

T2-2 菌株对多菌灵的降解特性及生物修复试验

田连生, 陈菲

扬州工业职业技术学院, 扬州 225127)

摘要: 【目的】为获得降解多菌灵的微生物菌株,并用其制备生物修复剂,修复被污染的土壤。【方法】从耐药性木霉菌株诱变选育过程中,得到一株能降解多菌灵的变异菌株 T2-2。该菌株在多菌灵浓度 100 mg/L 无机盐培养基中,于 25℃、200 r/min 振荡培养取样,用 HPLC-MS 检测代谢产物;以玉米秸秆粉为原料经固体发酵制成 T2-2 生物修复剂;采用土壤人工接种,在 T2-2 菌剂接种量为 10^7 cfu/g 干土、多菌灵含量为 0.1 mg/g 干土时进行灭菌土和自然土壤的修复试验;另外,还做了 T2-2 菌剂对黄瓜枯萎病的活体防效试验。【结果】处理 2 d 的培养液, HPLC-MS 检测出代谢产物为:2-氨基苯并咪唑,苯并咪唑和 2-氨基苯腈,处理 5 d 的培养液经检测未发现多菌灵和代谢产物;土壤修复试验中,灭菌土壤中的多菌灵接种 6 d 被完全降解,而自然土壤中的多菌灵被完全降解缩短到 4 d。说明秸秆粉作为共代谢底物,促进了 T2-2 和土著微生物的共代谢降解作用;另外,T2-2 菌剂对黄瓜枯萎病的活体防治效果达到 81.7%,优于化学农药。【结论】木霉 T2-2 菌株即可降解土壤中的多菌灵,又可防治植物病害。

关键词: 木霉; 生物修复; 代谢物; 多菌灵

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2009) 07-0925-06

多菌灵 (Carbendazim) 化学名称为苯并咪唑-2-氨基甲酸甲酯,是一种广谱高效内吸性杀菌剂。我国 2007 年农药需求总量约为 29.9 万 t (有效含量),其中多菌灵需求量为 0.8~1.0 万 t,排在各种杀菌剂的前列,在蔬菜、农作物生产中被大量使用。多菌灵化学性质稳定,在环境中很难被水解、热解和光解,降解半衰期较长。易在蔬菜、果实和土壤中残留与累积,通过食物链影响人体健康^[1],使土壤中的微生物类群发生变化。以温室大棚为例,通过对棚内和棚外土壤生物检测得到:棚内土壤中多菌灵的残留量高达 9.6 mg/kg 干土,是棚外 6.7 倍,而真菌数量减少了 2 倍,细菌数减少 7.8 倍,放线菌数减少 5 倍。可见农药残留破坏了土壤生态平衡。本实验室在耐药性木霉菌株诱变选育过程中,得到一株变异

菌株 T2-2。该菌株除对土壤中多菌灵具有良好的降解性能外,还同时对土传性病原菌如尖镰孢菌 (*Fusarium sp.*)、灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) 引起的枯萎病、灰霉病具有很好防治效果。通过 T2-2 菌株对土壤中主要微生物类群的影响和生物安全性试验,证明该菌株对土壤中的真菌、放线菌没有明显影响,对细菌数量稍有增加,但差异不显著,对大鼠的急性经口和经皮毒性均属低毒类。具有生物安全性和环境友好性^[1]。本文探讨了 T2-2 菌株降解多菌灵的代谢产物和降解途径;研究了利用玉米秸秆为原料制备生物修复剂以及该菌剂对灭菌土、自然土壤中多菌灵的降解效果和对黄瓜枯萎病的活体防效试验。为土壤中农药残留的生物降解与植物病害生物防治的有机结合提供了参考依据,也为农作物秸

基金项目:江苏省自然科学基金 (BK2004325);省重大科技攻关项目 (BE2005175)

作者简介:作者简介:田连生 (1962-),男,河北保定人,研究员,从事生物农药及生物降解方面的研究工作。Tel/Fax: +86-514-87956783;

