

氮磷肥料对 HB-5 菌株降解莠去津的促进作用及去毒效应的影响

苏郡, 朱鲁生*, 李絮花, 王军, 谢慧, 王金花, 王琪, 贾文涛

(山东农业大学资源与环境学院, 泰安 271018)

摘要:以莠去津降解细菌 HB-5 为研究对象, 进行了氮、磷肥单一及复合施肥对 HB-5 细菌降解土壤中莠去津的促进作用的研究, 探讨了莠去津降解率与土壤中速效氮、速效磷含量之间的关系及莠去津降解过程中生态毒性的变化情况. 莠去津在土壤中的残留采用高效液相色谱法进行测定; 土壤中速效氮和速效磷分别采用碱解扩散法及 0.5 mol/L-NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法测定; 土壤的生态毒性采用蚕豆根尖微核法进行测定. 结果表明, 在实验的前 5 d, 不论氮、磷肥单一或复合施肥均能够明显促进 HB-5 对莠去津的降解, 不同施肥条件下莠去津的降解速率依次为: 氮、磷肥复合 > 单施磷肥 > 单施氮肥 > 不施肥料对照; 实验 5 d 后, 各处理中莠去津降解率没有显著差异 ($p > 0.05$), 均达到了 95% 以上. 土壤中速效氮和速效磷含量随着莠去津的降解而呈现逐渐减少的趋势. 土壤的生态毒性试验结果表明, 莠去津经 HB-5 菌株降解后, 土壤的生态毒性显著降低; 各施肥处理土壤中莠去津的生态毒性均低于不施肥处理的土壤; 实验的前 5 d, 各处理土壤中生态毒性的大小依次为: 氮、磷肥复合 < 单施磷肥 < 单施氮肥 < 不施肥料对照. 实验 7 d 时, 各处理土壤中莠去津的生态毒性均恢复到空白对照水平. 氮磷肥料的施用不仅能促进 HB-5 菌株对土壤中莠去津的降解, 而且能加速降低土壤的生态毒性, 为莠去津污染土壤的快速修复提供了理论依据.

关键词:氮肥; 磷肥; 细菌 HB-5; 莠去津; 降解; 生态毒性

中图分类号: X502; X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)10-2475-06

Effects of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer on Atrazine Degradation and Detoxification by Degrading Strain HB-5

SU Jun, ZHU Lu-sheng, LI Xu-hua, WANG Jun, XIE Hui, WANG Jin-hua, WANG Qi, JIA Wen-tao

(College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: An atrazine-degrading strain HB-5 was used as a bacteria for biodegradation. Treatments of soil with nitrogen single, phosphate single and nitrogen phosphate together with HB-5 were carried out for degradation and eco-toxicity test; then, relationship between atrazine degradation rate and soil available nitrogen, available phosphorus were discussed. Atrazine residues were determined by HPLC; available nitrogen was determined with alkaline hydrolysis diffusion method; available phosphorus was determined with 0.5 mol/L-NaHCO₃ extraction and molybdenum stibium anti-color method, and toxicity test was carried out with micronucleus test of *Vicia faba* root tip cells. The results showed that: After separately or together application, nitrogenous and phosphorous fertilizers could significantly accelerate atrazine degradation than soil with HB-5 only. On day 5, the order of atrazine degradation was ANP > AP > AN > A; 7 days later, no statistically significant differences were found between treatments. The available nitrogen and phosphorus level in soil reduced as the degradation rate increased in the soil. The soil of eco-toxicity test results indicated that the eco-toxicity significantly reduced with the degradation of atrazine by HB-5, and the eco-toxicity on treatments of soil with fertilizer were all below the treatments without fertilizer. On day 5, the order of eco-toxicity was ANP < AP < AN < A; 7 days later, all treatments were decreased in control levels. So, adjusting soil nutrient content could not only promote atrazine degradation in soil but also could reduce the soil eco-toxicity effects that atrazine caused. All these results could be keystone of atrazine pollution remediation in contaminated soil in the future.

