

四环素降解细菌菌群的富集驯化及特性研究

李昌宁¹, 韩冰², 茆士琴¹, 王嘉¹, 赵晓寅¹, 姚拓¹, 苏明¹,
杨鑫¹, 冉福¹, 滚双宝³

(1. 甘肃农业大学 草业学院/草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室/中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070; 2. 中国农业大学 草业科学与技术学院, 北京 100193; 3. 甘肃农业大学 动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为明晰四环素降解细菌菌群的生长特性及对盐酸四环素在不同培养条件下的降解效率,以猪粪为选菌材料,在基础无机盐培养基中(MM)加入初始浓度为 50 mg/L 的盐酸四环素依次富集驯化、传代培养直至盐酸四环素的浓度为 300 mg/L,经过 40 代的富集培养,细菌群组成达到稳定,生长特性试验结果表明:细菌群落的最佳培养时间为 30 h,此时 $D_{600\text{ nm}}$ 值达到最大,为 2.56;细菌群落生长的最适温度为 30℃,此时 $D_{600\text{ nm}}$ 值较 20℃、25℃、35℃、40℃处理分别提高 65%、19%、6%、51%,且各处理之间差异显著($P < 0.05$);细菌群落在不同的 pH 梯度(6、7、8、9)下各处理之间差异显著($P < 0.05$),最适宜 pH 为 7,较 pH 为 8 和 9 时 $D_{600\text{ nm}}$ 值分别提高 5% 和 12%,pH 为 6 时明显抑制菌群的繁殖。降解特性测定结果发现,细菌群落在 30℃、初始 pH 为 7、培养 7 d 时接种量(1%、2%、3%)对降解特性的影响差异不显著($P > 0.05$),碳源的添加会降低菌群对四环素的降解能力。

关键词:四环素降解菌群;富集驯化;生长特性;降解特性

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)03-0063-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2020.03.009

四环素类抗生素(Tetracycline antibiotics, TCs)能够干扰微生物的生长繁殖,并使微生物生理活性降低^[1],其作用机理是同氨酰 tRNA 结合从而抑制细菌蛋白的合成^[2]。在疾病治疗中,人类由于肺炎支原体导致的感染使用四环素类抗生素医治^[3];在畜牧养殖业中,作为兽用医药治疗肠胃,呼吸道和皮肤感染^[4],还可添加到饲料中促进牲畜如牛、猪、羊、家禽等^[5]的生长。盐酸四环素是四环素类抗生素之一,由于四环素良好的使用效果和广泛的适用范围,全球使用四

环素的总量逐年上升^[6],我国 2013 年使用四环素就达 1.2 万 t^[7],但相关研究表明 30%~90%的抗生素会随机体排泄物排放到环境中^[8]。残留有四环素的粪便若用于堆肥施入农田,或裸露于地表,经雨水冲刷流入湖泊或河流可引发环境污染问题,危害人体健康^[9]。

水、光照、氧化反应、微生物代谢等都可降解四环素^[10],对其降解可分为非生物途径和生物途径。微生物对四环素进行代谢转化,承担着自然界中大部分四环素的降解问题,因此在土壤的复杂微生物群落中涵盖着具有降解四环素能力的微生物^[11],其种类丰富且具多样性。沈颖等^[12]在堆肥中分离出 1 种放线菌属(*Actinomycete*)、4 种真菌(*Fungi*)、7 种革兰氏阳性菌和 7 种革兰氏阴性菌,都具有降解四环素的能力。张欣阳等^[13]从制药污水和污泥中分离得到四环素降解菌 *Advenella* sp.,在 30℃、pH 7 条件下对 50 μg/mL 四环素降解率为 57.8%。冯福鑫等^[14]从抗生素制药厂分离得到菌株 *Trichosporon mycotoxinivorans* XPY-10,在接种量 2%、温度 34℃、pH 8 的培养条件

收稿日期:2019-06-20; **修回日期:**2019-09-23

基金项目:甘肃省现代农业产业技术体系猪鸡产业岗位(GARS-ZJ-6);甘肃省委组织部省级重点人才项目“微生物肥料关键技术及产品研发”(NYRC2019-1113)

