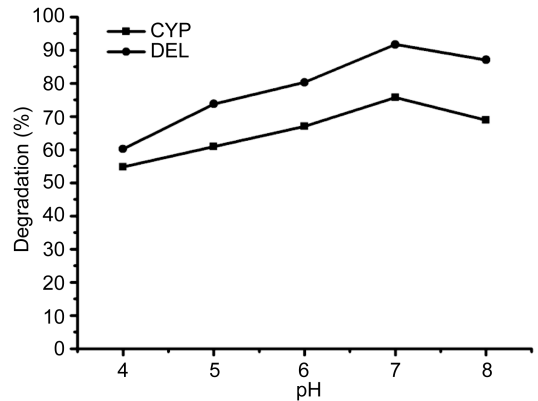


图6 初始 pH 对 CYP 和 DEL 降解效率的影响

Fig.6 The effect of initial pH on CYP and DEL degradation rate

2.2.3 不同初始浓度 CYP 和 DEL 的降解效率 将菌液以 10%的接种量在无菌条件下转入 100mL 初始浓度分别为 100、200、400、600、800mg/L 的 CYP 和 DEL 培养液中, 在 180r/min、28°C、pH 7.0 条件下分别养 7d 后, 测定 CYP 和 DEL 的降解率。由图 7 可知, CYP 和 DEL 初始浓度的变化对菌株的降解性能有一定的影响, 随着初始浓度的增加, HS-10 对

CYP 和 DEL 的降解率呈下降趋势, 但当 CYP 和 DEL 初始浓度低于 200mg/L 时, 菌株 HS-10 对 CYP 和 DEL 仍保持相对较高的降解率, 分别为 47.5% 和 65.2%。同时研究发现, 初始浓度在 100—400mg/L 范围内时, 菌株 HS-10 对 CYP 和 DEL 的绝对降解量随其初始浓度的增加而增大, 但是随着初始浓度的进一步增加, HS-10 对 CYP 和 DEL 的绝对降解量呈下降趋势, 表明较高的初始浓度可能对菌株的生长和降解性能产生抑制, 当初始浓度高于 400mg/L 时, CYP 和 DEL 的降解率和降解量显著降低。

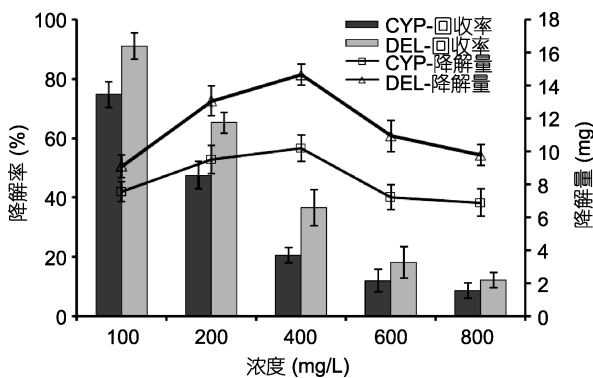


图7 菌株 HS-10 对不同初始浓度 CYP 和 DEL 的降解率和降解量

Fig.7 Biodegradation rate and quantity of CYP and DEL at different initial concentrations by strain HS-10

2.3 菌株 HS-10 降解产物分析

将有毒有害污染物通过微生物降解转化为无毒无害的物质, 是污染物生物修复的核心。研究表明, 拟除虫菊酯类农药的微生物降解途径主要包括氧化、

还原、水解等过程, 代谢比较复杂, 降解产物种类较多, 性质各异(Tallur *et al*, 2008), 因此, 为充分评价菌株 HS-10 降解产物的毒性, 本研究采用发光细菌和 NMR 的方法对 CYP 和 DEL 降解产物的特性进行了分析。

当发光细菌接触有毒有害物质时, 可影响其正常的新陈代谢, 从而使它的发光强度受到抑制, 利用发光细菌的发光强度受抑制的程度与物质的毒性大小呈正相关的特性, 可实现对农药及其降解产物的毒性效应评价。结果表明(表 1), 浓度为 100mg/L 的 CYP 和 DEL 溶液(发光抑制率分别为 $90.3\% \pm 6.1\%$), 降解后产物对发光细菌的抑制大大降低(发光抑制率 $36.9\% \pm 3.4\%$), 表明 CYP 和 DEL 经菌株 HS-10 降解后, 其毒性显著降低。

表 1 CYP 和 DEL 降解前后发光抑制率($n=3$)

Tab.1 The light inhibition ratio of CYP and DEL before and after degradation ($n=3$)

菌株	农药名称	发光抑制率(%)	
		降解前	降解后(7d)
HS-10	CYP	93.3 ± 6.2	33.8 ± 5.8
	DEL	88.4 ± 4.0	34.7 ± 6.0

进一步采用核磁共振对 CYP 和 DEL 降解前后的产物进行研究, 如图 8 所示, 经 HS-10 处理的农药样品, 其核磁共振图谱发生了明显变化, 谱峰显著减小, 尤其是化学位移 $\delta = 3.70$ 处的谱峰消失, 表明 CYP 和 DEL 被菌株 HS-10 降解, 其降解过程主要为分子中酯键的断裂。