Key words: nitrogen fertilizer; phosphate fertilizer; bacterium HB-5; atrazine; degradation; eco-toxicity

莠去津 (atrazine), 又名阿特拉津, 是目前国内外广泛使用的三氮苯类除草剂^[1], 适用于玉米、高粱、甘蔗、茶园、果园等, 可防除一年生禾本科杂草和阔叶杂草, 对某些多年生杂草也有一定的抑制作用^[2]. 莠去津化学性质稳定, 残留期长, 多年的大量使用对土壤、地下水和地表水造成了严重污染^[3,4], 目前全球各地在雨水和大气中不断检测出莠去津及

其降解产物的存在, 而且其浓度远远超过美国环保署规定的安全浓度^[5-8]. 莠去津对多种动物的生长发育

收稿日期: 2009-12-09; 修订日期: 2010-01-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20477022, 40801203); “十一五”国家科技支撑计划项目 (2008BADA4B05)

作者简介: 苏郡 (1983~), 男, 硕士, 主要研究方向为土壤生物修复, E-mail: eti@sdau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: lushzhu@sdau.edu.cn

具有一定的影响,低剂量的莠去津就可以导致非洲爪蛙性别的改变^[9],女性长期接触莠去津会导致乳腺癌和卵巢癌的发生^[10].因此,研究莠去津污染的生态毒性及其污染修复是非常必要的.

国内外关于莠去津的残留、生态毒性、污染修复已经进行了大量研究^[11~17].而对于环境中莠去津的污染,微生物修复已经成为最重要的修复手段之一.自1995年Mandelbaum等^[18]从施用过莠去津的土壤中分离到假单胞菌ADP菌株以后,莠去津的生物降解研究获得了迅速发展,Satsuma等^[19]筛选出AN4微生物群体,该微生物群体能达到完全降解莠去津的目的;本实验室的刘爱菊^[20]和王倩等^[21]筛选出高效降解细菌HB-5,该菌株能在48 h内对200 mg/L的莠去津降解率达到95%以上,具有很快的降解速率.

微生物在对土壤污染的修复过程中会受到很多因素的影响,其中土壤中氮磷肥料会影响到微生物生长繁殖的营养供应,从而影响微生物对土壤中污染物的降解.关于施用肥料对土壤微生物降解农药的影响研究已有报道^[22].研究发现,增施5%牛粪

和玉米秸秆的混合肥料有利于莠去津的降解^[23];Kadian等^[24]研究发现添加沼泥、花蘑菇堆肥、农家肥和柠檬酸钠能促进土壤中莠去津的降解;谢文军等^[25]研究证明不同的施肥处理对土壤中氯氰菊酯的降解行为也有显著影响.但施用无机肥料对降解菌降解农药的影响研究却相对较少.本研究分析了3种不同施肥处理对高效降解细菌HB-5降解莠去津的影响,并通过蚕豆根尖微核实验测定了降解前后土壤中的生态毒性变化,以期农药污染土壤的微生物修复及修复的效果评价提供了借鉴.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试土壤

供试土壤采集于山东省泰安市山东农业大学玉米田教学基地的棕壤土.除去土壤表面的杂草、枯叶和1 cm左右的表层土后,采集耕作层土壤,采样深度约为20 cm.取回后,剔除石砾和植物残体等杂物,室温下风干,风干后过40目筛.供试土壤基本理化性质见表1.

表1 土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical character of silt loam

有机质 /mg·kg ⁻¹	速效钾 /mg·kg ⁻¹	有机氮 /mg·kg ⁻¹	速效磷 /mg·kg ⁻¹	田间最大 持水量/%	pH (H ₂ O)	黏粒 /%	粉粒 /%	砂粒 /%
17.6	125.7	132.3	18.4	18.5	7.6	10.4	57.7	31.9

1.1.2 供试农药

99.9%莠去津标样:Accustandard, Inc. (New Haven, CT)提供;95.5%莠去津原药:山东京博农化有限公司提供.

1.1.3 供试肥料

尿素和磷酸二氢钾,均为分析纯.

1.1.4 供试菌株

高效降解细菌HB-5:本实验室从生产莠去津农药厂的废水和污泥中分离所得.根据菌体形状,菌落形态、生理生化反应特性和16S rDNA等方法鉴定,该菌株属于革兰氏阳性好氧或兼性好氧杆菌中的节杆菌属(*A. rthrobacter* sp.)^[22],该菌株在GenBank上的注册序列号为GU459072.