E-mail: lianshengt@163.com

收稿日期:2008-12-23;修回日期:2009-03-22

秆综合利用提供了新途径。目前,报道的多菌灵降解菌多是细菌^[6-11],而既对多菌灵具有较好降解性能又能防治植物病害的木霉菌株还未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株:木霉 (*Trichoderma* sp.) T2-2 菌株,是对本实验室高效生防菌株—哈茨木霉 T24 进行耐药性诱变选育时得到的变异菌株^[2]。该菌株能降解多菌灵,对多种病原菌有显著拮抗性,经继代培养具有稳定的遗传性;尖镰孢菌 (*Fusarium* sp.),由本实验室从感病黄瓜上分离、纯化得到。

1.1.2 培养基:① 固体培养基:玉米秸秆粉(20目) 10 g,葡萄糖 0.8 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 g, KH_2PO_4 0.1 g, 水 50 mL。先用水把葡萄糖和无机盐溶解后,再与玉米秸秆粉搅拌均匀。② 无机盐培养基: K_2HPO_4 5.71 g, KH_2PO_4 1.70 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.63 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.095 g, MnSO_4 0.05 g, FeSO_4 0.05 g, CaCl_2 0.003 g, 水 1000 mL, pH = 7.0

1.1.3 主要试剂和仪器:多菌灵(含量 99.1%)购自山东化扬科技股份有限公司;丙酮(含量 $\geq 95\%$)、甲醇(色谱纯)购自上海化学试剂公司;液质联用质谱仪 LCQ DECA XP Plus 购自美国 Thermo Finnigan 公司;ZHWHY-1102 恒温摇床购自上海智诚分析仪器制造有限公司。

1.2 种子液的制备

将 T2-2 菌株接种于 PDA 培养基上,于 25 °C 恒温培养 4 d,从菌落表面挑取绿色分生孢子,放入装有玻璃珠和 100 mL 无菌水的三角瓶中,280 r/min 振荡 30 min,用血球计数板对孢子悬浮液计数,控制分生孢子浓度为 10^8 cfu/mL。

1.3 菌株 T2-2 对多菌灵降解实验

在无机盐培养基中加入 100 mg/L 的多菌灵,以 5% 接种量接入 T2-2 种子液,于 25 °C、200 r/min 振荡培养。第 2 天,第 5 天分别取样 1 次,用 HPLC-MS 检测培养液中的多菌灵及代谢产物。

多菌灵及代谢产物测定:将培养液于 $12000 \times g$ 离心 15 min,上清液装入具塞有刻度的试管中,加入等体积丙酮,振荡 2 min 后,加入固体 NaCl 至溶液饱和后,放入热水浴中加热,使水相和 NaCl 沉淀中的丙酮分层。取出丙酮相于试管中,在室温下用氮气吹干,然后用色谱纯甲醇溶解定容,用 HPLC-MS 分析。采用液质联用质谱仪:LCQ DECA XP Plus

(Finnigan), C18 反相柱: (5C18-MS-II, 2.0 mm \times 150 mm),流动相为甲醇:水 = 1:1 (体积比),流速为 0.8 mL/min,检测波长 286 nm。采用电喷雾离子化源,正离子检测方式对代谢产物进行液质联用分析。

1.4 T2-2 生物修复剂的制备

在 500 mL 三角瓶中放入 20 g 固体培养基,调节初始 pH 为 5,灭菌后以 5% 接种量接入 T2-2 种子液,振荡搅匀,于 25 °C 发酵培养 6 d,取样干燥后用血球计数板测产孢量。固体发酵物自然风干后即可制成分生孢子量为 1.36×10^{10} cfu/g 的 T2-2 生物修复剂。

1.5 T2-2 修复剂在灭菌土壤中的降解效果

从农田取土去除沙石等杂物,于 170 °C 干热灭菌 2 h。将 100 mg 多菌灵 (0.1 mg/g 干土)和 5 g T2-2 生物修复剂 (接种量 10^7 cfu/g 干土)放入 150 mL 无菌水中制成悬浮液,再与 1000 g 过 10 目筛的灭菌土均匀混合,调节含水量达到 15%,然后放入已灭菌的花盆内。将盆口用纱布包扎好,于 25 °C 保湿培养,定时取样测定多菌灵含量,测定方法参见文献 [3];同时设 100 mg 多菌灵、5 g 固体培养基 (不接种 T2-2)和 1000 g 过 10 目筛的灭菌土混合为对照。每处理重复 3 次。以上操作均需在超净工作台上进行无菌操作。