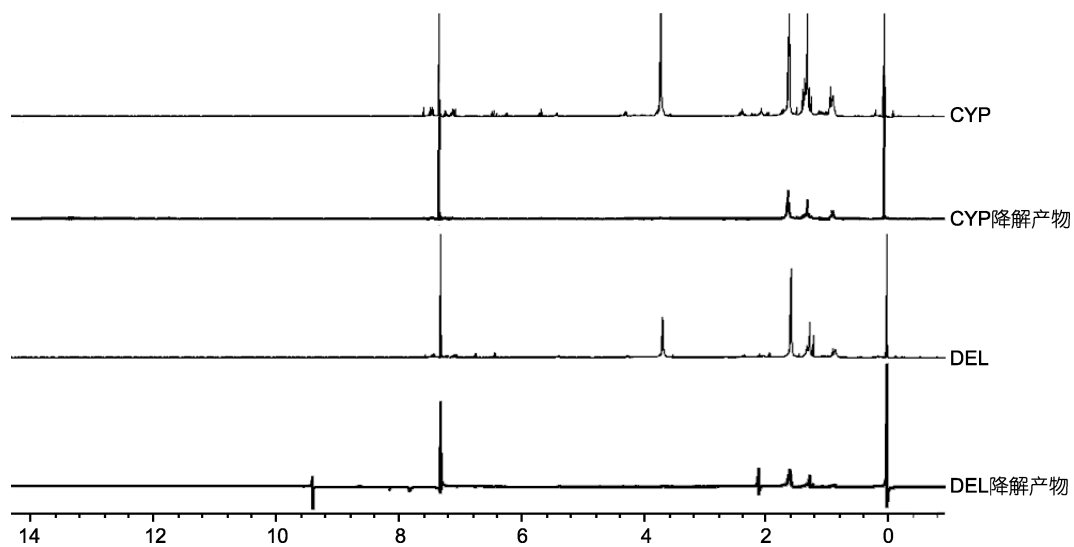


图 8 CYP、DEL 及其降解产物的 ^1H NMR 波谱

Fig.8 ^1H NMR spectrums of CYP, DEL and their degradation products

3 讨论

拟除虫菊酯类农药作为人工合成的一类杀虫剂, 由于具有高效、广谱、对温血动物等非靶标生物毒性相对较低等特点, 近年来使用量稳步上升, 导致流失到环境中的农药残留总量增加(张松柏等, 2009; 刘丽等, 2013)。通常, 自然条件下农药的降解方式主要有生物降解、光化学降解和化学降解等(李玲玉等, 2010), 然而, 目前使用的拟除虫菊酯类农药有些具有较强的光、热稳定性, 且大多数农药残留进入水体沉积物中, 由于沉积物环境具有避光、缺氧等特点, 农药往往更加不易降解、持久性增强(Liu *et al.*, 2005), 因此, 微生物降解是海水养殖环境中农药污染修复的有效方式。

大多数研究表明, 获得的降解菌株通常仅针对一种或少数几种拟除虫菊酯类农药, 并对高浓度农药表现较低的耐受性, 尤其是生物降解的实质是酶促反应, 单一微生物在降解农药时通常不具备生物降解所需的全部酶系, 不能完全矿化农药残留, 往往会产生有毒的代谢产物, 对菌体的生长及降解性能产生影响(李青云等, 2009; 廖敏等, 2009)。为此, 本实验采用发光细菌方法对菌株 HS-10 降解产物的毒性情况进行了研究, 并结合 GC-ECD 和 NMR 方法对 HS-10 的降解特性进行了分析, 结果表明其降解产物毒性大大降低, 未发现有毒代谢中间产物产生。同时, 实验结果显示, 菌株 HS-10 对 CYP、DEL、BIF、CYF 和 FEN 5 种拟除虫菊酯类农药混合物(其浓度分别为 100mg/L)具有较高的降解效率, 其降解率分别为 53.8%、72.1%、57.7%、50.4%和 66.6%, 表明菌株 HS-10 对多种拟除虫菊酯类农药具有较高的降解能力, 表现出较好的应用开发前景。

