

乙草胺降解菌 A-3 的筛选及其降解特性

董滨¹, 王凤花^{2,3}, 林爱军^{2,3*}, 于彩虹⁴, 郭兰萍⁵, 谢文娟^{2,3}, 冯流², 胡莹³

(1. 同济大学城市污染控制国家工程研究中心, 上海 200092; 2. 北京化工大学环境科学与工程系, 北京 100029; 3. 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085; 4. 中国矿业大学(北京校区)化学与环境工程学院, 北京 100083; 5. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要:采用富集培养的方法从农药厂污泥和长期受乙草胺污染的土壤中分离到 1 株能以乙草胺为氮源生长的细菌命名为 A-3, 经 16S rRNA 鉴定, 菌株 A-3 属于粘着剑菌属(*Ensifer adhaerens*)。研究表明, 菌株 A-3 能以乙草胺作为唯一氮源生长并高效降解乙草胺。在含 10 mg/L 乙草胺的无机盐培养基中培养 10 d 后, 菌株 A-3 对乙草胺的降解率为 33.6%。培养基的组成可影响菌株 A-3 的生长和对乙草胺的降解。碳源种类不同, 菌株 A-3 的生长能力和降解能力也不同, 其中在以蔗糖为碳源时 A-3 的生长能力最强, 其 D_{600} 值为 0.55, 而降解率仅有 9.4%; 而在以葡萄糖为碳源时菌株 A-3 的生长量 D_{600} 只有 0.3, 但 A-3 对乙草胺的降解能力最强, 其降解率为 29.2%。培养基中的盐浓度也影响菌株的生长和对乙草胺的降解, 在 NaCl 浓度为 0.5% 时, A-3 生长能力和降解能力最高, 降解率可达 35%; 但当 NaCl 浓度达到 7% 时, A-3 的生长受抑制, 且对乙草胺的降解率仅有 2.6%。研究表明, 菌株 A-3 能高效降解乙草胺, 而且菌株的生长和降解过程受环境介质的影响, 可以通过改变培养基的成分来调控菌株 A-3 对乙草胺的降解。

关键词:乙草胺; 微生物降解; 氮源; 盐浓度; 碳源

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)02-0542-06

Isolation and Degradation Characteristics of Acetochlor-degrading Strain A-3

DONG Bin¹, WANG Feng-hua^{2,3}, LIN Ai-jun^{2,3}, YU Cai-hong⁴, GUO Lan-ping⁵, XIE Wen-juan^{2,3}, FENG Liu², HU Ying³

(1. National Engineering Research Center for Urban Pollution Control, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Department of Environmental Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China; 3. Department of Soil Environmental Sciences, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 4. College of Chemistry and Environment Engineering, China University of Mining and Technology (Beijing Campus), Beijing 100083, China; 5. Institute of Chinese Material Medical, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: The strain A-3 which could use acetochlor as the sole nitrogen source was isolated from soils contaminated with acetochlor and the sludge of pesticide factory by enrichment culture. The strain was identified as *Ensifer adhaerens* according to the results of morphology, physiology, and the phylogenetical analyses of 16S rRNA sequence. It was observed that the degradation rate of acetochlor by strain A-3 was 33.6% after 10 days culture at the concentration of 10 mg/L. The composition of the culture could affect the growth of A-3 and the degradation of acetochlor. The growth and degradation ability of strain A-3 were different with the different carbon sources. The strain had the strangest growth capability with the D_{600} value of 0.55, but the degradation rate was only 9.4% when using sucrose as carbon source. However, the strain A-3 had the highest degradation rate up to 29.2%, although the D_{600} value was only 0.3 when using glucose as carbon source. When the NaCl concentration was 0.5%, the strain A-3 grew best and had the highest degradation rate of 35%, but when the NaCl concentration was higher than 7%, the growth of A-3 was inhibited and the degradation rate was reduced to 2.6%. The results showed that the strain A-3 could degrade acetochlor effectively and the growth and degradation process was affected by environmental media, and the degradation of acetochlor could be controlled by changing the composition of the culture.