1.1.5 仪器设备

高效液相色谱仪(美国Agilent, Agilent 1100);高速冷冻离心机(德国Eppendorf, Eppendorf 5804 R);显微镜(日本尼康, YS 100).

1.1.6 主要试剂

三氯甲烷、丙酮、无水硫酸钠、氯化钠、偏重亚硫

酸钠、氢氧化钠、碳酸氢钠、无水乙醇、冰乙酸、盐酸、硫酸,均为分析纯.

1.2 试验方法

1.2.1 降解菌的培养

将在活化培养基上培养48 h的菌株HB-5,转接到种子培养液中,摇床中培养24 h,然后从种子培养液中转适量菌于液体培养基中,摇床中培养48 h.

1.2.2 菌悬液的制备

将培养好的菌株在低温冷冻离心机中,15℃条件下8 000 r/min离心8 min,收集湿菌体,将菌体用20 mL (pH 7.0)的0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(Na₂HPO₄-NaH₂PO₄)洗涤3次,在上述条件下再离心8 min,然后用0.05 mol/L磷酸盐缓冲液与湿菌体旋涡振荡混匀待用.

1.2.3 土样处理方法

称取25.00 g土壤于125 mL棕色培养瓶中,加入丙酮配制的莠去津标准溶液,使土壤中莠去津含量为50.0 mg/kg,混合均匀并使丙酮充分挥发.实验设置4个不同处理组,分别为:①莠去津处理的土

壤(处理编号为 A);②莠去津处理的土壤 + 尿素(145 mg/kg)(处理编号为 AN);③莠去津处理的土壤 + 磷酸二氢钾(128 mg/kg)(处理编号为 AP);④莠去津处理的土壤 + 尿素(145 mg/kg) + 磷酸二氢钾(128 mg/kg)(处理编号为 ANP). 上述各处理的每个棕色瓶中加入 1.2.2 中混匀的菌悬液 0.5 mL, 使细菌 HB-5 添加量为 0.1 g 菌体/25 g 土. 调节土壤含水量至田间最大持水量的 60% 左右, 混匀后加棉塞, 置于 25℃ 恒温生化培养箱中进行黑暗培养, 培养过程中损失的水分每天通过称重法给予补充. 分别于处理后第 0、1、3、5、7、10、14 d 取土样测定. 每个处理设置 9 个重复, 其中 3 个重复用来测定莠去津的残留量; 3 个重复用来测定土壤中速效氮和速效磷含量; 3 个重复用来测定土壤的生态毒性.

1.2.4 土壤中莠去津的残留测定

土壤中莠去津提取和测定参照文献[15], 作适当修改, 具体步骤如下.

提取: 用 70 mL 丙酮冲洗棕色瓶中土壤, 转移至碘量瓶中, 振荡提取 1 h, 然后减压抽滤, 用 30 mL 丙酮分 3 次冲洗碘量瓶和滤渣, 滤液合并后, 转移至 500 mL 分液漏斗中, 用 50 mL CHCl_3 分 3 次洗涤抽滤瓶, 洗涤液合并到分液漏斗中, 加入 50 mL 3% 氯化钠溶液, 充分振荡混匀, 静置 30 min, 下层 CHCl_3 经无水硫酸钠干燥后滤入 250 mL 的平底球形烧瓶中. 上层再用 30 mL CHCl_3 萃取一次, 同样收集下层 CHCl_3 , 与第一次萃取 CHCl_3 合并. 收集的 CHCl_3 用旋转蒸发器于 45℃ 下浓缩至近干, 然后用色谱纯的甲醇定容到 10 mL, 最后用 HPLC 测定.

色谱条件: Eclipse XDB-C₁₈ 250 × 4.6 mm 色谱柱, UV 检测器, 自动进样装置, 流动相为甲醇/超纯水 = 70/30, 体积比, 流速 0.8 mL/min; 柱温 25℃, 检测波长 222 nm, 进样量 5 μL . 在该条件下, 莠去津的保留时间为 6.53 min, 且峰形好, 无杂质峰干扰. 土壤中添加莠去津 0.5、5、50 $\mu\text{g/g}$ 这 3 个浓度的标准添加回收率为 92.6% ~ 102.5%, 上述条件下莠去津的最小检测限(LOD)为 0.5 ng, 方法的最小定量限(LOQ)为 0.05 $\mu\text{g/g}$.