作者简介:李昌宁(1992-),男,甘肃通渭人,在读博士。

E-mail:1640432649@qq.com

姚拓为通讯作者。E-mail:yaotuo@gsau.edu.cn

下培养 7 d 后对 600 mg/L 盐酸四环素的降解率为 83.63%。

相比四环素母体,水、光照等会使四环素活性降低^[15],但代谢物质毒性却显著增大,会引起比四环素原药程度更大的二次污染问题,而微生物代谢四环素转化的最后产物为 H₂O 和 CO₂^[15],具有毒性代谢物小、用时少、条件简单、容易控制、成本较低、专一性较强、降解彻底等优点。对具有四环素降解能力的微生物,多数研究者分离筛选单菌株并研究其生长和降解特性。相较于四环素降解菌群,单菌株具有降解效率低,降解不彻底、适用范围小等缺点,因此四环素降解菌群的研究和应用具有较好的发展前景。

鉴于此,笔者从猪粪、堆肥、粪尿中富集驯化具有高效降解四环素能力的菌群,并全面研究菌群的生长特性和降解特性,明晰菌群对四环素在不同培养条件下的降解能力,为利用微生物高效降解环境中残留的四环素提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 选菌材料采自正大规模化养猪场的新鲜猪粪、猪粪堆肥和猪粪尿,该养猪场位于甘肃省黄河上游的皋兰县(E 104°14', N 36°51'),地处甘肃中部,海拔 2 000 m,年均气温 7.2℃,年均降水量 266 mm,年均蒸发量为 1 660 mm,年均日照 2 768 h,无霜期 144 d。

1.1.2 药品和培养基 无机盐液体培养剂:NaHPO₄ 1.5 g/L、NH₄Cl 1 g/L、NaCl 1 g/L、MgSO₄ 0.2 g/L、KH₂PO₄ 0.5 g/L;pH 7.0,补足蒸馏水至 1 L;

活化培养基:NH₄Cl 1 g/L、MgSO₄ 0.2 g/L、KH₂PO₄ 0.5 g/L、NaHPO₄ 1.5 g/L、NaCl 1 g/L、蛋白胨 10 g/L;pH 7.0,补足蒸馏水至 1 L;

药品:盐酸四环素(C₂₂H₂₄N₂O₈·HCl)购于 sigma 公司。

1.1.3 仪器设备 无菌操作台、台式摇床、高压灭菌锅、高效液相色谱仪、分光光度计等。

1.2 方法

1.2.1 菌群的富集和活化 称取 10 g 新鲜猪粪、10 g 猪粪堆肥和吸取 10 mL 粪尿,分别放在三角瓶中,并加入 90 mL 无菌生理盐水,加入玻璃珠辅助溶解,振荡后 25℃静置 20 min,取 10 mL 上清液,按 10%的接

种量接种于含 50 mg/L 四环素的基础无机盐培养基(简称:MM 培养基)中,固定在恒温摇床,30℃、180 r/min条件下进行避光培养,待培养液显著浑浊即可(约 3 d,记为第 1 代),逐次提高培养基中四环素浓度至 300 mg/L,定向富集驯化四环素降解菌群,依次传代培养至第 40 代,完成菌群的富集^[16]。

准确取四环素降解菌群 10 mL 于 90 mL 活化培养基中,于摇床 30℃,180 r/min 培养 2 d,完成菌群的活化^[16]。

1.2.2 菌群生长特性的测定 1)温度对降解菌群生长特性的影响:在 MM 培养基(pH=7)中加入 1%的菌液,设置温度梯度:20、25、30、35、40℃,摇床振荡培养 2 d 后测定菌群生长量($D_{600\text{ nm}}$)。

2)培养时间对降解菌群生长特性的影响:在 MM 培养基(pH=7)中加入 1%的菌液,在恒温摇床(30℃)中,分别振荡培养 6、12、18、24、30 和 36 h 后测定菌群生长量($D_{600\text{ nm}}$)。

3)pH 对降解菌群生长特性的影响:设计 MM 培养基的 pH 变化梯度为 6.0、7.0、8.0 和 9.0,加入 1%的菌液,在 30℃条件下,摇床振荡培养 2 d 后测定菌群生长量($D_{600\text{ nm}}$)。

4)菌群生长量测定方法:向降解菌液中加入 5 倍体积的水,使用可见分光光度计,参数设为 600 nm,生长量($D_{600\text{ nm}}$)=吸光度×5。