Key words: acetochlor; biodegradation; nitrogen source; salt concentration; carbon source

土地是人类社会赖以生存的基础^[1], 但是随着工业发展引起的污染物排放以及农业化学物质的使用, 大量的化学物质进入环境, 引起了包括土壤污染在内的环境污染^[2~4]。为了控制农业生产过程中病虫害对农业生产的影响, 农药已日益成为农业生产中不可缺少的生产资料, 除草剂等化学农药的施用一直是保证粮食作物增产、稳产的重要的和有效的手段之一。农药的广泛使用在给人类带来增产增

收效益的同时也给环境造成了严重的污染, 尤其是除草剂的残留期一般较长, 容易引起土壤和水体污染, 使得农药施用和环境质量之间的矛盾日益突

收稿日期: 2010-04-30; 修订日期: 2010-07-06

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA10Z404); 国家自然科学基金项目(40901149); 中央高校基本科研业务费项目(ZZ01005)

作者简介: 董滨(1978~), 男, 博士, 主要研究方向为污水处理。

* 通讯联系人, E-mail: linaj@mail.buct.edu.cn

出^[5,6],因此控制除草剂引起的污染亟待解决.乙草胺是属于广谱、高效的选择性芽前土壤处理除草剂,具有用量少、杀草活性高、选择性强等特性,被广泛用于玉米、棉花、花生和大豆田防除1年生禾本科杂草和某些1年生阔叶杂草^[7~11],已经成为我国用量最大的3种除草剂之一^[12],但是过量、频繁施用乙草胺已经引起了一定程度的环境污染,改变了生态环境质量,并潜在着威胁了人类健康^[13~20],美国环保局已经将乙草胺定为B-2类致癌物^[21].

控制环境中的乙草胺污染是目前人们关注的一项重要重要研究内容,而微生物是农田农药残留的主要降解者,因其具有针对性强、周期短、见效快等优势,逐渐成为农药污染土壤生物修复的热点,但目前关于乙草胺生物降解的研究还较少^[16].研究表明,微生物能否利用有机物是取决于有机物分子结构的复杂性、稳定程度以及微生物酶活性等.乙草胺属苯环类物质,苯环结构上带有甲基($-\text{CH}_3$)和乙基($-\text{C}_2\text{H}_5$)2个取代基和含氯基团,因此使得乙草胺的好氧生物降解性较差,属于难生物降解有机物^[22~24].因此亟待加强乙草胺微生物降解的研究,以控制其残留污染.

本研究采用富集分离的培养方式从农药厂污泥和长期受乙草胺污染的土壤中获得1株能以乙草胺为唯一氮源生长的菌株,并对其生长和降解特性进行了初步分析,以期为其在生物修复中的应用提供一定的理论依据.

1 材料与方法

1.1 主要仪器及试剂

Agilent Technologies 6820C 气相色谱(FID 检测器)、日本岛津公司 UV-1700 紫外-可见分光光度计、THZ-C 恒温振荡箱、HPS-250 生化培养箱、乙草胺标准品和正己烷为百灵威公司产品(色谱纯),其它试剂均为 AR 级试剂.

1.2 供试原药与培养基

乙草胺原药(95%):购自山东胜邦绿野有限公司.

乙草胺乳油(50%):购自济南绿邦化工有限公司.

牛肉膏蛋白胨琼脂培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g,琼脂 20.0 g,NaCl 5.0 g,加蒸馏水至 1 L,用 NaOH 溶液调 pH 至 7.0~7.2.

LB 培养基:蛋白胨 10.0 g,酵母膏 5.0 g,NaCl 10.0 g,加蒸馏水至 1 L,pH 调至 7.0.

缺氮无机盐培养基的组分为:10.0 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0), 2.5×10^{-1} mmol/L MgSO_4 , 27.8 mmol/L $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, 5.0 $\mu\text{mol/L}$ FeCl_3 , 23.0 $\mu\text{mol/L}$ $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 25.0 $\mu\text{mol/L}$ 柠檬酸钠, 2.0×10^{-4} 酵母浸出物,1.0 mL 的微量元素液,121℃ 湿热灭菌 20 min 后使用.