1.2.5 速效氮和速效磷测定方法

速效氮: 碱解扩散皿法测定^[26].

速效磷: 0.5 mol/L NaHCO_3 浸提-钼锑抗比色法测定^[26].

1.2.6 土壤生态毒性试验

采用蚕豆根尖微核试验方法测定土壤生态毒性^[27]. 用去离子水 125 mL(水土比为 5:1)冲洗棕色

瓶中土壤, 转移至碘量瓶中, 在摇床上充分振荡 15 min, 静置提取 24 h, 取上清液备测^[27]. 蚕豆根尖微核试验按常规方法进行^[28], 选取 6 粒初始根生长良好、根长较一致的种子放入到培养皿中, 将蚕豆的根部在土壤浸提液中处理 5 h, 同时设去离子水作为空白对照(CK). 将处理后的根尖修复培养后剪下, 卡诺氏固定液中固定 24 h. 水解后用 Schiff 试剂染色. 在载玻片上切取 1~2 mm 左右的根尖, 在高倍镜下观察统计小型间期细胞微核率(MCN %). 每个处理统计 4 个根尖, 每个根尖统计 1 000 个细胞.

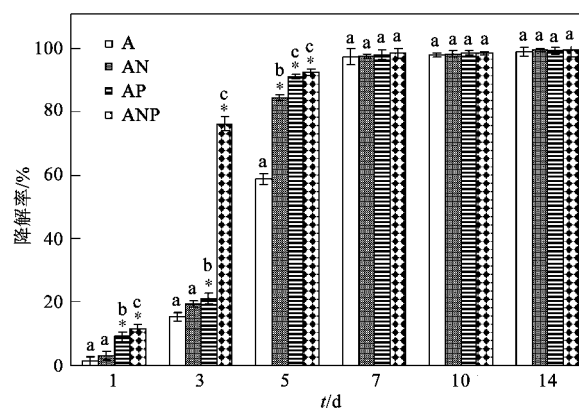
1.3 数据分析方法

采用 SPSS 17.0 进行数据分析, 样品与对照组之间用单因素方差分析(one-way ANOVA)中的 LSD 检验对试验数据进行统计分析, 结果以均数 ± 标注差(mean ± SD, $n = 3$)表示.

2 结果与讨论

2.1 不同施肥条件对高效降解菌 HB-5 降解莠去津的影响

不同施肥处理对土壤中莠去津降解的影响, 结果见图 1.



“*”表示施肥处理和不施肥处理之间存在着显著性差异($p < 0.05$), 字母不同代表组间存在着显著性差异($p < 0.05$)

图 1 不同施肥处理对土壤中莠去津降解的影响

Fig. 1 Effects of different fertilization treatments on degradation of atrazine in soils

从图 1 可以看出, 实验的前 5 d, 不论氮、磷肥单一或复合施肥均能明显促进 HB-5 对莠去津的降解, 不同施肥处理对 HB-5 促进效果不同, 其中氮、磷肥复合施用的促进作用大于单施氮肥或磷肥, 不同施肥条件下莠去津的降解速率依次为: 氮、磷肥复合 > 单施磷肥 > 单施氮肥 > 不施肥料. 该结果与张超兰等^[29]报道的氮磷无机营养物质对莠去津消解

影响的研究结果(氮磷肥齐施 > 单施氮肥 > 单施磷肥 > 不施肥料)相似,但不完全相同.相同的是施肥均能促进微生物对莠去津的降解,不同的是降解速率的排序.不完全相同的原因可能是不同降解菌群在降解农药时对营养需求不同的缘故^[30];关于施肥促进微生物降解莠去津的机制可能是氮肥和磷肥料为降解菌HB-5提供了一定的营养物质,从而使其生长繁殖加快,表现出土壤中莠去津的降解速度加快,但其详细机制还有待进一步研究.7 d后各处理中莠去津降解率没有显著差异($p > 0.05$),均达到了95%以上;分析原因可能是降解菌HB-5在土壤中具有较强的生存和适应能力,降解菌优先利用土壤中施用的速效氮磷肥料作为其生长和繁殖的营养物质,随着时间的延长,降解菌逐渐适应了土壤环境,对土壤中各种营养的利用能力趋于平衡,而对施肥提供的速效养分依赖减轻,从而使各处理中莠去津降解率不再表现出显著差异.