1.2.3 菌群降解特性的测定 1)温度对菌群降解特性的影响:试管中添加 9 mL MM 培养基,灭菌 26 min(121℃)。200 mg/L 四环素,1%的菌液,不同处理组设置不同的空白对照(以无菌水代替降解菌群),设置温度梯度:20、25、30、35、40℃,180 r/min 恒温摇床中避光培养 7 d^[16],按照 1.2.4 方法测定四环素含量,并计算其降解率。

2)培养时间对菌群降解特性的影响:试管中添加 9 mL MM 培养基,灭菌 26 min(121℃)。200 mg/L 四环素,1%的菌液,不同处理组设置不同的空白对照(以无菌水代替降解菌群),在 30℃、180 r/min 的恒温摇床中避光培养^[16],分别在 1、3、5 和 7 d 后按照 1.2.4 方法测定四环素含量,并计算其降解率。

3)pH 对菌群降解特性的影响:9 mL MM 培养基,通过加入 0.1% HCl 或 NaOH 溶液调 pH 值分别至 6.0、7.0、8.0 和 9.0,灭菌 26 min(121℃)。四环素初始浓度为 200 mg/L,加入 1%的四环素降解菌群,不同处

理组设置不同的空白对照(以无菌水代替降解菌群),在 30℃、180 r/min 的恒温摇床中^[16],避光培养 7 d,按照 1.2.4 方法测定四环素含量,并计算其降解率。

4) 接种量对菌群降解特性的影响:9 mL MM 培养基,灭菌 26 min(121℃)。200 mg/L 四环素浓度,四环素降解菌群接种量:0.5%、1%、2%、3%,不同处理组设置不同的空白对照(以无菌水代替降解菌群),在 30℃、180 r/min 的恒温摇床中^[16],避光培养 7 d,按照 1.2.4 方法测定四环素含量,并计算其降解率。

5) 不同碳源对菌群降解特性的影响:试管中添加 9 mL MM 培养基,分别加入葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖为碳源,使其浓度为 10 g/L,灭菌 26 min(121℃)。四环素初始浓度为 200 mg/L,加入 1% 的四环素降解菌群,不同处理组设置不同的空白对照(以无菌水代替降解菌群),在 30℃、180 r/min 的摇床中^[9],避光培养 2 d,按照 1.2.4 方法测定四环素含量,并计算其降解率。

1.2.4 四环素检测方法 常用的检测四环素含量的方法有理化性质法、微生物培养法、免疫法、化学发光法、分光光度计法^[17-21],理化性质法中的高效液相色谱法(HPLC)检测结果准确且操作简单,因此使用高效液相色谱仪检测四环素残留量。

将培养液离心 10 min,离心条件为 8 000 r/min、4℃,取 2 mL 上清液,加入同等体积的 Na₂ EDTA-McIlvaine 缓冲溶液^[22],由一次性注射器经 Φ0.22 μm 微孔滤膜打入液相样品瓶中。

色谱条件^[23]:C18 反相色谱柱(5 μm, 4.6 × 250 mm);流动相:68% 草酸溶液(0.01 mol/L),24% 乙腈,8% 甲醇;紫外检测器,波长 360 nm;柱温:25℃;进样量:10 μL;流速:1 mL/min;进样时间:3 min。

1.3 数据分析

用 Excel 2010 对原始数据进行整理,运用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA),采用 Origin 8.5 绘图。

2 结果与分析

2.1 菌群的生长特性

2.1.1 不同培养时间对菌群生长的影响 不同培养时间下菌群的生长表现为先上升后下降。0~6 h,菌群快速生长;6~12 h,菌群生长速率最高,进入对数生长期;12~30 h 菌群稳定生长,这是由于菌群持续生长,所需营养物质逐渐被消耗,且菌群降解四环素产