微量元素液组分为:39.9 mg/L $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 42.8 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 34.7 mg/L $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

1.3 实验方法

1.3.1 乙草胺的分析方法

乙草胺的提取:培养结束后将三角瓶中的无机盐培养基转入 100 mL 分液漏斗中,采用等体积正己烷(25 mL)分 3 次振荡萃取,合并有机相并经无水硫酸钠去水后,以正己烷定容至 25 mL,摇匀待测.

乙草胺的测定:采用 30 m HP-5 毛细管色谱柱, FID 检测器,进样温度为 260℃,检测器温度为 300℃,柱温先在 100℃ 保持 2 min,之后 20℃/min 程序升温到 260℃.进样量为 1 μL .

回收率的测定:乙草胺在 30.0、50.0、100.0 mg/L 这 3 个浓度重复 3 次的标准添加回收率分别为 $(98 \pm 1.9)\%$ 、 $(81 \pm 2.2)\%$ 、 $(95 \pm 1.2)\%$,说明此方法符合要求.本研究中按照下式计算乙草胺降解率.

$$X = \frac{c_{\text{CK}} - c_{\text{X}}}{c_{\text{CK}}} \times 100\%$$

式中, X 为降解率(%), c_{CK} 为未接菌处理中乙草胺浓度, c_{X} 为接菌处理中乙草胺浓度.

1.3.2 乙草胺降解菌的富集、分离

将采集的土壤和污泥 5 g 接种到含有 10 mg/L 乙草胺的 100 mL 无机盐培养基中,于 30℃,150 r/min 摇床振荡培养.培养开始后每 7 d 转接 1 次,转接时以 5% 的接种量接种到新鲜的乙草胺无机盐培养基中,并逐渐提高乙草胺的浓度,至培养基中乙草胺浓度达到 200 mg/L.然后用平板稀释法于牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上分离纯化,将纯化后的降解菌株回接于乙草胺无机盐基础培养基中,验证其对乙草胺是否有降解能力,若菌株生长且能降解乙草胺,则将其接种于牛肉膏蛋白胨琼脂斜面培养基上,培养 24 h 后,编号并置于 4℃ 冰箱保存备用.

1.3.3 菌株的鉴定

细菌 A-3 筛选分离出后,观察菌株 A-3 在牛肉膏蛋白胨培养基平板上的菌落形态和显微镜下的菌体特征并进行革兰氏染色观察.

对于细菌 16S rRNA 基因的扩增,选用细菌的通用引物对 8F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3'). PCR 反应体系为 50 μ L,包括 1 μ L 模板 DNA,5 μ L 10 $\times$ 缓冲液,4 μ L dNTP 混合物(各 2.5 mmol/L),正反向引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,0.25 μ L Taq DNA 聚合酶(5 U/ μ L),37.75 μ L 灭菌高纯水. PCR 扩增程序如下:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 40 s,52 $^{\circ}$ C 退火 50 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min 10 s,35 个循环,72 $^{\circ}$ C 补充延伸 10 min. PCR 扩增产物由上海生工生物工程技术服务有限公司测序部测序,测序结果在 NCBI 上进行 BLAST 比对.

1.3.4 乙草胺微生物降解实验

乙草胺降解曲线的测定:100 mL 灭菌的三角瓶中加入 25 mL pH 7.0 缓冲液配制的无机盐培养基,添加乙草胺浓度为 20 mg/L,接菌量 1 mL,30 $^{\circ}$ C 黑暗振荡(150 r/min)培养. 分别在培养 0、2、5、7、10、13、15 d 时测定菌株 A-3 的生长量(培养液的 D_{600} 表示)和乙草胺在培养基中的残留量,计算乙草胺的降解率.

不同碳源对微生物生长和乙草胺降解的影响:100 mL 灭菌的三角瓶中加入 25 mL pH 7.0 无机盐培养基,添加乙草胺浓度为 20 mg/L,分别加入终浓度为 5 g/L 的柠檬酸三钠、淀粉、蔗糖、苹果酸、葡萄糖,接菌量 1 mL,30 $^{\circ}$ C 黑暗振荡(150 r/min)培养一定时间后测定微生物的生长量和乙草胺的降解率.