2.2 土壤中速效氮和速效磷的变化

图1表明,在第7 d时4个处理组土壤中莠去津降解率均达到了95%以上,为了解莠去津降解与土壤中速效氮和速效磷之间的关系,对处理后第0、1、3、5、7 d土壤中速效氮和速效磷进行测定,结果见图2~3.

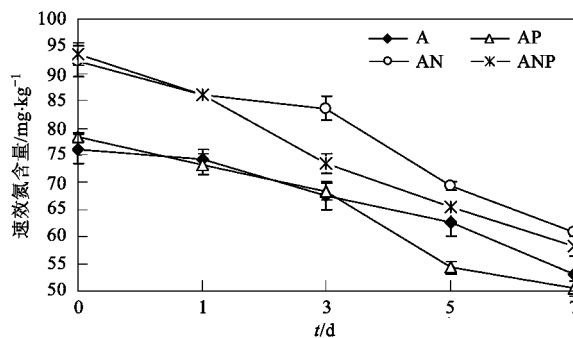


图2 不同施肥处理下土壤中速效氮含量的变化

Fig.2 Change of soil available nitrogen content under different fertilization treatments

由图2~3看出,4个处理的速效氮和速效磷含量均随着莠去津降解的进行而逐渐减少.产生这个结果的原因可能是土壤中添加的肥料为降解菌HB-5和土著微生物提供了充足的养分,使土壤中微生物的活性增强,微生物繁殖速度加快,微生物的数量增加,对土壤中速效氮和速效磷的利用增加.从而表现出土壤中速效氮和速效磷的含量随着降解菌对莠去津的降解而逐渐减少.由于施用的肥料种类不

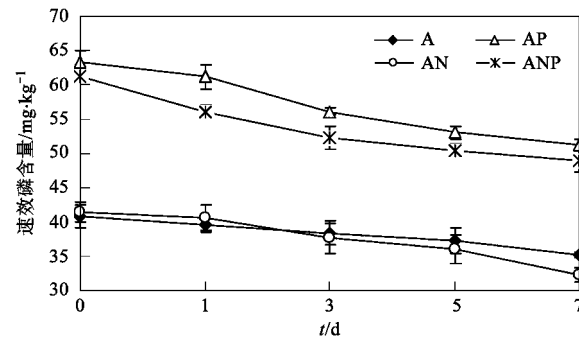


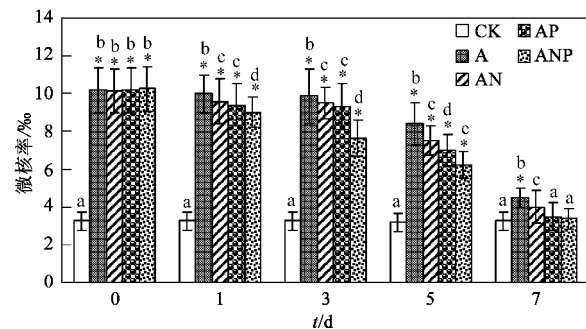
图3 不同施肥处理下土壤中速效磷含量的变化

Fig.3 Change of soil available phosphorus content under different fertilization treatments

同,微生物对各种肥料的利用程度不同,从而表现出各种肥料随莠去津降解而发生的变化存在差异.

2.3 莠去津降解与土壤生态毒性的关系

由图1可知,在7 d时4个处理组土壤中莠去津降解率均达到了95%以上,为了解莠去津降解与土壤生态毒性之间的关系,对第0、1、3、5、7 d土壤的生态毒性采用蚕豆根尖微核试验方法进行了测定,结果见图4.