生的中间产物会不断积累,使生长速率下降;30 h 之后菌群的繁殖速率小于细胞自身衰亡速率,菌群数量下降(图 1)。

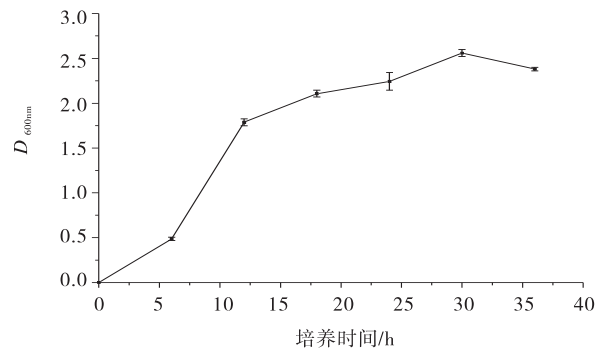


图 1 不同培养时间处理下菌群的生长

Fig. 1 Effect of incubation time on bacterial group growth

2.1.2 不同温度对菌群生长的影响 随着温度的升高生长量呈现先上升后下降的趋势。菌群的生长在温度过高(40℃)和过低(20℃)的环境中被显著抑制($P < 0.05$), $(30 \pm 5)^\circ\text{C}$ 对菌群生长有利。在 30℃ 时菌群生长量最高, $D_{600\text{ nm}}$ 为 2.52。相较于 20℃,菌群在 40℃ 下的生长量较高(图 2)。

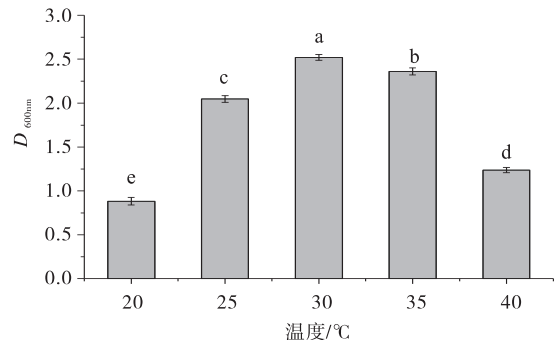


图 2 不同温度处理下菌群的生长

Fig. 2 Effect of temperature on bacterial group growth

2.1.3 不同初始 pH 对菌群生长的影响 初始 pH 为 6.0、7.0、8.0 和 9.0 时,对菌群降解均具有显著影响($P < 0.05$)。当初始 pH 为 7 时 $D_{600\text{ nm}}$ 最高,达 2.52;其中菌群对碱性环境有一定的耐受性,当初始 pH 达 8 和 9 时, $D_{600\text{ nm}}$ 分别为 2.39 和 2.22;而酸性环境显著抑制菌群的生长,最小 $D_{600\text{ nm}}$ 出现在初始 pH = 6 时(图 3)。

2.2 菌群降解四环素的特性

2.2.1 不同温度对菌群降解的影响 培养温度自 20℃ 起每增加 5℃ 至 40℃,四环素的降解率对应是 21.4%、50.7%、75.3%、29.7%、26.5%。其中,30℃

时菌株降解率最好,25℃时菌群降解率最低,说明低温使菌群活力下降,从而使菌群降解四环素能力减弱;培养过程中温度的增加利于菌群的良好生长,但升温较多,容易降低菌群活性并影响降解能力。与低温相比,菌群耐受高温能力高(图4)。

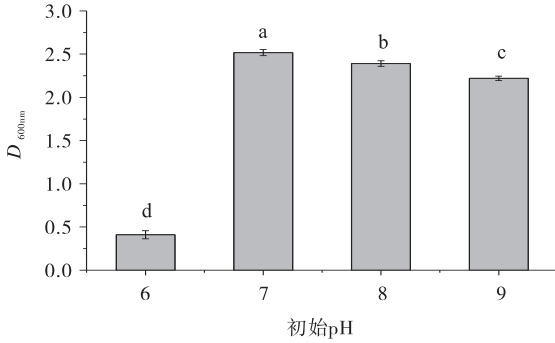


图3 不同初始 pH 处理下对菌群的生长

Fig. 3 Effect of initial pH on bacterial group growth

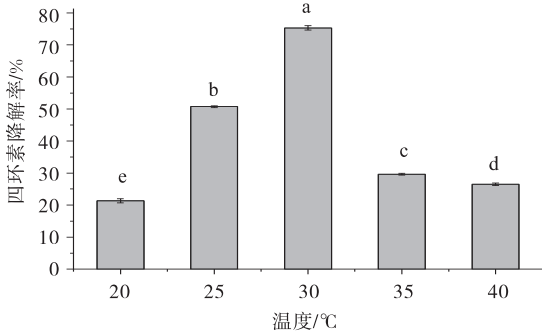


图4 不同温度处理下对四环素的降解率

Fig. 4 Effect of temperature on tetracycline degradation rate

2.2.2 不同培养时间对菌群降解四环素的影响 随着培养时间的增加四环素降解率持续上升,四环素降解率在第1 d最低,为14.6%;降解率在第7 d最高,达到75.9%;且第3到5 d降解率的增长速率最大,为57%。随着时间的增长,菌群降解四环素的能力上升(图5)。