初始乙草胺浓度对乙草胺降解的影响:100 mL 灭菌的三角瓶中加入 25 mL pH 7.0 无机盐培养基,添加乙草胺浓度为 10、20、50、100、200、250、500 mg/L,接菌量 1 mL,30 $^{\circ}$ C 黑暗振荡(150 r/min)培养一定时间后测定微生物的生长量和乙草胺的残留量,计算乙草胺降解率.

不同盐浓度对微生物生长和乙草胺降解的影响:100 mL 灭菌的三角瓶中加入 25 mL pH 7.0 无机盐培养基,添加乙草胺浓度为 20 mg/L,分别添加 NaCl 浓度为 0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、3.0%、5.0%、7.0%,接菌量 1 mL,30 $^{\circ}$ C 黑暗振荡(150 r/min)培养一定时间后测定微生物的生长量和乙草胺的残留量,计算乙草胺降解率.

以上实验同时以不接菌处理作为对照,每个处理均重复 3 次.

2 结果与分析

2.1 乙草胺降解菌的分离与鉴定

经过多次分离和纯化,从不同来源的污染样品中分离得到多株能以乙草胺为唯一氮源生长的细菌,经过摇瓶复筛并初步测定所分离菌株对乙草胺的降解率后,选取在乙草胺培养基中生长最好,对乙草胺降解能力最强的菌株 A-3 做进一步研究.

A-3 在 30 $^{\circ}$ C 恒温培养 2 d 后就可看到清晰的单菌落,菌落在牛肉膏蛋白胨平板上为乳白色,菌落呈圆形、突起、有粘液,表面光滑,边缘整齐,革兰氏染色后,不易着色,为革兰氏阴性菌.

采用 16S rRNA 序列分析法对 A-3 菌株进行鉴定,以 A-3 菌株的 DNA 为模板,16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增,得到长度约为 1.5 kb 的扩增产物(图 1). 目前公认,当某 2 个细菌的 16S rRNA 的同源性 >95% 时,可将其归为同一属. 因此根据同源性比较,将菌株 A-3 初步鉴定为粘着剑菌属(*Ensifer adhaerens*).

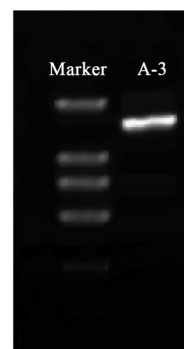


图 1 PCR 扩增产物的 1% 琼脂糖电泳图

Fig. 1 Picture of 1% agarose gel electrophoresis of PCR products

2.2 菌株 A-3 生长曲线和乙草胺降解曲线

在含有 20 mg/L 乙草胺的培养液中测定不同时间下菌株 A-3 的生长量和乙草胺的降解率如图 2 所示. 乙草胺的生长和降解曲线趋势相吻合,说明随着 A-3 在培养基中的适应和生长,其对乙草胺的降解能力也随之提高,菌株的降解能力和微生物的数量呈正相关. 在培养初期,尽管培养液中菌体生长量不高,但乙草胺浓度却有所下降,原因是菌体在短的时间内可从环境中吸附一定量的农药并在体内积累,使得培养液中残留的乙草胺浓度降低;3~9 d 是菌体的对数生长期,此时乙草胺的降解率提高速度最快,表明由于处于对数生长期的菌体大量增殖,使农药的降解速度加快;10 d 后菌株 A-3 的生长能力和对乙草胺的降解能力逐渐下降. 因为一段时间后,培养液中微生物可利用的有效物质减少,而且微生物在降解乙草胺的过程中会产生抑制菌体生长的次代

谢产物,所以菌体生长量和对乙草胺的降解率下降.