CK 为去离子水空白对照组;“*”表示处理和CK之间存在着显著性差异($p < 0.01$)

字母不同代表组间存在着显著性差异($p < 0.01$)

图4 莠去津降解过程中蚕豆根尖细胞微核率变化

Fig.4 Change of micro nucleus rate of *Vicia faba* in the process of atrazine degradation

由图4可见,降解前,土壤中莠去津对蚕豆根尖细胞的微核率是空白对照的3倍.随着莠去津降解的不断进行,土壤中莠去津的含量逐渐减少,莠去津对蚕豆根尖细胞的微核率也不断减少.实验的前5 d,各施肥处理的蚕豆根尖微核率比不施肥处理的蚕豆根尖微核率减少的快,并且存在差异显著($p < 0.01$)现象,这说明各施肥处理土壤中莠去津的生态毒性均低于不施肥处理的土壤.同时各施肥处理

中蚕豆根尖细胞微核率减少速度不同,也存在差异显著($p < 0.01$),说明各施肥处理土壤中生态毒性降低的速度不同,土壤中生态毒性大小依次为:氮、磷肥复合 < 单施磷肥 < 单施氮肥. 莠去津降解 7 d 时,各处理的微核率几乎都恢复到空白对照组水平,说明莠去津在土壤中的生态毒性随着莠去津降解的不断进行而逐渐减小,最终基本去除.

在土壤中莠去津降解过程中,各处理中莠去津的残留量逐渐减少,其他因素基本不变. 因此,随着莠去津降解时间的延长,各处理土壤中的毒性变化可以认为是土壤中莠去津的含量不断减少导致的,表现出较好的剂量(土壤中莠去津残留量)效应(蚕豆根尖微核率)关系. 产生这种结果的原因可能是莠去津在 HB-5 菌株的作用下,转变为低毒的氰尿酸或者彻底被降解为几乎无毒的 CO_2 和 NH_3 ^[31,32],降低了土壤生态毒性效应,从而减小了对蚕豆根尖细胞微核率的影响.

3 结论

(1) 在实验的前 5 d,不论氮、磷肥单一或复合施肥均能够明显促进 HB-5 对莠去津的降解,不同施肥处理对 HB-5 促进效果不同,氮、磷肥复合的促进作用大于单一作用,7 d 后各处理降解率没有显著差异($p > 0.05$),并且均达到了 95% 以上.

(2) 土壤中速效氮和速效磷可以作为菌株 HB-5 营养物质供其生长繁殖使用,速效氮和速效磷的含量均随着莠去津降解进行而逐渐减少.

(3) 莠去津经 HB-5 菌株降解后,土壤的生态毒性显著降低;各施肥处理土壤中莠去津的生态毒性均低于不施肥处理的土壤,实验的前 5 d,各处理土壤中生态毒性大小依次为:氮、磷肥复合 < 单施磷肥 < 单施氮肥 < 不施肥料对照;实验 7 d 时,各处理土壤中莠去津的生态毒性均基本恢复到空白对照水平.

参考文献:

