

6 种内生菌对发酵人参茎叶农药残留降解和皂苷转化的影响

田颖¹, 郜玉钢^{1,2}, 张雪¹, 高飞¹, 王茜¹, 臧埔^{1,2*}(1.吉林农业大学中药材学院, 长春 130118; 2.吉林省人参工程技术研究中心, 长春 130118)

摘要: 目的 研究 6 种内生菌对人参茎叶中 5 种农药残留降解和 20 种皂苷单体转化的影响。方法 在同一培养条件下, 通过 GC、HPLC 分别对 6 种人参内生芽孢杆菌处理前后人参茎叶中农药残留及人参皂苷含量进行测定, 计算 6 种内生菌对人参茎叶中农药残留率和皂苷转化率, 评价内生菌对人参茎叶转化产物质量的影响, 优选出降农残和转化皂苷效果好的菌株。**结果** 6 种人参内生菌对人参茎叶中的 5 种农药残留均有降解作用, 其中, 多黏类芽孢杆菌对农药残留降解作用最强, 氟啶胺、六六六、五氯硝基苯、毒死蜱、滴滴涕的降解率分别为 86.90%, 88.89%, 79.88%, 86.12% 和 86.67% ($P<0.05$); 对 20 种单体皂苷均有转化作用, 其中, 赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌转化人参茎叶皂苷作用最强, 20 种单体皂苷加和值分别为 5.84% 和 5.85% ($P<0.05$)。**结论** 6 种内生菌对人参茎叶农药残留降解和皂苷转化的影响不同, 多黏类芽孢杆菌降解农药残留效果最好, 赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌转化人参皂苷效果最好, 为提高人参茎叶总皂苷提供理论依据。

关键词: 人参内生菌; 人参茎叶; 农药残留降解; 人参皂苷转化

中图分类号: R282.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)04-0483-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2023.04.008

引用本文: 田颖, 郜玉钢, 张雪, 等. 6 种内生菌对发酵人参茎叶农药残留降解和皂苷转化的影响[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(4): 483-488.

Effects of Six Kinds of Endophytes on Pesticide Residue Degradation and Conversion of Saponins in Ginseng Stems and Leaves

TIAN Ying¹, GAO Yugang^{1,2}, ZHANG Xue¹, GAO Fei¹, WANG Xi¹, ZANG Pu^{1,2*} (1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Jilin Province Ginseng Engineering Technology Research Center, Changchun 130118, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of 6 kinds of endophytes on the degradation of 5 pesticide residues and the conversion of 20 saponin monomers in the stem and leaves of ginseng. **METHODS** Under the same culture conditions, the contents of pesticide residues and ginsenosides in the stems and leaves of ginseng before and after treatment with 6 kinds of endophytes were determined by GC and HPLC, respectively. The pesticide residue rate and ginsenoside conversion rate of 6 kinds of endophytic in stems and leaves of ginseng were calculated. The effects of endophytes on the quality of transformation products of stems and leaves of ginseng were evaluated, and the strains with good effect of reducing agricultural residues and transforming ginsenosides were selected. **RESULTS** Six kinds of ginseng endophytes could degrade five kinds of pesticide residues in ginseng stems and leaves, among which *Bacillus polymyxa* had the strongest degradation effect on pesticide residues. The degradation rates of fluazinam, benzene hexachloride, pentachloronitrobenzene, chlorpyrifos and dichlorodiphenyltrichloroethane were 86.90%, 88.89%, 79.88%, 86.12% and 86.67%, respectively ($P<0.05$). It could transform 20 kinds of monomer saponins, among which *Bacillus lysine* and *Bacillus cereus* had the strongest effect on transforming ginseng stem and leaf saponins, and the sum values of 20 monomer saponins were 5.84% and 5.85% respectively ($P<0.05$). **CONCLUSION** The 6 kinds of endophytes have different effects on pesticide residue degradation and conversion of saponins in ginseng stems and leaves, the *Paenibacillus polymyxa* have the best degradation effect on pesticide residues, *Bacillus lysine* and *Bacillus cereus* have the best effect on transforming ginsenosides, which provide theoretical basis for improving the total ginsenosides of ginseng stems and leaves.

KEYWORDS: ginseng endophytes; ginseng stems and leaves; pesticide residue degradation; ginsenoside biotransformation

由于人参种植中农药过量违规使用, 造成农药残留在土壤中, 且残存时间长、代谢迟缓, 导致人参中农药残留超标、人参产品质量低下, 因此如何降解人参中农药残留、提高人参皂苷含量迫在眉睫。目前农药残留降解方法包括物理降解、

化学降解和微生物降解, 由于物理降解和化学降解存在效率低、二次污染等弊端, 而微生物降解安全高效, 因此微生物降解农残已成为应用最广泛的生物修复农药污染的手段^[1-2], 内生菌更是现阶段的研究热点^[3-4]。目前人参皂苷转化包括酶转化法和微

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20200708025YY)

作者简介: 田颖, 女, 硕士 E-mail: 1360677489@qq.com

*通信作者: 臧埔, 女, 副教授, 硕士 E-mail: zangpu@163.com

生物转化法, 由于酶转化法成本高而内生菌转化人参皂苷已经成功地提高某些皂苷的含量, 并获得了一些稀有人参皂苷, 因此内生菌转化皂苷更加可行。植物内生菌包含细菌、真菌和放线菌(一类具有分支状菌丝体的细菌, 革兰氏染色为阳性), 近年来大量研究集中在内生菌的生物活性和植物相互作用等方向^[5-6]。而人参内生菌的相关研究主要集中于抑菌活性^[7]、抗肿瘤活性^[8-9]等方面, 农药降解及人参皂苷转化研究相对较少。