1.6 T2-2 修复剂在自然土壤中的降解效果

依照 1.5 方法,将多菌灵、T2-2 修复剂和适量水制成悬浮液,与折合 1000 g 干土过 10 目筛的自然土壤混合均匀,调节含水量为 15%。同时设加入等量的固体培养基 (不接种 T2-2)、多菌灵和自然土混合为对照处理,每处理重复 3 次。将土盆置于 25 °C 保湿培养,定时取样测定多菌灵在土壤中的含量。

1.7 T2-2 修复剂对植物病害的防治效果

采用人工接种法进行活体盆栽防效试验。取 $\phi 300$ mm 花盆装满土,种植 8 株津青 1 号黄瓜,待长出 3 片叶后用小刀在远离植株根部插入,破坏根毛,分别设置 3 个处理: I 取一定量 T2-2 菌剂孢子悬浮液 (10^7 cfu/mL) 与等量尖镰孢菌孢子悬浮液 (10^5 cfu/mL) 混合后灌根; II 50% 速克灵可湿性粉剂 500 倍液与等量尖镰孢菌孢子悬浮液混合后灌根; III 取无菌水 (水中加入与 T2-2 菌剂等量的灭菌固体培养基)与等量尖镰孢菌孢子悬浮液 (10^5 cfu/mL) 混合后灌根 (对照)。每株灌液 6 mL,每处理 4 盆,重复 3 次。于 25 °C 保湿 7 d,调查瓜苗发病情况,计算发病率和防治效果。

发病率 = 感病株数/总株数 $\times 100\%$

防治效果 = (对照发病率 - 用药发病率) / 对照发病率 × 100%

2 结果和分析

2.1 T2-2 对多菌灵的降解途径及代谢产物

T2-2 菌株处理多菌灵 2 d 的培养液取样用 HPLC-MS 检测, 结果出现 4 个峰 (图 1), 结合质谱图 3 分析认为代谢产物分别为: 2-氨基苯腈、2-氨基苯并咪唑、苯并咪唑和残留的多菌灵, 保留时间分别为: 1.41, 1.81, 2.42 和 3.14 min。而 T2-2 处理多菌灵 5 d 的培养液中却未检测出代谢产物和多菌灵 (图 2)。表明 T2-2 菌株 5 d 已完全降解 100 mg/L 多菌灵, 且经过 10 次继代转接后降解效果稳定。

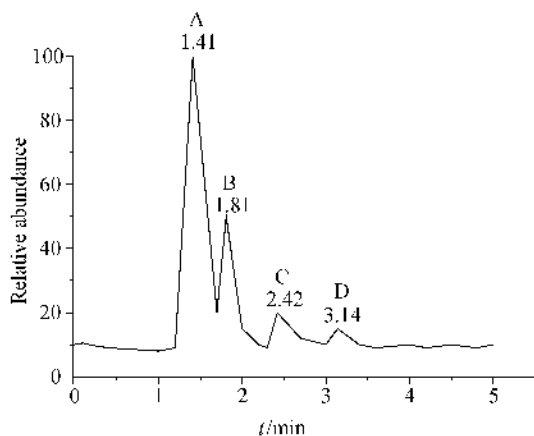


图 1 T2-2 降解多菌灵 2 d 的培养液 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of the culture filtrate for carbendazim after 2 d of incubation of the *Trichoderma* sp. T2-2. The metabolites were listed in the culture filtrate as (A) 2-aminobenzonitrile with a retention time of 1.41 minutes, (B) 2-aminobenzimidazole with a retention time of 1.81 minutes, (C) benzimidazole with a retention time of 2.42 minutes, and (D) carbendazim residue with a retention time of 3.14 minutes.

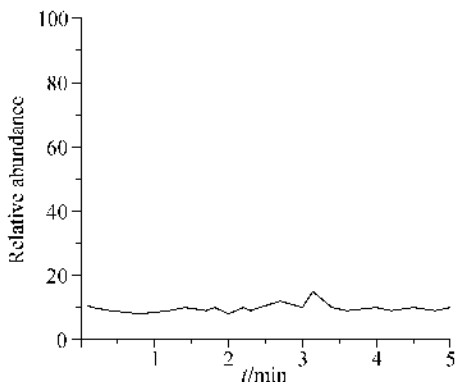


图 2 T2-2 降解多菌灵 5 d 的培养液 HPLC 色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of the culture filtrate for carbendazim after 5 d of incubation of the *Trichoderma* sp. T2-2.