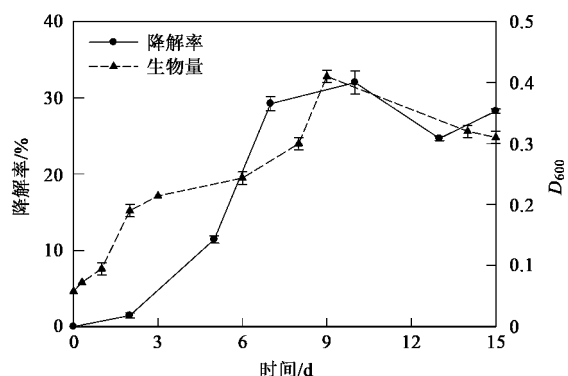


图2 菌株 A-3 生长曲线和乙草胺降解曲线

Fig.2 Growth curve of strain A-3 and degradation curve of acetochlor

2.3 培养条件对菌株 A-3 生长和乙草胺降解的影响

2.3.1 外加碳源对 A-3 生长和乙草胺降解的影响

培养基中碳源种类会影响微生物生长和对污染物的降解,所以本研究分析了不同外加碳源对微生物生长和乙草胺降解的影响.本研究选取柠檬酸三钠、淀粉、蔗糖、苹果酸、葡萄糖为碳源进行分析,其对微生物的生长和乙草胺降解的影响如图3所示.培养基中外加碳源不同,菌株 A-3 的生长量不同,进而对乙草胺的降解能力也存在差异.外加碳源对菌体生长量的影响为:蔗糖>葡萄糖>淀粉>柠檬酸三钠>苹果酸;菌株 A-3 以蔗糖为碳源时生物量最高,其 D_{600} 值为 0.55,在以苹果酸为碳源时生物量最小,其 D_{600} 值几乎为 0.而对乙草胺降解能力的影响为:葡萄糖>淀粉>柠檬酸三钠>蔗糖>苹果酸.在以葡萄糖为碳源时降解率最高,降解率为 29.2%,在以苹果酸为碳源时降解率最低,其降解率几乎为 0.即微生物在不同碳源下的生长能力和降解能力有一定的关系,但并没有直接的正相关性.

2.3.2 初始乙草胺浓度对乙草胺降解的影响

将 A-3 接种于不同乙草胺初始浓度的培养基中,待培养结束后(10 d),测定细菌生长量和乙草胺降解率(图4).A-3 在乙草胺浓度 10 与 20 mg/L 的条件下,30℃ 振荡培养,该菌株对乙草胺的降解率分别为 33.6% 和 31.5%.同样培养条件下,当乙草胺浓度增加至 200 mg/L 时,菌株 A-3 对乙草胺的降解率仅有 5.4%(图4).由此可知,菌株 A-3 只能对一定浓度范围内的乙草胺具有较强的降解能力,在 10~200 mg/L 浓度范围内,随着培养液中乙草胺浓度的增加,菌株 A-3 对乙草胺的降解能力下降,这可

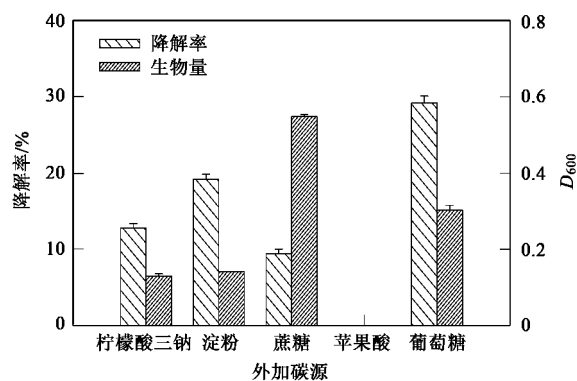


图3 碳源对菌株 A-3 生长和乙草胺降解的影响

Fig.3 Effects of different carbon sources on the growth of strain A-3 and biodegradation of acetochlor

能是因为高浓度的乙草胺对菌株 A-3 产生毒害作用,抑制了微生物的生长,进而减少了对乙草胺的降解.

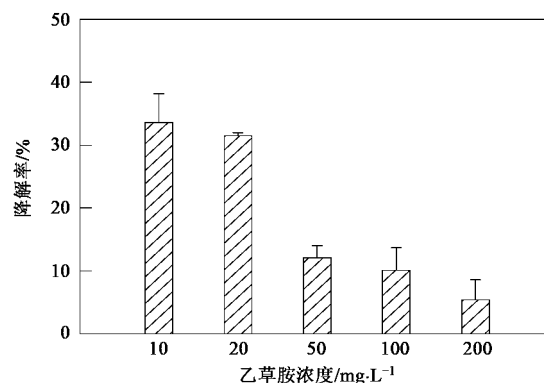


图4 乙草胺初始浓度对乙草胺降解的影响

Fig.4 Effects of the different initial concentration of acetochlor on biodegradation of acetochlor by strain A-3