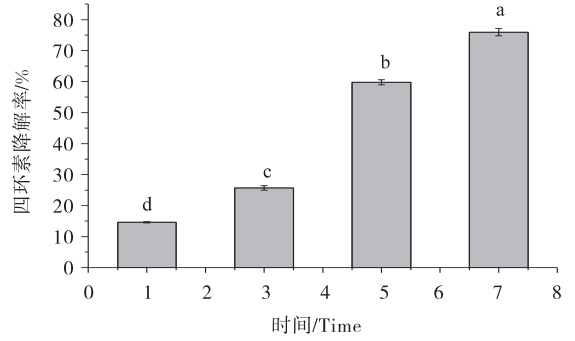


图5 不同培养时间对四环素的降解率

Fig. 5 Effect of incubation time on tetracycline

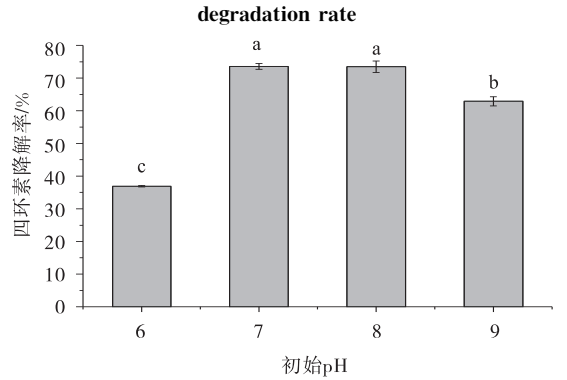


图6 不同初始 pH 对四环素有降解率

Fig. 6 Effect of initial pH on tetracycline degradation rate

(图7)。由于菌群降解四环素周期较长。接种量为1%、2%、3%时,四环素降解率差异不显著($P > 0.05$),在推广成本的考虑下,选择1%为适宜接种量。

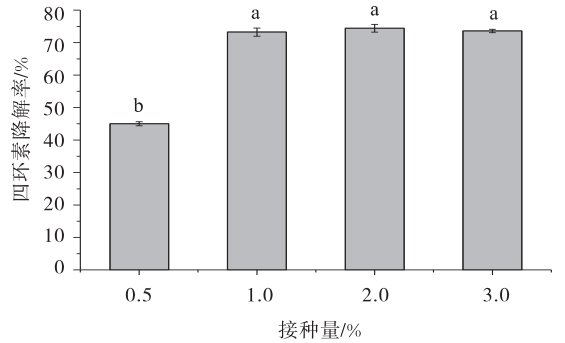


图7 接种量处理下四环素的降解率

Fig. 7 Effect of inoculation amount on tetracycline

degradation rate

2.2.3 不同初始 pH 对菌群降解四环素的影响 初始 pH 为6 时,培养 7 d 后菌群对四环素的降解率为 36.9%;当初始 pH 值升高后的四环素降解率显著高于 36.9%,最高降解率出现在初始 pH 为 7 时,达 73.6%;初始 pH 为 8 和 9 时的降解率分别为 73.5% 和 62.9%(图 6)。

2.2.4 不同接种量对菌群降解四环素的影响 接种量为 0.5% 时,四环素降解率为 45%,接种量为 1%、2%、3% 时四环素的降解率同比增长 63%、65%、64%

2.2.5 不同碳源对菌群降解四环素的影响 无碳源添加的条件下,1% 接种量时四环素的降解率为 73.3%,在接种量 1% 的条件下,外加碳源使菌群降解四环素的能力有所减弱。其中,麦芽糖的添加对菌群降解能力影响最大,降解率低至 44.6%;葡萄糖,乳糖和蔗糖的添加对四环素降解率影响较小,分别为 54.1%、51.8%、49.8%(图 8)。