通过图 1-图 3 分析, 认为 T2-2 菌株对多菌灵的

降解途径为: 首先 T2-2 产生的酯酶使多菌灵氨基甲酸酯的酯键断裂, 形成 2-氨基苯并咪唑, 进而继续转化成苯并咪唑、2-氨基苯腈, 再通过单加氧酶或双加氧酶将氧原子加在苯环上形成羟基团导致开环^[4], 最终可能被彻底矿化成二氧化碳和水。通过生物培养表明, T2-2 菌株能够以 2-氨基苯并咪唑、苯并咪唑和 2-氨基苯腈为唯一碳源生长, 这为多菌灵降解提供了条件。Fuchs 和 Vries^[5] 采用假单胞菌可降解多菌灵成为 2-氨基苯并咪唑, 但其降解菌不能以 2-氨基苯并咪唑为唯一碳源生长。

2.2 T2-2 菌剂在灭菌土壤中的降解效果

灭菌土壤中, T2-2 对多菌灵的降解效果见图 4。在接种 T2-2 的灭菌土壤中, 多菌灵降解非常迅速, 第 6 天已被完全降解, 而对照土壤中多菌灵的降解量只有 11.5 mg, 12 d 时也只被降解了 22 mg 多菌灵。相对于接种土壤来说对照土壤的降解速度慢很多, 表明 T2-2 是一株降解性能优良的菌株。由降解曲线显示: 开始接种的 2 d 内降解速率较慢, 只降解了 27.7 mg 多菌灵; 但在随后第 3 天、第 4 天这 2 d 内降解速度加快, 有 48.8 mg 多菌灵被降解; 而最后 2 d 降解速度又变慢, 只降解了 23.5 mg。这可能是刚施入土壤时, T2-2 分生孢子需要在土壤中定殖、萌发, 在第 3 天、第 4 天时随着 T2-2 菌株大量繁殖代谢, 提高了对多菌灵的降解速率, 而最后 2 d 随着土壤内营养成分减少, T2-2 菌株繁殖和代谢能力下降, 降解能力减弱所致。

2.3 T2-2 菌剂在自然土壤中的降解效果

自然土壤中接种 T2-2 菌剂, 对多菌灵的降解速度比对照土壤快很多。接种 4 d 多菌灵就被完全降解, 而对照土壤中的多菌灵此时只被降解了 34.2 mg, 培养 12 d, 也只降解了 49.2 mg。与 2.2 结果相比较, 多菌灵在自然土中的降解要比灭菌土中快, 接种 2 d 已被降解约 80%, 接种 4 d 自然土壤中的多菌灵已经检测不到。而灭菌土中的多菌灵接种 4 d 时只被降解了 76.5 mg, 6 d 才被降解完全, 自然土的残留期比灭菌土缩短了 2 d。这是由于玉米秸秆粉作为共代谢底物, 促进了自然土壤中土著微生物和 T2-2 的共代谢降解作用, 提高了对多菌灵的降解速度, 缩短了降解时间。

2.4 T2-2 菌剂对黄瓜枯萎病的防治效果

浓度为 10^7 cfu/mL 的 T2-2 菌剂孢子悬浮液、50% 速克灵可湿性粉剂 500 倍液对黄瓜枯萎病的防治结果。结果显示 (表 1), T2-2 菌剂对黄瓜枯萎病的防效达到 81.7%, 优于速克灵的防治效果