2.3.3 盐浓度对菌株 A-3 生长和乙草胺降解的影响

农药厂的废水中通常含有大量的盐分,所以本研究分析了培养基中盐分对微生物降解的影响,结果如图5所示.从图5中可以看出当 NaCl 浓度为 0.5% 时,A-3 生长最好,对乙草胺的降解能力最高,其降解率可达 35%.随着盐浓度的提高,A-3 的生长量和对乙草胺的降解能力都有所降低.在 NaCl 浓度为 7% 时,A-3 对乙草胺的降解率仅有 2.6%,这也说明 A-3 对盐浓度冲击具有一定的耐受性.即环境中盐浓度发生改变后,微生物会通过自身的渗透压调节机制来平衡细胞内的渗透压,调节自身新陈代谢,以适应相应盐度环境.研究表明,低浓度的盐可

以刺激微生物的生长和对乙草胺的降解,但当培养液中的盐浓度过高时则会引起微生物吸收水分困难、生长下降从而使得对农药的降解降低。

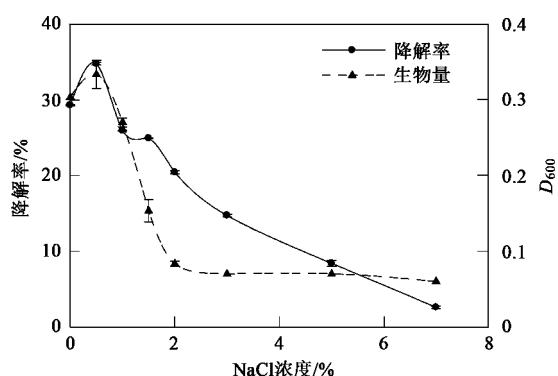


图 5 NaCl 含量对菌株 A-3 生长和乙草胺降解的影响

Fig. 5 Effects of the percentage of NaCl on the growth of strain A-3 and biodegradation of acetochlor by the strain A-3

3 讨论

研究中发现菌株 A-3 在含 20 mg/L 乙草胺无机盐培养基中培养 10 d 后,菌株 A-3 的生长量和对乙草胺的降解率逐渐降低(图 2),分析其原因一方面可能是培养基中的碳源氮源等的减少,另外一方面可能是 A-3 代谢过程中产生的次代谢产物影响了微生物的生长和对乙草胺的降解. Green 等^[25]的研究结果表明,乙草胺在代谢过程中产生的苯醌亚胺及亚砷苯醌亚胺等物质能够与生物大分子物质发生加合反应,从而影响或损害生物体.此外,也有研究表明在乙草胺的代谢过程中时所进行的羟基化和氧化过程伴有活性氧的产生,另外在 P450 酶介导的解毒代谢中,也产生和释放大量的 H_2O_2 等活性氧,造成脂质过氧化、蛋白质损伤、DNA 损伤等,也会影响微生物的生长^[26];有时微生物在降解某些化合物时会产生可使关键降解酶系失活的中间代谢产物(“死产物”),从而抑制化合物的降解^[27].

本研究的结果表明碳源种类影响微生物的生长和降解,虽然 A-3 均能以葡萄糖、蔗糖、淀粉等为碳源生长并降解乙草胺,但在以葡萄糖为碳源时,降解能力最高,说明微生物降解农药,需要合适的外加碳源,只有添加适当的外加碳源,才能既保证细胞的正常生理功能,又满足对农药有效降解的要求.此外微生物降解也易受环境中盐浓度的影响,在 NaCl 浓度为 0.5% 时,菌株对乙草胺的降解能力最高,但当外

加 NaCl 浓度达到 7% 时,对乙草胺的降解率仅有 2.6% (图 5),但也表明菌株 A-3 对盐浓度冲击具有一定耐受性.即环境中盐浓度发生改变后,微生物会通过自身的渗透压调节机制来平衡细胞内的渗透压,调节自身新陈代谢,以适应相应盐度环境.早在 1931 年,微生物学家 Winslow 等^[28]研究发现氯化钠浓度为 0.29 ~ 14.61 g/L 时能促进水中大肠杆菌的生长,但当水中含盐浓度增加到 58 g/L 时,大肠杆菌因受到氯化钠的毒害作用而全部死亡.适应于淡水环境中的微生物在高盐环境下代谢酶活性受阻,微生物增长慢,从而导致其对有机物的去除率降低.