- [1] Smith D, Alvey S, Crowley D E. Cooperative catabolic pathways within an atrazine-degrading enrichment culture isolated from soil [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2005, **53**(2):265-275.
- [2] Graymore M, Stagnitti F, Allinson G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems [J]. Environ Int, 2001, **26**(7-8):483-495.
- [3] Du Preez L H, Van Rensburg P J, Jooste A M, et al. Seasonal exposures to atrazine and other pesticides in surface waters in the Western Highveld corn-production region in South Africa [J]. Environ Pollut, 2005, **135**(1):131-141.
- [4] Gu J G, Fan Y Z, Gu J D. Biodegradability of atrazine, cyanazine and dicamba under methanogenic condition in three soils of China [J]. Chemosphere, 2003, **52**(9):1515-1521.
- [5] Popov V H, Cornish P S. Atrazine tolerance of grass species with potential for use in vegetated filters in Australia [J]. Plant Soil, 2006, **280**(1-2):115-126.
- [6] 邓建才, 蒋新, 王芳, 等. 潮土中阿特拉津解吸滞后特征 [J]. 环境科学, 2005, **26**(6):137-142.
- [7] Selim H M, Zhu H. Atrazine sorption-desorption hysteresis by sugarcane mulch residue [J]. J Environ Qual, 2005, **34**(1):325-335.
- [8] Krutz L J, Gentry T J, Senseman S A, et al. Mineralisation of atrazine, metolachlor and their respective metabolites in vegetated filter strip and cultivated soil [J]. Pest Manag Sci, 2006, **62**(6):505-514.
- [9] Withgott J. Amphibian decline: ubiquitous herbicide emasculates frogs [J]. Science, 2002, **296**(5567):447-448.
- [10] Fan W Q, Yanase T, Morinaga H, et al. Atrazine-induced aromatase expression is SF-1 dependent: implications for endocrine disruption in wildlife and reproductive cancers in humans [J]. Environ Health Persp, 2007, **115**(5):720-727.
- [11] Song Y, Zhu L S, Wang J, et al. DNA damage and effects on antioxidative enzymes in earthworm (*Eisenia foetida*) induced by atrazine [J]. Soil Biol Biochem, 2008, **41**(5):905-909.
- [12] 王秀国, 朱鲁生, 王军, 等. 细菌 HB-5 对除草剂莠去津酶促降解的初步研究 [J]. 环境科学学报, 2006, **26**(4):579-583.
- [13] 王军, 朱鲁生, 谢慧, 等. POPs 污染物莠去津在长期定位施肥土壤中的残留动态 [J]. 环境科学, 2007, **28**(12):2821-2826.
- [14] 朱鲁生, 辛承友, 王倩, 等. 莠去津高效降解细菌 HB-5 的固定化研究 [J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(5):1271-1275.
- [15] Miller D J, Hawthorne S B, Clifford A A. Solubility of chlorinated hydrocarbons in supercritical carbon dioxide from 313 to 413 K and at pressures from 150 to 450 bars [J]. J Supercrit Fluid, 1997, **10**(1):57-63.
- [16] Song Y, Zhu L S, Xie H, et al. Effects of atrazine on DNA damage and antioxidative enzymes in *Vicia faba* [J]. Environ Toxicol Chem, 2009, **28**(5):1059-1062.
- [17] Dong X L, Zhu L S, Wang J H, et al. Effects of Atrazine on Cytochrome P450 enzymes of Zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2009, **77**(3):404-412.
- [18] Mandelbaum R T, Allan D L, Wackett L P. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. That mineralizes the s-triazine herbicide atrazine [J]. Appl Environ Microbiol, 1995, **61**(4):1451-1457.
- [19] Satsuma K. Complete biodegradation of atrazine by a microbial community isolated from a naturally derived river ecosystem (microcosm) [J]. Chemosphere, 2009, **77**(4):590-596.
- [20] 刘爱菊. 阿特拉津高效降解细菌的筛选及降解性质研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2003.
- [21] 王倩, 朱鲁生, 王军, 等. 莠去津降解菌 HB-5 的最佳产酶培养基及发酵条件 [J]. 环境科学学报, 2008, **28**(2):299-304.
- [22] Bacci E, Calamari D, Gaggi C, et al. An approach for the

- prediction of environmental distribution and fate of cypermethrin [J]. *Chemosphere*, 1987, **16**(7):1373-1380.
- [23] Moorman T B, Cowan J K, Arthur E L, *et al.* Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils [J]. *Biol and Fert Soils*, 2001, **33**(6):541-545.
- [24] Kadian N, Gupta A, Satya S. Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials [J]. *Bioresource Technol*, 2008, **99**(11):4642-4647.
- [25] 谢文军, 周健民, 王火焰, 等. 不同施肥条件下氯氟菊酯对土壤酶活性的影响及其降解差异[J]. *水土保持学报*, 2006, **20**(4):127-131.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [27] 宋玉芳, 周启星, 宋雪英, 等. 土壤整体质量的生态毒性评价[J]. *环境科学*, 2005, **26**(1):130-134.
- [28] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 765-770.
- [29] 张超兰, 徐建明. 氮磷无机营养物质对莠去津在土壤中消解的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(5):1694-1697.
- [30] Leys N M, Bastiaens L, Verstraete W, *et al.* Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Mycobacterium* and *Sphingomonas* in soil [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2005, **66**(6):726-736.
- [31] 代先祝, 蒋建东, 顾立锋, 等. 阿特拉津降解菌 SA1 的分离鉴定及其降解特性研究[J]. *微生物学报*, 2007, **47**(3):544-547.
- [32] 朱希坤, 李清艳, 蔡宝立. 节杆菌 AD26 的分离鉴定及其与假单胞菌 ADP 对阿特拉津的联合降解[J]. *农业环境科学学报*, 2009, **28**(3):627-632.