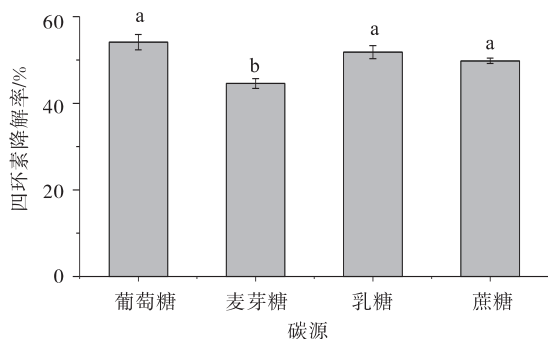


图8 不同碳源处理下四环素的降解率

Fig. 8 Effect of different carbon sources on tetracycline degradation rate

3 讨论

本研究表明,从猪粪,堆肥和新鲜猪粪尿中富集驯化的四环素降解菌群可以显著降解四环素,在最佳试验条件下(1%菌液、30℃、pH7、培养7 d),四环素降解率达75.9%,探讨降解菌群的适宜生长培养条件,可得出该菌群会因温度过低或过高生长受到抑制,30℃时生长量最大。在调整不同培养基初始pH的研究中得出菌群更适合在中碱性(pH 7~9)环境中生长,其生长在酸性(pH 6)环境中显著被抑制。冯福鑫等^[14]研究所得的酵母菌34℃、pH8条件下,对四环素的降解率为83.6%;张欣阳等^[13]研究的四环素降解菌在30℃、pH7的条件下对四环素降解率为57.8%。可以得出,本研究富集驯化出的四环素降解菌群的降解率为中等水平。培养基中营养物质的限制和有毒代谢物质的积累,菌群的生长曲线随着培养时间延长表现为先上升后下降,在适宜条件下培养30 h,菌群的生物量最高。

试验发现菌群的数量对降解率的影响不明显,而四环素的降解受温度、培养时间和pH的变化影响较大。温度升高,四环素的降解率表现为先上升后下降,温度与菌群的生长和降解四环素的能力紧密联系,30℃时降解率最大。培养时间增加,四环素降解率随之升高,菌群将四环素代谢转换为安全无害的物质如去酰胺土霉素,这一过程需要足够的时间来完成,当培养至第7 d,四环素降解率最大。研究中设定不同的MM培养基的初始pH表明,该菌群对酸性环境敏感,更适宜在中碱性条件下生长和降解四环素。在接种量为1%的基础上,培养基中额外添加葡萄糖、麦芽糖、乳糖和蔗糖,菌群降解四环素的能力减弱,这是由于碳

源阻遏效应,菌群在有速效的碳源、能源的环境中,会优先的利用速效碳源能源,那么参与其它碳源、能源的酶系的合成会受到相应的抑制,从而使菌群对四环素的降解率下降^[16]。本研究为四环素降解菌群应用于实际抗生素污染环境治理奠定了基础。

4 结论

四环素降解菌群对环境中残留的四环素有显著的降解作用,对四环素的降解率达75.9%。四环素降解菌群在温度为30℃、pH 7~8的条件下培养生长最适宜。四环素降解率受接种量的影响不显著,温度30℃、pH 7~8、接种量1%为适宜菌群降解四环素的培养条件,添加碳源会减弱菌群降解四环素的能力。

参考文献:

- [1] 张浩,罗义,周启星. 四环素类抗生素生态毒性研究进展[J]. 农业环境科学学报,2008(2):407-413.
- [2] 宋超. 四环素强化生物去除及其在自然水体中迁移转化规律的研究[D]. 济南:山东大学,2016.
- [3] Eliopoulos G M, Roberts M C. Tetracycline therapy: update[J]. Clin Infect Dis,2003,36(4):462-467.
- [4] Giguère S, Prescott J F, Dowling P M. Antimicrobial therapy in veterinary medicine[M]. John Wiley & Sons,2013.
- [5] Samanidou V F, Nikolaidou K I, Papadoyannis I N. Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of seven tetracycline antibiotics residues in milk according to the European Union Decision 2002/657/EC[J]. Journal of Separation Science,2007,30(15):2430-2439.
- [6] Ding X, Mou S. Ion chromatographic analysis of tetracyclines using polymer riccolumn and acidic eluent[J]. J Chromatogr A,2000,897(1):205-214.
- [7] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. Environmental Science Technology,2015,49(11):6772.
- [8] Halling-S rensen B. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming[J]. Chemosphere,2000,40(7):731-739.
- [9] Leng Y, Bao J, Chang G, et al. Biotransformation of tetracycline by a novel bacterial strain *Stenotrophomonas maltophilia* DT1[J]. Journal of Hazardous Materials,2016,318:125-133.