本研究结果表明,菌株 A-3 的生长与降解对初始乙草胺浓度、碳源种类、盐浓度的适应范围较宽,适合用于田间复杂多变的自然环境中乙草胺污染的修复.虽然菌株 A-3 在实验室条件下对乙草胺有较高的降解能力,然而,该菌株是否能够修复自然土壤环境中的乙草胺则还需进一步研究.同时,单一菌株在降解乙草胺时,难以将乙草胺全部分解为终产物 CO_2 和 H_2O ,而是生成特定中间产物,目前对微生物降解乙草胺的代谢中间产物也已有研究^[29~32],并有研究发现,微生物在降解乙草胺的过程中产生的一些次代谢产物对环境的毒性更强^[33],所以在以后的工作中,也应将乙草胺浓度减少量和残留产物的毒性结合起来以准确判定菌株的实际修复能力,此外还应进一步探索该菌株对乙草胺的降解机制,为乙草胺污染土壤的生物修复提供有力依据.

4 结论

本研究从农药厂污泥和长期受农药污染的土壤中筛选到 1 株高效降解乙草胺的细菌 A-3,经生理生化和 16S rRNA 鉴定属于粘着剑菌属.菌株 A-3 能以乙草胺为唯一氮源生长且能高效降解乙草胺,而且菌株的生长和降解过程受环境介质的影响,在乙草胺浓度为 20 ~ 100 mg/L,盐浓度为 0 ~ 5% 的条件下生长较快且对乙草胺降解效果好,表明菌株 A-3 在生物修复农药污染土壤方面具有一定的应用前景,可以通过改变培养基的成分来调控菌株 A-3 对乙草胺的降解.

参考文献:

- [1] 郭荣君,李世东,章力建,等.土壤农药污染与生物修复研究进展[J].中国生物防治,2005,21(3):129-135.
- [2] 杨卫兵,朱润晔,张丽丽,等.1 株 BTEX 降解新菌株的分离鉴定及其降解特性研究[J].环境科学,2010,31(3):821-827.
- [3] 廖敏,张海军,谢晓梅.拟除虫菊酯类农药残留降解菌产气肠杆菌的分离、鉴定及降解特性研究[J].环境科学,2010,