参 考 文 献

- 于蓉蓉, 颜景鹏, 张建伟等, 2009. 拟除虫菊酯类农药对典型冷——温血动物毒性作用研究进展. 环境与健康杂志, 9: 842—845
- 王 帅, 李忠海, 付湘晋等, 2013. 鱼塘养殖水中 5 种拟除虫菊酯类农药的测定. 食品与机械, 3: 83—85
- 邓先余, 高 健, 谭树华等, 2009. 一株甲胺磷高效降解菌——巴氏葡萄球菌(*Staphylococcus pasteurii*)的筛选及其分子鉴定. 海洋与湖沼, 40(5): 551—556
- 刘 丽, 肖 维, 黄华伟等, 2013. 气象色谱法测定渔业水体中 6 种拟除虫菊酯类药物的残留量. 中国渔业质量与标准, 3(2): 57—64
- 孙苏燕, 张德民, 钱丽君等, 2009. 三疣梭子蟹养殖塘表层底泥异养细菌群落比较研究. 水产学报, 34(5): 820—828
- 李青云, 顾宝群, 刘幽燕等, 2009. 氯氰菊酯降解菌 GF31 的分离鉴定及其降解特性. 微生物学通报, 36(9): 1334—1339
- 李玲玉, 刘 艳, 颜冬云等, 2010. 拟除虫菊酯类农药的降解与代谢研究进展. 环境科学与技术, 33(4): 65—71
- 张松柏, 张德咏, 刘 勇等, 2009. 一株菊酯类农药降解菌的分离鉴定及其降解酶基因的克隆. 微生物学报, 49: 1520—1526
- 虞云龙, 盛国英, 傅家谟, 1999. 农药降解酶的固定化及其降解特性. 应用与环境生物学报, 5: 166—169
- 廖 敏, 张海军, 马爱丽等, 2009. 两株拟除虫菊酯类农药高效降解菌混合降解性能研究. 农药学报, 11(4): 472—479
- 魏 华, 吴 楠, 沈 竑等, 2010. 溴氰菊酯对克氏原螯虾的氧化胁迫效应. 水产学报, 34: 733—739
- Almakkawy H K, Madbouly M D, 1999. Persistence and accumulation of some organic insecticides in Nile water and fish. Resource Conservation and Recycling, 27(1/2): 105—115
- Bridge P D, Williams M A J, Prior C *et al.*, 1993. Morphological, biochemical and molecular characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. Journal of General Microbiology, 139: 1163—1169
- Chen S, Luo J, Hu M *et al.*, 2012. Enhancement of cypermethrin degradation by a coculture of *Bacillus cereus* ZH-3 and *Streptomyces aureus* HP-S-01. Bioresource Technology, 110: 97—104
- Grant R J, Daniell T J, Betts W B, 2002. Isolation and identification of synthetic pyrethroid-degrading bacteria. Journal of Applied Microbiology, 92: 534—540
- Hong Y F, Zhou J, Hong Q *et al.*, 2010. Characterization of a fenprothrin-degrading strain and construction of a genetically engineered microorganism for simultaneous degradation of methyl parathion and fenprothrin. Journal of Environmental Management, 91: 2295—2300
- Li H, Zhang Y, Kravehenko I *et al.*, 2007. Dynamic changes in microbial activity and community structure during biodegradation of petroleum compounds: A laboratory experiment. Journal of Environmental Science, 19: 1003—1013
- Lin Q S, Chen S H, Hu M Y *et al.*, 2011. Biodegradation of cypermethrin by a newly isolated actinomycetes HS-S-01 from wastewater sludge. International Journal of Environmental Science and Technology, 8(1): 45—56
- Liu W P, Gan J Y, Sehlenk D *et al.*, 2005. Enantioselectivity in environmental safety of current chiral insecticides. Proceeding of the National Academy of sciences, 102(3): 701—706
- Rangaswamy V, Venkateswarlu K, 1992. Degradation of selected insecticides [monocrotophos, quinalphos, cypermethrin and fenvalerate] by bacteria isolated from soil. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 49(6): 797—804
- Stratton G W, Corke C T, 1982. Toxicity of the insecticide permethrin and some degradation products towards algae and cyanobacteria. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biologica, 29(1): 71—80
- Tallur P N, Megadi V B, Ninnekar H Z, 2008. Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. Strain CPN1. Biodegradation, 19: 77—82

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF A BACTERIA STRAIN DEGRADING PYRETHROID INSECTICIDE IN MARICULTURE

SUN Ai-Li, LIU Jing-Hua, SHI Xi-Zhi, ZHANG Rong-Rong, XIAO Ting-Ting,
LI De-Xiang, CHEN Jiong, TANG Dao-Jun

(Key Laboratory of Applied Technology of Marine Biology, Ministry of Education, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract Strain HS-10, a pyrethroid insecticide-degrading bacterium, was isolated from an offshore mariculture. The strain was identified as *Pseudoalteromonas* sp. and found capable of degrading cypermethrin (CYP) and deltamethrin (DEL) determined in physiology and biochemistry and its 16S rDNA sequence. The optimal culture and degradation conditions were: concentration at 100mg/L, pH 7.0, and 28 °C, under which the degradation rate was 75.6% and 90.9% for CYP and DEL, respectively. Furthermore, the metabolic intermediates were analyzed in a luminescent bacteria test and NMR; and the result provides strong evidence that CYP and DEL were removed in mainly a biological process, and toxicity of the degraded products was significantly decreased. Meanwhile, under the optimum conditions, the degradation efficiency by strain HS-10 reached >50% against five pyrethroid insecticides at concentration 100mg/L, including CYP, DEL, bifenthrin, cyfluthrin, and fenvalerate. Therefore, strain HS-10 is a potential agent for biological remediation to marine aquatic environments polluted by pyrethroid insecticides.

Key words pyrethroid insecticides; degrading bacteria; marine aquaculture environment