内生菌中, 细菌为主要农药降解菌株, 降解农药种类主要是多氯联苯混合物、毒死蜱、邻苯二甲酸二丁酯、二嗪农、六六六、甲胺磷、氧乐果和乐果等^[10-15]。笔者所在实验室已分离鉴定几种人参内生菌^[16]。其中已证明多黏类芽孢杆菌不仅在降解农药残留方面, 而且在人参根总皂苷转化方面均有很好作用^[17-18]。但其余几种内生菌(解淀粉芽孢杆菌、黄岗山脉蕈状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌)的降解农药残留和转化皂苷作用如何有待进一步研究。本研究利用 6 种人参内生菌降低人参农药残留和转化人参皂苷, 进而筛选最佳菌株, 以期为提高人参产品的质量提供理论依据。

1 仪器与试剂

Johnsson JS 1546 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); LC-2010A 高效液相色谱仪、GC-14C 气相色谱仪、AUY220 电子分析天平均购自日本岛津公司; Agilent DB-1701 石英毛细柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); KQ-250DV 超声波清洗器(昆山舒美超声仪器有限公司); HNY-2112B 恒温培养振荡器(天津欧诺仪器股份有限公司); GL-21LM 高速冷冻离心机(湖南星科科学仪器有限公司); 微孔过滤膜(13 mm×0.22 μm, 津腾实验设备有限公司)。

正己烷、甲醇、乙腈均为色谱纯, 均来自 Fisher 公司; 丙酮、石油醚均为分析纯, 均来自北京化工厂; 浓硫酸(分析纯, 沈阳市派尔精细化工制品厂); 纯净水(杭州娃哈哈公司); Agile 高农残人参(*Panax ginseng* C.A.Mey)的茎叶(4 年生), 来自农药残留试验田, 经吉林农业大学郜玉钢教授鉴定为人参(*Panax ginseng* C.A.Mey); 6 种内生菌: 解淀粉芽孢杆菌、黄岗山脉蕈状芽孢杆菌、多黏类芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌由本实验室分离所得^[16]。五氯硝基苯(批号: 15001)、毒死蜱(批号: 216081393)、六六六(批号: 217021440)、氟啶胺(批号: 5569300)、

滴滴涕(批号: 6154527)均购自迪马科技, 纯度均>98%; 人参皂苷对照品 Rgl(批号: 201511)、Re(批号: 201523)、Rg2(批号: 201545)、Rg3(批号: 201506)、Rg5(批号: 201524)、Rf(批号: 201537)、F1(批号: 201549)、F2(批号: 201521)、Rc(批号: 201536)、Rd(批号: 201579)、Rb1(批号: 201501)、Rb2(批号: 201551)、Rb3(批号: 201518)、Rh2(批号: 201543)、compound K(批号: 201520)、20(R)-Rh1(批号: 201515)、Rk3(批号: 201562)、Rh4(批号: 201571)、原人参二醇(批号: 201519)、原人参三醇(批号: 201513)均来自吉林大学天然药物化学实验室, 质量分数均>98%。

2 方法

2.1 内生菌菌液的制备

将适量生长良好的解淀粉芽孢杆菌、黄岗山脉蕈状芽孢杆菌、多黏类芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌 6 种内生菌分别接入装有 50 mL PDB 培养基的容量为 250 mL 锥形瓶中, 28 ℃、120 r·min⁻¹ 往复摇床培养约 48 h, 菌液用酶标仪测定, 菌液 $A_{600\text{ nm}}$ 值到达 0.5 时备用。

2.2 内生菌活菌数的测定

精密吸取 20 μL 稀释后的菌液滴加于 PDB 培养基上, 并用涂布器将菌液涂布均匀, 每个稀释浓度设置 3 个, 于 28 ℃培养箱中倒置培养约 24 h 后取出, 计算内生菌的总数目, 再乘以稀释倍数, 即可得到内生菌芽孢杆菌的总数。

2.3 内生菌发酵人参茎叶的制备

精密称取 3.00 g 人参茎叶粉末放入三角瓶中, 封口, 100 ℃灭菌 2 h。在无氧条件下, 加入 50 mL 无菌水, 吸取 200 μL 的 $A_{600\text{ nm}}$ 值为 0.5 的菌液放入三角瓶, 28 ℃、120 r·min⁻¹, 往复摇床培养约 24 h。设不接菌的处理组作为对照, 7 d 后 40 ℃干燥得发酵后人参茎叶粉末备用。

2.4 农药残留样品的制备与测定

精密称取已干燥的发酵后人参茎叶粉末 1.000 g 置于 100 mL 具塞三角烧瓶中, 加入丙酮-石油醚(1:4)20 mL, 20 min 超声处理, 静置, 将上清滤到 100 mL 三角瓶中, 加入丙酮-石油醚(1:4)15 mL, 再提取 2 次, 每次 10 min, 滤液于 40 ℃水浴下浓缩, 挥干后用石油醚将残渣定容至 5 mL, 加入 1 mL 10%的硫酸, 振摇 1 min, 630×g 离心 10 min, 取上清于 40 ℃水浴, 减压浓缩至近干, 加入 2 mL 正己烷溶解, 0.22 μm 有机滤膜过滤, 备用。GC 测定条件参照笔者所在实验室的测定方