- [10] 李伟明, 鲍艳宇, 周启星. 四环素类抗生素降解途径及其主要降解产物研究进展[J]. 应用生态学报, 2012, 23(8): 2300—2308.
- [11] 刘伟, 王慧, 陈小军, 等. 抗生素在环境中降解的研究进展[J]. 动物医学进展, 2009, 30(3): 89—94.
- [12] 沈颖, 魏源送, 郑嘉熹, 等. 猪粪中四环素类抗生素残留物的生物降解[J]. 过程工程学报, 2009, 9(5): 962—968.
- [13] 张欣阳, 蔡婷静, 许旭萍. 一株高效四环素降解菌的分离鉴定及其降解性能研究[J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 173—180.
- [14] 冯福鑫, 许旭萍, 程群星, 等. 四环素高效降解酵母菌 *Trichosporon mycotoxinivorans* XPY-10 降解特性[J]. 环境工程学报, 2013, 7(12): 4779—4785.
- [15] 刘锋, 陶然, 应光国, 等. 抗生素的环境归宿与生态效应研究进展[J]. 生态学报, 2010, 30(16): 4503—4511.
- [16] 冷一非. 微生物降解四环素特性及降解机理研究[D]. 长春: 中国地质大学, 2017.
- [17] 栗慧, 李佳仪, 彭伟. 四环素类抗生素检测方法研究进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2018, 34(2): 41—45.
- [18] 刘畅. 食品中兽药残留高通量筛查与检测平台的建立及膳食暴露评估研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- [19] 薛晓锋. 蜂王浆中四环素族药物残留测定方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [20] 贾宝秀, 刘艳玲, 齐永秀, 等. 流动注射化学发光法测定鸡蛋中四环素的残留量[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(7): 425—428.
- [21] 范芳芳. 离子液体双水相气浮溶剂浮选/分离水中抗生素的研究[D]. 西安: 长安大学, 2014.
- [22] 陶美, 贺玉龙, 王林, 等. 四环素降解菌的筛选及其降解特性[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24(2): 384—389.
- [23] 赵永斌. 3种四环素类抗生素降解菌的筛选及降解特性的研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2015.

Enrichment, domestication and characterization of tetracycline-degrading bacteria communities

LI Chang-ning¹, HAN Bing², MAO Shi-qing¹, WANG Jia¹, ZHAO Xiao-yin¹,
YAO Tuo¹, SU Ming¹, YANG Xin¹, RAN Fu¹, GUN Shuang-bao³

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Education Ministry/Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province/Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China; 2. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The growth characteristics and degradation efficiency of tetracycline degrading bacteria communities under different culture conditions were studied. The candidate material (pig manure) samples were placed in tetracycline solution to screen the tetracycline degrading bacteria communities. The initial tetracycline concentration for isolation and enrichment was 50 mg/L and it was gradually increased to 300 mg/L in subculture. After 40 generations' acclimation, the composition of the bacterial community was stable. The result showed that the optimal culture time was 30 h, and the $D_{600\text{ nm}}$ reached 2.56. The appropriate temperature for the growth was 30°C, and the $D_{600\text{ nm}}$ was 65%, 19%, 6% and 51% higher than the treatments at 20°C, 25°C, 35°C and 40°C, respectively. The growth was also affected by pH value of solution. The most suitable pH was 7, in which, $D_{600\text{ nm}}$ was 5% and 12% higher than pH 8 and 9. However, the reproduction of bacterial community was inhibited when pH was 6. There was no significant difference in the effect of inoculum amount (1%, 2%, 3%) on the degradation characteristics at 30°C, pH 7 for 7 days. The addition of carbon source decreased the degradation rate.

Key words: tetracycline-degrading microbial community; enrichment and domestication; degradation characteristics