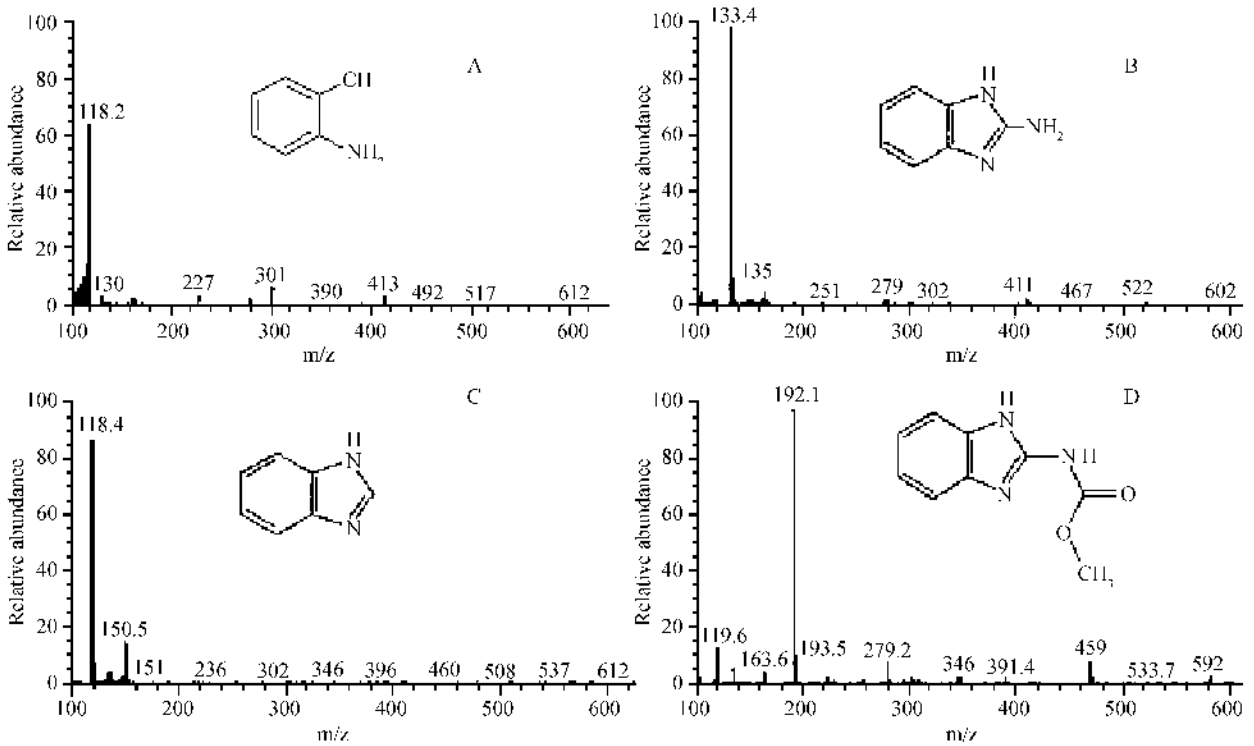
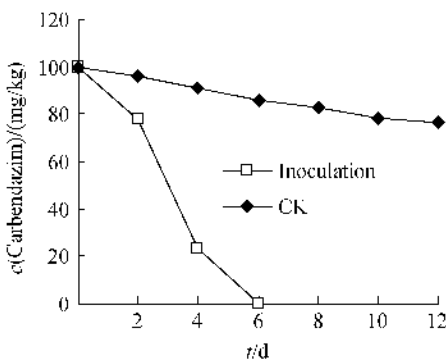
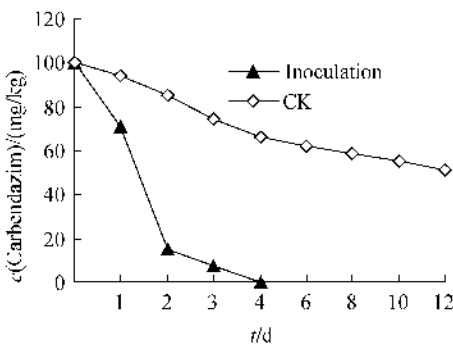


图3 T2-2 降解多菌灵 2 d 的代谢产物质谱图

Fig.3 Mass spectra of the metabolites detected after 2 d of incubation of the isolate. A: 2-amino benzonitrile with M^+ of $m/z = 118.2$; B: 2-aminobenzimidazole with M^+ of $m/z = 133.4$; C: benzimidazole with M^+ of $m/z = 118.4$; D: carbendazim with M^+ of $m/z = 192.1$.