法^[18]。色谱柱: Agilent DB-1701 石英毛细柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 检测器: ECD; 检测器温度: 300 ℃; 进样口温度: 200 ℃。程序升温: 50 ℃保持 3 min, 以 10 ℃·min⁻¹ 升温至 180 ℃, 保持 20 min, 再以 10 ℃·min⁻¹ 升温至 260 ℃, 保持 10 min; 载气: 高纯氮气(纯度> 99.999%); 流速 1 mL·min⁻¹, 采用分流进样, 进样量 1.0 μL; 分流比: 10:1。

2.5 皂苷样品的制备与测定

精密称取已干燥的发酵后人参茎叶粉末 0.50 g, 置于小试管中, 加入 5 mL 甲醇, 密封, 超声 1 h 后静置过夜, 第 2 天再超声 1 h 后, 1 740×g 离心 15 min, 取上清液过 0.22 μm 有机滤膜放入液相小瓶, HPLC 测定皂苷含量, 色谱条件参照笔者所在实验室建立的同时测定 20 种人参皂苷含量的方法^[17]: Johnsson JS 1546 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 乙腈(A)-水(B)为流动相, 梯度洗脱 (0~40.00 min, 82.00%→79.00%B; 40.00~42.00 min, 79.00%→74.00%B; 42.00~46.00 min, 74.00%→68.00%B; 46.00~66.00 min, 68.00%→66.20%B; 66.00~71.00 min, 66.20%→62.00%B; 71.00~77.70 min, 62.00%→50.92%B; 77.70~78.00 min, 50.92%→50.90%B; 78.00~82.00 min, 50.90%B; 82.00~83.00 min, 50.90%→49.40%B; 83.00~88.00 min, 49.40%→40.40%B; 88.00~89.80 min, 40.40%→35.04%B; 89.80~92.00 min, 35.04%→35.00%B; 92.00~97.00 min, 35.00%B; 97.0~102.00 min, 35.00%→15.00%B; 102.00~109.00 min, 15.00%B; 109.00~111.00 min, 15.00%→82.00%B)。柱温为 35 ℃, 检测波长为 203 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 进样量为 10 μL。

2.6 降解率计算公式

$$\text{降解率}(\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

式中: A_1 为对照样品残留量; A_2 为内生菌处理样品残留量。

2.7 统计分析

使用 Excel 软件进行数据整理, 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析及 Dunnett- t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 6 种内生菌发酵结束后活菌数的测定

在 6 种内生菌发酵结束后测定菌液的活菌数,

6 种内生菌在培养 7 d 发酵结束后, 活菌数量差异无统计学意义, 结果见表 1。

表 1 6 种内生菌发酵结束后活菌数的测定结果

Tab. 1 Measurement results of the number of viable bacteria after fermentation of 6 kinds of endophytes

内生菌种类	0 d(A 值)	7 d/×10 ⁸ CFU·mL ⁻¹
解淀粉芽孢杆菌	0.5	16.09±0.55
黄岗山脉草状芽孢杆菌	0.5	16.45±0.43
多黏类芽孢杆菌	0.5	16.96±0.57
枯草芽孢杆菌	0.5	17.02±0.49
赖氨酸芽孢杆菌	0.5	16.94±0.51
蜡样芽孢杆菌	0.5	16.08±0.49

3.2 6 种内生菌对发酵人参茎叶农残降解的影响

3.2.1 5 种农药 GC 测定色谱峰归属 5 种农药均得到良好分离, 峰 1~5 依次为氟啶胺、六六六、五氯硝基苯、毒死蜱和滴滴涕, 结果见图 1。

3.2.2 农药残留线性关系考察 以对照品中的农药质量(y)和相应峰面积的积分值(x)作图, 计算得到 5 个农药线性回归方程, 见表 2。5 种农药: 氟啶胺、六六六、五氯硝基苯、毒死蜱以及滴滴涕在 0.02~1.00 μg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系($r \geq 0.990$)。

表 2 5 种农药测定标准曲线的回归方程

Tab. 2 Regression equation of five standard curves of pesticides

序号	农药种类	线性方程	r	线性范围/ μg·mL ⁻¹
1	氟啶胺	$y=2.5779 \times 10^{-6}x+0.0127$	0.9966	0.02~1.00
2	六六六	$y=2.9432 \times 10^{-6}x+0.2097$	0.9901	0.02~1.00
3	五氯硝基苯	$y=4.1580 \times 10^{-7}x-0.4271$	0.9952	0.02~1.00
4	毒死蜱	$y=4.7101 \times 10^{-6}x+0.0668$	0.9935	0.02~1.00
5	滴滴涕	$y=3.7585 \times 10^{-6}x+0.0799$	0.9930	0.02~1.00