- 31(8): 2445-2451.
- [4] 张宏波,林爱军,刘爽,等. 茚高效降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. 环境科学,2010,31(1): 243-248.
- [5] 王丽红,张林,陈欢林. 三唑磷降解菌的筛选及其降解途径研究[J]. 生物工程学报,2005,21(5): 954-959.
- [6] 李荣,贾开志,蒋建东,等. 敌敌畏、敌百虫高效降解菌株 DDB-1 的分离鉴定及降解特性研究[J]. 农业环境科学学报,2007,26(2): 554-558.
- [7] Foley M E, Sigler V, Gruden C L. A multiphasic characterization of the impact of the herbicide acetochlor on freshwater bacterial communities [J]. International Society for Microbial Ecology, 2008,2(1): 56-66.
- [8] Vasilakoglou I B, Eleftherohorinos I G, Dhima K B. Activity, adsorption and mobility of three acetanilide and two new amide herbicides [J]. Weed Research,2001,41(6): 535-546.
- [9] Zheng H, Ye C. Photodegradation of acetochlor in water and UV photoproducts identified by mass spectrometry [J]. Journal of Environment Science,2003,15(6): 783-790.
- [10] Bunting J A, Simmons F W, Wax L M. Early preplant application timing effects on acetamide efficacy in no-till corn [J]. Weed Technology,2003,17(2): 291-296.
- [11] 李涛,陈雯,章芸,等. 乙草胺对农田土壤动物群落结构的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(20): 9502-9505.
- [12] Zheng H, Ye C. Adsorption and mobility of acetochlor and butachlor on soil [J]. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology,2002,68(4): 509-516.
- [13] 罗海峰,齐鸿雁,张洪勋. 乙草胺对农田土壤细菌多样性的影响[J]. 微生物学报,2004,44(4): 519-522.
- [14] Zhang H W, Zhang Q R, Zhou Q X, et al. Binary-joint effects of acetochlor, methamidophos, and copper on soil microbial population [J]. Bulletin Environmental Contamination and Toxicology,2003,71(4): 746-754.
- [15] Zhang H W, Zhou Q X, Zhang Q R, et al. Toxic effects of acetochlor, methamidophos and their combination on bacterial amount and population richness at molecular levels in agricultural black soils [J]. Environmental Science,2004,25(4): 142-148.
- [16] 张倩茹,周启星,张慧文,等. 乙草胺-铜离子复合污染对黑土农田生态系统中土著细菌群落的影响[J]. 环境科学学报,2004,24(2): 326-332.
- [17] Su Z C, Zhang H W, Li X Y, et al. Toxic effects of acetochlor, methamidophos and their combination on *nifH* gene in soil [J]. Journal of Environmental Sciences,2007,19(7): 864-873.
- [18] Zafeiridou G, Geronikaki A, Papaefthimiou C, et al. Assessing the effects of the three herbicides acetochlor, 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid (2, 4, 5-T) and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the compound action potential of the sciatic nerve of the frog [J]. Chemosphere,2006,65(6): 1040-1048.
- [19] Xiao N W, Jing B B, Ge F, et al. The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions [J]. Chemosphere,2006,62(8): 1366-1373.
- [21] 郑和辉,叶常明. 乙草胺和丁草胺在土壤中的移动性[J]. 环境科学,2001,22(5): 117-121.
- [20] 米长虹,蔡思义,郑振华. 乙草胺与农业环境[J]. 农业环境与发展,1996,1: 25-28.
- [22] 瞿福平,杨义燕,冯旭东,等. 含氮农药的好氧生物降解性能及废水治理对策[J]. 环境科学,1999,20(4): 12-15.
- [23] 徐军. 氯乙酰胺类除草剂乙草胺微生物降解效能及其代谢途径研究[D]. 北京: 中国科学院动物研究所,2005.
- [24] Stamper D M, Tuovinen O H. Biodegradation of the acetanilide herbicides alachlor, metolachlor, and propachlor [J]. Critical Reviews in Microbiology,1998,24(1): 1-22.
- [25] Green T, Lee R, Moore R B, et al. Acetochlor-induced rat nasal tumors: further studies on the mode of action and relevance to humans [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology,2000,32(1): 127-133.
- [26] Coleman S, Linderman R, Hodgson E, et al. Comparative metabolism of chloracetamide herbicides and selected metabolites in human and rat liver microcosms [J]. Environment Health Perspectives,2000,108(12): 1151-1157.
- [27] Mars A E, Janssen D B, Kasberg T, et al. Microbial degradation of chloroaromatics: use of the meta-cleavage pathway for mineralization of chlorobenzene [J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(14): 4530-4537.
- [28] Winslow C E A, Haywood E T. The specific potency of certain cations with reference to their effect on bacterial viability [J]. Journal of Bacteriology,1931, 22(1): 49-69.
- [29] Ye C M, Wang X J, Zheng H H. Biodegradation of acetanilide herbicides acetochlor and butachlor [J]. Journal of Environment Science,2002,14(4): 524-529.
- [30] Dagnac T, Jeannot R, Mouvet C, et al. Determination of oxanilic and sulfonic acid metabolites of acetochlor in soils by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A,2002,957(1): 69-77.
- [31] Xu J, Qiu X H, Dai J Y, et al. Isolation and characterization of a *Pseudomonas oleovorans* degrading the chloroacetamide herbicide acetochlor [J]. Biodegradation,2006, 17(3): 219-225.
- [32] Istvan J. Microbial and photolytic degradation of the herbicide acetochlor [J]. International Journal of Analytical Chemistry, 2000,78(1): 1-8.
- [33] Osano O, Adimiraal W, Klammer H J C, et al. Comparative toxic and genotoxic effects of chloroacetamides formamidines and their degradation products on *Vibrio fischeri* and *Chironomus riparius* [J]. Environmental Pollution,2002,119(2): 195-202.