4 T2-2 在灭菌土壤中对多菌灵的降解效果
Fig.4 The carbendazim degradation effect by T2-2 in sterilized soil.



5 T2-2 在自然土壤中对多菌灵的降解效果
Fig.5 The carbendazim degradation effect by T2-2 in soil

78.4%，且差异显著。另外，处理 15 d 后观察：T2-2 菌剂处理的瓜苗粗壮高大（平均株高高 1.2 cm），叶片深绿肥大，表明 T2-2 有一定促生长作用。这可能是 T2-2 产生的纤维素酶能把秸秆纤维素分解成葡萄糖等小分子有机物，这些有机物质既可作为 T2-2 生长和代谢的营养和能源，提高对病害的防治效果，又可作为营养被植物吸收促进植物生长。

表 1 T2-2 对黄瓜对枯萎病的防治效果

Table 1 Control effect of T2-2 against Fusarium wilt of cucumber

Treatment	Total plants /plant	infective plants/plant	Incidence /%	Control effect/%	Significance level/5%
I	32	4.5	14.1	81.7	a
II	32	5.3	16.6	78.4	b
III (Ck)	32	24.6	76.9	-	-

3 讨论

目前，污染土壤的生物修复主要有两种方法 [6]，一是在土壤中人工接种能降解污染物的微生物；二是通过改善土壤环境，特别是营养条件，激活土著微生物，去除污染物。本研究采用 T2-2 生物修复剂，进行土壤生物修复时可同时具有以上 2 种作用。因为未被发酵利用的秸秆粉随降解菌施入土壤，可以起到如下作用：一是使土壤变得松软、透气，

提高土壤的溶氧量,促进 T2-2 降解性能;二是 T2-2 代谢产生的纤维素酶,能分解秸秆纤维素,使之转化成葡萄糖等小分子有机物。这些有机物既可为降解菌 T2-2 在土壤中定殖和繁殖提供营养和能源,又可激活土著微生物的降解活性,达到 T2-2 和土著微生物的共代谢降解作用。这就解释了本实验中,自然土中多菌灵被完全降解时间比灭菌土缩短 2 d 的原因;三是土壤对加入的真菌具有抑制作用^[7]。秸秆粉的加入为土壤提供了额外碳源,可解除土壤抑真菌作用,加快 T2-2 分生孢子在土壤中萌发和繁殖,提高降解效果。

我国是农业大国,秸秆资源丰富,每年秸秆产量达 5.7—6 亿 t。由于没有切实可行的处理技术,大量农作物秸秆被露天焚烧,导致严重空气污染和资源浪费。本研究既利用了秸秆资源,又修复了污染土壤,还防治了植物病害,促进了植物生长,具有显著生态效应和较高经济效益。

4 结论

1) T2-2 对多菌灵具有优良降解性能,处理 5 d,可使 100 mg/L 多菌灵完全降解。处理 2 d 的培养液经 HPLC-MS 检测其代谢产物为:2-氨基苯腈、2-氨基苯并咪唑和苯并咪唑。且 T2-2 能以各代谢产物为唯一碳源生长。

2) T2-2 对多菌灵的降解途径可能为:T2-2 产生的酯酶使多菌灵中酯键断裂,形成 2-氨基苯并咪唑,进而又转化成苯并咪唑、2-氨基苯腈,再通过单加氧酶或双加氧酶将氧原子加入底物形成羟基团导致开环,最终被矿化成二氧化碳和水。

3) 人工接种 T2-2 菌剂,接种量为 10^7 cfu/g 干土,含水量 15% 时,自然土中多菌灵 0.1 mg/g 干土) 残留期为 4 d,而灭菌土中为 6 d。秸秆粉作为共代谢底物促进了土著微生物和 T2-2 的共代谢降解作用。

4) T2-2 菌剂对黄瓜枯萎病生防效果达到 81.7%,优于速克灵,且处理的瓜秧高大粗壮。表明 T2-2 生物修复剂不仅可降解多菌灵,还可防治植物病害,促进植物生长。

参考文献

[1] 马承铸,顾真荣.环境激素类化学农药污染及其监控.上海农业学报 (*Acta Agriculturae Shanghai*), 2003, 19 (4): 98—103.

[2] 庄敬华,陈捷,杨长成,等.生防木霉菌生物安全性评价.中国农业科学 (*Scientia Agricultura Sinica*), 2006, 39 (4): 715—720.

[3] 许敬亮,王志春,李顺鹏,等.多菌灵降解菌株 dj-6-1 的分离、鉴定及降解特性.中国环境科学 (*China Environmental Science*), 2006, 26 (3): 307—310.

[4] Mikio C, Raj P Singh. Highperformance liquid chromatographic method for simultaneous determination of benomyl and carbendazim in aqueous media. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1986, 34: 108—112.

[5] Holtman M A, Kobayashi D Y. Identification of *Rhodococcus erythropolis* isolates capable of degrading the fungicide carbendazim. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1997, 47: 578—582.