3.3 6 种内生菌对发酵人参茎叶农药残留降解率的测定

6 种人参内生菌对人参茎叶中的 5 种农药残留均有降解作用, 但不同菌株对同种农药降解率不同($P < 0.05$), 同一菌株对不同农药降解率不同($P < 0.05$)。综合 5 种农药残留的降解率, 多黏类芽孢杆菌对农药的降解效果最好, 对氟啶胺、六六六、五氯硝基苯、毒死蜱、滴滴涕降解率分别为 86.90%, 88.89%, 79.88%, 86.12% 和 86.67%。解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和赖氨酸芽孢杆菌对农药残留降解作用次之。6 种内生菌对人参茎叶农药残留降解的影响色谱图见图 1, 6 种内生菌对人参茎叶农药残留降解率见表 3。

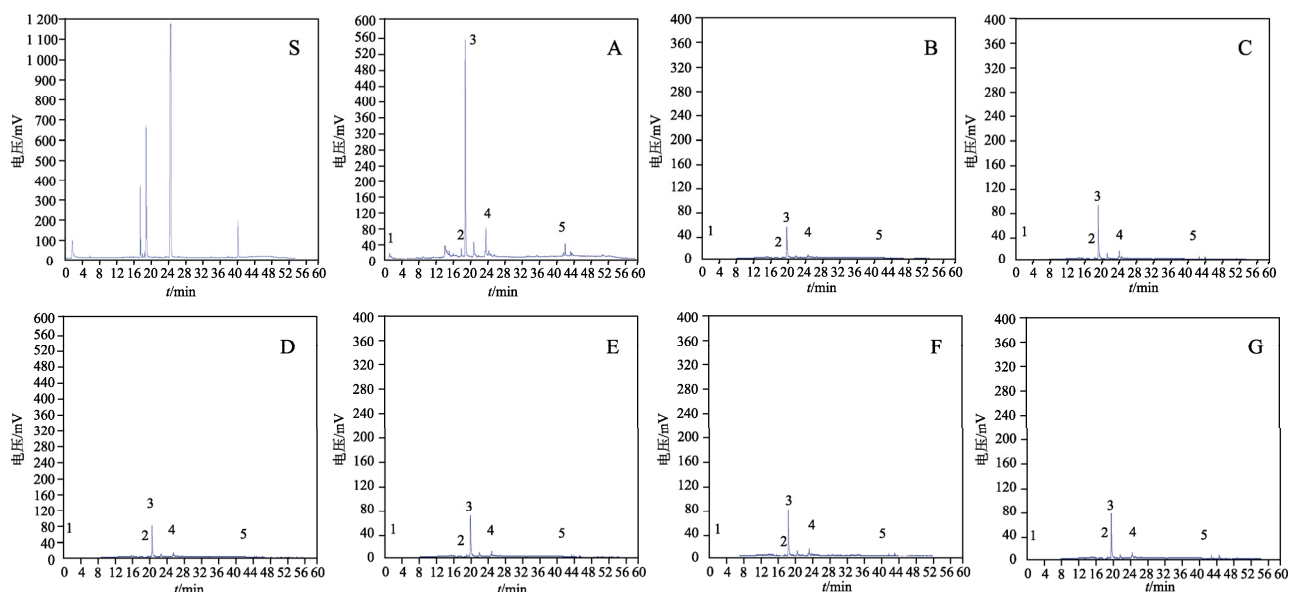


图1 6种内生菌对人参茎叶5种农药的降解影响色谱图

S-混合对照品; A-人参茎叶原农药残留; B-解淀粉芽孢杆菌; C-黄岗山脉蕈状芽孢杆菌; D-多黏类芽孢杆菌; E-枯草芽孢杆菌; F-赖氨酸芽孢杆菌; G-蜡样芽孢杆菌。1-氟啶胺; 2-六六六; 3-五氯硝基苯; 4-毒死蜱; 5-滴滴涕。

Fig. 1 Chromatograms of the effect of 6 kinds of endophytes on degradation of 5 pesticides in ginseng stems and leaves

S-mixed standards; A-pesticide residues in ginseng stems and leaves; B-*Bacillus amyloliquefaciens*; C-*Bacillus mycoides*; D-*Bacillus polymyxa*; E-*Bacillus subtilis*; F-*Bacillus lysine*; G-*Bacillus cereus*. 1-fluazinam; 2-benzene hexachloride; 3-pentachloronitrobenzene; 4-chlorpyrifos; 5-dichlorodiphenyltrichloroethane.

表3 6种内生菌对5种农药的降解率影响

Tab. 3 Effects of 6 kinds of endophytes on degradation rates of 5 pesticides

农药种类	解淀粉芽孢杆菌	黄岗山脉蕈状芽孢杆菌	多黏类芽孢杆菌	枯草芽孢杆菌	赖氨酸芽孢杆菌	蜡样芽孢杆菌
氟啶胺	86.039 7±1.104 6 ^a	87.401 8±0.077 4 ^b	86.897 5±0.474 5 ^{ab}	84.386 9±0.741 6 ^a	86.181 3±1.031 0 ^a	85.075 2±0.880 5 ^a
六六六	77.057 9±0.839 5 ^d	71.042 4±0.273 2 ^b	88.892 3±0.674 6 ^c	74.381 5±1.315 6 ^c	71.016 7±0.855 4 ^b	10.084 5±0.674 2 ^a
五氯硝基苯	80.986 6±0.352 4 ^d	75.029 0±0.602 7 ^b	79.879 4±1.029 7 ^d	77.469 4±1.011 4 ^c	74.946 7±0.111 4 ^b	63.942 5±0.108 9 ^a
毒死蜱	87.845 2±0.397 3 ^c	82.155 0±0.829 3 ^b	86.119 4±0.924 2 ^c	87.169 3±2.421 0 ^c	85.115 1±0.170 2 ^{bc}	4.405 8±1.390 6 ^a
滴滴涕	88.986 7±0.593 4 ^b	88.488 1±1.461 2 ^b	86.666 5±0.766 4 ^b	87.458 4±0.838 8 ^b	88.134 9±0.689 6 ^b	70.440 3±1.233 0 ^a

注: 用小写字母表示两两比较, 字母相同为差异不显著, 字母不同为差异显著, $P<0.05$ 。

Note: Lowercase letters were used to represent pairwise comparison. The same letters were regarded as insignificant difference, while different letters were regarded as significant difference, $P<0.05$.

3.4 6种内生菌对人参茎叶皂苷含量的测定

3.4.1 20种人参皂苷单体皂苷 HPLC 测定色谱峰归属 20种人参皂苷单体分离良好, 依次为 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rg2、Rc、20(R)-Rh1、Rb2、Rb3、F1、Rd、Rk3、F2、Rh4、Rg3、原人参三醇、Compound K、Rg5、Rh2、原人参二醇, 结果见图2。

3.4.2 线性关系考察 以对照品中的人参皂苷质量(Y)和相应峰面积的积分值(X)作图, 计算出线性回归方程, 见表4。20种人参皂苷单体在1.96~20.80 μg 内呈良好的线性关系($r>0.999$, $n=6$)。

3.5 6种内生菌对人参茎叶人参皂苷转化的测定

6种人参内生菌对人参茎叶中的20种单体皂苷均有不同程度的转化作用, 但不同菌株对同种皂苷单体转化率不同($P<0.05$), 同一菌株对不同皂苷单体转化率不同($P<0.05$), 解淀粉芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rb1、Rg2、Rh4、Rg3 含量($P<0.05$),

黄岗山脉蕈状芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rf、Rb1、Rg2、F1、Rk3、Rh4、Compound K 含量($P<0.05$), 多黏类芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rb1、Rg2、Rk3、Rh4 含量($P<0.05$), 枯草芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rb1、Rg2、Rh4、原人参二醇含量($P<0.05$), 赖氨酸芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rf、Rg2、Rb2、F1、Rd、Rk3、Rh4、Rg3、Compound K 含量($P<0.05$), 蜡样芽孢杆菌提高了人参茎叶中 Rb1、Rg2、Rb2、F1、Rd、Rh4、Rg3、Rg5 含量($P<0.05$), 结果见图2和表5。综合20种单体皂苷及其加和值含量, 经赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌转化效果最好, 20种单体皂苷加和值可达5.84%和5.85%。

4 结论

微生物由于其本身的代谢能力, 在降解农药时具有更好的优势, 适合应用于产品。但不同的微生物对农药残留降解效果不同, 筛选出高效降

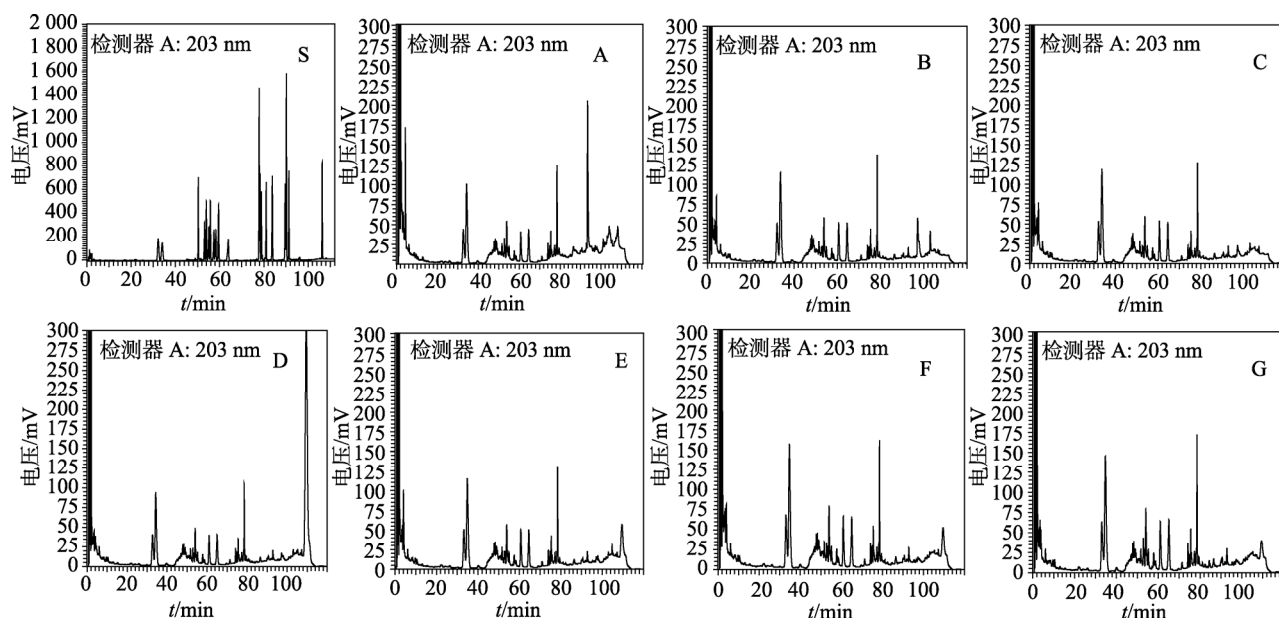


图2 6种内生菌发酵对人参茎叶皂苷转化的影响色谱图

S-混合对照品; A-人参茎叶原皂苷; B-解淀粉芽孢杆菌; C-黄岗山脉草状芽孢杆菌; D-多黏类芽孢杆菌; E-枯草芽孢杆菌; F-赖氨酸芽孢杆菌; G-蜡样芽孢杆菌。