[6] Mazellier P, Leroy E, Laet J D, et al. Degradation of carbendazim by UV/H₂O₂ investigated by kinetic modelling. *Environmental Chemistry Letters*, 2003, 1: 68—72.

[7] 程洁红,李慧蓉.高效降解菌处理多菌灵农药生产废水的研究.上海环境科学 (*Shanghai Environmental Sciences*), 2003, 22 (10): 690—694.

[8] Anchana. Degradation of Carbendazim and 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid by Immobilized Consortium on Loofa Sponge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2004, 98 (1): 28—33.

[9] Pattanasupong A, Nagase H, Inoue M, et al. Ability of a microbial consortium to remove pesticide, carbendazim and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2004, 20: 517—522.

[10] Zhang GS, Jia XM, Ma XH, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of carbendazim-degrading bacterium strain. *Acta Microbiologica Sinica*, 2004, 44 (4): 417—421.

[11] 张丽珍,乔雄梧,马利平,等.多菌灵降解菌 NY97-1 的鉴定及降解条件.环境科学学报 (*Journal of Environmental Sciences*), 2006, 9: 1440—1444.

[12] 田连生.紫外光诱导哈茨木霉产生对多菌灵抗性菌株.农业环境科学学报 (*Journal of Agro-Environment Science*), 2007, 26 (1): 318—321.

[13] 金仁耀,桂文君,寿林飞,等.多菌灵在柑橘和土壤中的残留量及降解动态研究.江苏农业科学 (*Jiangsu Agricultural Sciences*), 2005, 2: 111—113.

[14] Fulthorpe RR, Rhodes AN, Tiedje JM. Pristine soils mineralize 3-chlorobenzoate and 2, 4-dichlorophenoxyacetate via different microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62 (4): 1159—1166.

[15] Fuchs A, Vries FWD. Bacterial breakdown of benomyl I. Pure cultures. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1978, 44: 284—292.

[16] 李顺鹏,蒋建东.农药污染土壤的生物修复研究进展.土壤 (*Soils*), 2004, 36 (6): 577—583.

[7] 许传坤,莫明和,张克勤.土壤对木霉生防菌株的抑制作用及这种作用的接触.南京师大学报 (*Journal of*

Nanjing Normal University), 2004, 27 (2): 77-80.

Characterization of a carbendazim-degrading *Trichoderma* sp. T2-2 and its application in bioremediation

Liansheng Tian^{*}, Fei Chen

(Yangzhou Polytechnic Institute, Yangzhou 225127, China)

Abstract: [Objective] To obtain carbendazim-degrading microbial strains, and to use them for bioremediation of contaminated soil. [Methods] A carbendazim-degrading bacterium T2-2 was isolated from the screening of drug-tolerated mutants *Trichoderma* strains. High-pressure liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) analysis showed the presence of the metabolites after shake incubation of the *Trichoderma* T2-2 at temperature 25°C, 200 r/min in mineral salt medium that contained 100 mg/L carbendazim. We prepared T2-2 bioremediation agents from crop straw through solid fermentation. By inoculating T2-2 in soil, we performed a bioremediation test of sterilized soil and original soil at 0.1 mg/g dry soil of carbendazim concentration and 10⁷ cfu/g dry soil of inoculating amount. In addition, we also conducted a control effect experiment of T2-2 against fusarium wilt of cucumber. [Results] The metabolites detected by HPLC-MS were 2-aminobenzimidazole, benzimidazole, and 2-aminobenzonitrile in the culture filtrate after 2 days of incubation. Carbendazim and metabolites could no longer be detected through the High-pressure liquid chromatography (HPLC) analysis in the culture filtrate after 5 days of incubation. In the soil bioremediation test, carbendazim in the sterilized soil was degraded completely after 6 days of inoculation, whereas the process only needed 4 days in original soil. It showed crop straw could function as co-metabolic substrate and promote co-metabolism of T2-2 and indigenous microorganisms. Moreover, the efficiency of T2-2 against cucumber fusarium wilt might reach 81.7%, which is superior to chemical pesticide. [Conclusion] T2-2 could degrade carbendazim in soil and thus control plant disease.

Keywords: *Trichoderma*; bioremediation; metabolites; carbendazim

(本文责编:王晋芳)