Fig. 2 Chromatograms of effects of 6 kinds of endophytes fermentation on ginsenoside transformation of ginseng stems and leaves S-mixed standards; A-original saponin in ginseng stems and leaves; B-*Bacillus amyloliquefaciens*; C-*Bacillus mycoides*; D-*Bacillus polymyxa*; E-*Bacillus subtilis*; F-*Bacillus lysine*; G-*Bacillus cereus*.

表4 人参皂苷的回归方程

Tab. 4 Regression equation of ginsenosides

人参皂苷	保留时间/min	回归方程	相关系数	线性范围/ μg
Rg1	31.830	$Y=2.584\ 242\times10^{-6}X+5.272\ 472\times10^{-3}$	0.999 9	2.08~20.80
Re	33.624	$Y=3.045\ 859\times10^{-6}X-1.763\ 971\times10^{-2}$	0.999 8	2.04~20.40
Rf	50.345	$Y=2.575\ 101\times10^{-6}X-1.365\ 498\times10^{-1}$	0.999 8	2.04~20.40
Rb1	53.156	$Y=3.544\ 513\times10^{-6}X-1.458\ 505\times10^{-2}$	0.999 9	2.00~20.00
Rg2	53.976	$Y=2.383\ 191\times10^{-6}X-5.158\ 786\times10^{-2}$	0.999 9	1.96~19.60
Rc	55.106	$Y=3.215\ 851\times10^{-6}X+6.726\ 408\times10^{-3}$	0.999 9	2.00~20.00
20(R)-h1	55.762	$Y=2.116\ 331\times10^{-6}X-8.732\ 196\times10^{-2}$	0.999 9	1.96~19.60
Rb2	57.447	$Y=3.388\ 552\times10^{-6}X+1.825\ 798\times10^{-2}$	0.999 9	2.00~20.00
Rb3	58.253	$Y=3.283\ 913\times10^{-6}X-1.511\ 758\times10^{-2}$	0.999 8	2.08~20.80
F1	59.503	$Y=2.004\ 556\times10^{-6}X-9.388\ 506\times10^{-2}$	0.999 8	2.00~20.00
Rd	63.818	$Y=3.206\ 608\times10^{-6}X+9.830\ 502\times10^{-3}$	0.999 9	2.04~20.40
Rk3	77.859	$Y=1.026\ 160\times10^{-6}X-3.048\ 077\times10^{-1}$	0.999 2	2.00~20.00
F2	78.300	$Y=2.554\ 881\times10^{-6}X-1.686\ 846\times10^{-1}$	0.999 7	2.00~20.00
Rh4	78.901	$Y=3.246\ 799\times10^{-6}X+9.459\ 274\times10^{-3}$	0.999 9	2.00~20.00
Rg3	81.059	$Y=2.356\ 921\times10^{-6}X-1.204\ 710\times10^{-1}$	0.999 8	2.00~20.00
原人参三醇	83.825	$Y=1.526\ 064\times10^{-6}X-1.575\ 577\times10^{-1}$	0.999 7	2.04~20.40
Compound K	89.684	$Y=1.863\ 712\times10^{-6}X-1.068\ 954\times10^{-1}$	0.999 8	2.00~20.00
Rg5	90.210	$Y=8.349\ 560\times10^{-7}X-1.477\ 148\times10^{-1}$	0.999 7	2.00~20.00
Rh2	91.354	$Y=1.936\ 456\times10^{-6}X-2.287\ 905\times10^{-1}$	0.999 7	2.00~20.00
原人参二醇	106.340	$Y=1.798\ 388\times10^{-6}X-2.089\ 044\times10^{-1}$	0.999 6	2.00~20.00

解农药残留的菌株具有重要意义。微生物通过其自身的代谢分解能力,对人参皂苷进行体外降解,从而避免个体差异,扩大人群使用范围,提高人参的药用价值。本研究表明内生菌能有效降解农药残留并提高人参皂苷含量,为植物内生菌的深层次开发利用提供了理论依据。本实验利用6种人参内生菌研究其对人参农药残留和皂苷含量的影响,结果表明多黏类芽孢杆菌能有效降低人参农药残留,与笔者所在实验室前期研究结果一致。经赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌发酵转化后,皂苷 Rg2、

Rb2、F1、Rd、F2、Rh4 和 Rg3 含量升高。

6种人参内生菌对人参茎叶中的5种农药残留均有降解作用,对20种单体皂苷含量均有影响。其中,多黏类芽孢杆菌对农药残留降解作用最强,氟啶胺、六六六、五氯硝基苯、毒死蜱、滴滴涕降解率分别为86.90%,88.89%,79.88%,86.12%和86.67%($P<0.05$),赖氨酸芽孢杆菌对农药残留降解作用次之。赖氨酸芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌转化人参茎叶皂苷作用最强,20种单体皂苷加和值分别为5.84%和5.85%($P<0.05$)。综合6种人参内

表 5 6 种内生菌发酵对人参茎叶皂苷转化的影响

Tab. 5 Effects of 6 kinds of endophytes on ginsenoside transformation of ginseng stems and leaves								%
皂苷单体	人参茎叶原皂苷	解淀粉芽孢杆菌	黄岗山脉蕈状芽孢杆菌	多黏类芽孢杆菌	枯草芽孢杆菌	赖氨酸芽孢杆菌	蜡样芽孢杆菌	
Rg1	0.856 0±0.004 7 ^c	0.590 2±0.030 1 ^a	0.672 3±0.094 8 ^{ab}	0.608 4±0.084 9 ^a	0.685 5±0.032 8 ^{ab}	0.770 2±0.102 1 ^{bc}	0.693 7±0.116 9 ^{ab}	
Re	2.387 3±0.038 7 ^c	1.609 5±0.108 4 ^a	1.688 2±0.040 4 ^{ab}	1.575 8±0.128 4 ^a	1.859 5±0.072 4 ^b	2.308 1±0.163 7 ^c	2.203 7±0.167 0 ^c	
Rf	ND	ND	0.001 5±0.002 6 ^a	ND	ND	0.010 0±0.015 1 ^a	ND	
Rb1	0.091 1±0.003 4 ^a	0.342 3±0.013 5 ^b	0.419 7±0.034 5 ^c	0.412 9±0.029 9 ^c	0.446 5±0.040 7 ^c	0.050 4±0.035 0 ^a	0.449 6±0.057 4 ^c	
Rg2	0.023 3±0.004 2 ^a	0.236 0±0.032 7 ^b	0.247 2±0.035 0 ^b	0.225 5±0.012 3 ^b	0.250 8±0.037 5 ^b	0.498 3±0.242 9 ^c	0.391 9±0.032 0 ^{bc}	
Rc	0.509 2±0.020 4 ^b	0.061 6±0.019 3 ^a	0.089 1±0.050 0 ^a	0.074 4±0.036 8 ^a	0.089 5±0.038 1 ^a	0.099 3±0.026 9 ^a	0.103 8±0.032 1 ^a	
20(R)-Rh1	0.131 6±0.015 1 ^c	0.020 4±0.035 3 ^{ab}	0.023 1±0.036 8 ^{ab}	0.019 1±0.033 1 ^{ab}	0.024 5±0.040 4 ^{ab}	0.073 6±0.064 8 ^{bc}	ND	
Rb2	0.063 7±0.003 2 ^a	0.103 2±0.018 2 ^{ab}	0.134 7±0.038 4 ^{abc}	0.103 8±0.005 6 ^{ab}	0.115 2±0.008 4 ^{abc}	0.164 9±0.044 8 ^c	0.144 9±0.046 3 ^{bc}	
Rb3	0.156 4±0.008 1 ^b	0.066 7±0.006 2 ^a	0.090 1±0.040 6 ^a	0.069 4±0.018 5 ^a	0.077 4±0.014 2 ^a	0.104 2±0.034 3 ^a	0.083 1±0.008 8 ^a	
F1	0.154 4±0.162 3 ^a	0.283 3±0.030 7 ^{ab}	0.382 1±0.120 7 ^b	0.279 0±0.028 0 ^{ab}	0.322 1±0.010 2 ^{ab}	0.442 7±0.122 3 ^b	0.457 0±0.031 1 ^b	
Rd	0.586 1±0.024 3 ^a	0.500 4±0.061 2 ^a	0.583 7±0.080 9 ^a	0.503 4±0.043 0 ^a	0.556 3±0.028 8 ^a	0.774 8±0.073 7 ^b	0.829 0±0.045 4 ^b	
Rk3	ND	ND	0.000 6±0.001 0 ^a	0.000 9±0.001 5 ^a	ND	0.003 8±0.006 6 ^a	ND	
F2	0.393 4±0.006 8 ^{ab}	0.374 4±0.026 0 ^a	0.379 4±0.011 0 ^a	0.361 4±0.056 5 ^a	0.413 9±0.014 8 ^{ab}	0.475 8±0.038 4 ^b	0.429 3±0.105 6 ^{ab}	
Rh4	ND	0.034 3±0.003 2 ^a	0.040 8±0.012 0 ^{ab}	0.035 7±0.003 9 ^{ab}	0.037 0±0.002 1 ^{ab}	0.052 0±0.013 0 ^{ab}	0.057 3±0.000 0 ^b	
Rg3	ND	0.001 1±0.001 9 ^a	ND	ND	ND	0.006 6±0.007 2 ^b	0.004 8±0.025 0 ^{ab}	
原人参三醇	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Compound K	ND	ND	0.000 9±0.001 6 ^a	ND	ND	0.002 4±0.004 2 ^a	ND	
Rg5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.000 0±0.001 2 ^a	
Rh2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
原人参二醇	ND	ND	ND	ND	0.010 1±0.009 6 ^a	ND	ND	
合计	5.352 6±0.198 6 ^{cd}	4.223 4±0.306 9 ^a	4.753 4±0.428 6 ^{ab}	4.269 7±0.361 3 ^a	4.888 4±0.194 5 ^{bc}	5.837 0±0.185 2 ^d	5.848 2±0.429 4 ^d	

注: ND 表示未检测到。小写字母表示两两比较, 字母相同为差异不显著, 字母不同为差异显著, $P<0.05$ 。

Note: ND meant not detected. Lowercase letters were used to represent pairwise comparison. The same letters were regarded as insignificant difference, while different letters were regarded as significant difference, $P<0.05$.

生菌对生物法转化的人参茎叶产物中 5 种农药残留和人参皂苷含量的影响, 优选出赖氨酸芽孢杆菌是降解农药残留作用强并提高皂苷含量幅度大的菌株。

REFERENCES

- [1] RANI R, KUMAR V, USMANI Z, et al. Influence of plant growth promoting rhizobacterial strains *Paenibacillus* sp. IITISM08, *Bacillus* sp. PRB77 and *Bacillus* sp. PRB101 using *Helianthus annuus* on degradation of endosulfan from contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2019(225): 479-489.
- [2] LI H Y, QIU Y Z, YAO T, et al. Evaluation of seven chemical pesticides by mixed microbial culture(PCS-1): Degradation ability, microbial community, and *Medicago sativa* phytotoxicity[J]. *J Hazard Mater*, 2020(389): 121834.
- [3] JI C H, JIN J, XU Y M, et al. Effect of endogenous substances in cherry tomato plants on degradation of thiophanate-methyl[J]. *Agrochemicals(农药)*, 2020, 59(1): 37-40.
- [4] SUN L N, HUANG K H, GAO X H, et al. Isolation, identification, and degradation characteristics of endophytic cypermethrin-degrading bacteria[J]. *J Agro-Environment Sci(农业环境科学学报)*, 2020, 39(1): 70-77.
- [5] AN D P, ZHANG Z L, ZHANG X P, et al. Optimization of fermentation conditions of actinomycetes strain WP-1 from *Pinus dabeshanensis* for fungichromin production[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2017, 34(8): 1078-1083.
- [6] WU L Q, GU H K, WANG Q, et al. Antagonistic efficacy and growth-promoting effect of *Bacillus methylotrophicus* isolated from *Dendrobium huoshanense*[J]. *Biotechnol Bull(生物技术通报)*, 2016, 32(8): 200-206.
- [7] LI Y, ZHAO D Y, DING W, et al. Isolation of endophytic bacteria in roots of *Panax ginseng* and screening of antagonistic strains against phytopathogens prevalent in *P. ginseng*[J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2012, 37(11): 1532-1535.
- [8] JU X, QIAN W, HU C Y, et al. Isolation and anti-tumor effect of endophytic pseudomonad G13476 in ginseng[J]. *J Anhui*

- [9] LU Y B, GUO G H, TANG Z L, et al. Effects of compatibility between *Panax ginseng* and *Trogopteris dung* on immune functions in normal mice[J]. *J Chin Med Mater(中药材)*, 1994, 17(8): 34-36, 56.
- [10] SONG G, CAI M, LI Y L, et al. Isolation and identification of plant endophytic bacteria survived in polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers[J]. *Environ Chem(环境化学)*, 2015, 34(6): 1127-1133.
- [11] ASWATHI A, PANDEY A, SUKUMARAN R K. Rapid degradation of the organophosphate pesticide - Chlorpyrifos by a novel strain of *Pseudomonas nitroreducens* AR-3[J]. *Bioresour Technol*, 2019(292): 122025.
- [12] LI Y, WU C Y, LI W, et al. Isolation, identification of two chlorpyrifos-degrading strains and their mixed biodegradation characteristics of chlorpyrifos[J]. *Chin J Trop Crops(热带作物学报)*, 2017, 38(8): 1512-1518.
- [13] NASROLLAHI M, POURBABAIE A A, ETESAMI H, et al. Diazinon degradation by bacterial endophytes in rice plant (*Oryza sativa* L.): A possible reason for reducing the efficiency of diazinon in the control of the rice stem-borer[J]. *Chemosphere*, 2020(246): 125759.
- [14] ZHU X M, SCHROLL R, DÖRFLER U, et al. Inoculation of soil with an isoproturon degrading microbial community reduced the pool of "real non-extractable" isoproturon residues[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018(149): 182-189.
- [15] FERRARIO C, PITTINO F, TAGLIAFERRI I, et al. Bacteria contribute to pesticide degradation in cryoconite holes in an Alpine glacier[J]. *Environ Pollut*, 2017(230): 919-926.
- [16] ZHANG X, GAO Y G, ZANG P, et al. Study on the simultaneous degradation of five pesticides by *Paenibacillus polymyxa* from *Panax ginseng* and the characteristics of their products[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019(168): 415-422.
- [17] YANG Y W, MENG F S, GAO Y G, et al. Simultaneous determination of twenty ginsenosides in ginseng preparations by HPLC[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2016, 7(22): 131-135.
- [18] ZHANG X, GAO Y G, ZANG P, et al. Study on the simultaneous degradation of five pesticides by *Paenibacillus polymyxa* from *Panax ginseng* and the characteristics of their products[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019(168): 415-422.

收稿日期: 2022-01-28

(本文责编: 曹粤锋)