

· 研究报告 ·

付海燕 黑龙江大学生命科学学院生物技术系主任，博士，副教授。从事农业有害生物综合防控及生态修复研究。主持黑龙江省自然科学基金项目 1 项，哈尔滨市科技创新人才专项资金项目 1 项，国家重点研发计划项目子课题 1 项，参与国家自然科学基金项目 1 项，省自然科学基金重点项目 1 项，国家重点研发计划项目子课题 2 项。作为主要参与人获黑龙江省科技进步奖二等奖 2 项，黑龙江省高校科技进步奖二等奖 2 项。



一株氯嘧磺隆降解菌分离鉴定及降解条件优化

杨峰山^{1,2,3}，张瑞^{1,2,3}，肖延臣^{1,2,3}，刘春光^{1,2,3}，付海燕^{1,2,3}

1 黑龙江大学 农业微生物技术教育部工程研究中心，黑龙江 哈尔滨 150500

2 黑龙江大学 生命科学学院 黑龙江省寒地生态修复与资源利用重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150080

3 黑龙江大学 生命科学学院 黑龙江省普通高校分子生物学重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150080

杨峰山，张瑞，肖延臣，等. 一株氯嘧磺隆降解菌分离鉴定及降解条件优化. 生物工程学报, 2020, 36(3): 560–568.

Yang FS, Zhang R, Xiao YC, et al. Isolation and identification of a chlorimuron-ethyl-degrading bacterium and optimization of its degradation conditions. Chin J Biotech, 2020, 36(3): 560–568.

摘要: 为解决氯嘧磺隆残留对土壤、水体污染及后茬敏感作物药害问题，为污染土壤微生物修复提供降解菌种资源，文中采用富集培养、逐级驯化等方法，从氯嘧磺隆污染土壤中分离到 1 株高效氯嘧磺隆降解菌 T9DB-01，经形态特征、生理生化及 16S rDNA 序列分析，鉴定为假单胞菌 *Pseudomonas* sp.。采用单因素实验探究温度、pH 值、底物浓度、装液量和接种量对菌株 T9DB-01 降解氯嘧磺隆的影响，采用正交试验及验证，优化菌株 T9DB-01 对氯嘧磺隆降解条件。结果表明，在 30 ℃，pH 8.0，底物浓度 200 mg/L，装液量 100 mL/250 mL，接种量 4% 的条件下，5 d 后降解率达到 93.7%。该降解菌株对氯嘧磺隆污染土壤原位生物修复具有一定的应用潜力。

关键词: 氯嘧磺隆，降解菌，假单胞菌，降解条件优化

Received: August 19, 2019; **Accepted:** November 11, 2019

Supported by: National Key R&D Program of China (No. 2018YFD0200800), Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (No. C2017055).

Corresponding author: Haiyan Fu. Tel/ Fax: +86-451-86608586; E-mail: fuhaiyan@hlju.edu.cn

国家重点研发计划 (No. 2018YFD0200800)，黑龙江省自然科学基金 (No. C2017055) 资助。

网络出版时间: 2019-11-28

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20191128.0958.001.html>

Isolation and identification of a chlorimuron-ethyl-degrading bacterium and optimization of its degradation conditions

Fengshan Yang^{1,2,3}, Rui Zhang^{1,2,3}, Yanchen Xiao^{1,2,3}, Chunguang Liu^{1,2,3}, and Haiyan Fu^{1,2,3}

1 Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology, Ministry of Education, Heilongjiang University, Harbin 150500, Heilongjiang, China

2 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Restoration and Resource Utilization for Cold Region, School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China

3 Key Laboratory of Molecular Biology, College of Heilongjiang Province, School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China

Abstract: In order to solve the problem of soil, water pollution and sensitive crop drug damage caused by chlorosulfuron residue, and to provide degradation strain resources for microbial remediation of contaminated soil, a chlorimuron-ethyl-degrading strain T9DB-01 was isolated from chlorosulfuron contaminated soil by the method of enrichment culture and step by step domestication. Strain T9DB-01 was identified as *Pseudomonas* sp. by morphological characteristics, physiological and biochemical analysis and 16S rDNA gene sequence analysis. The effects of temperature, pH value, substrate concentration, medium volume, and inoculation volume on the degradation of chlorosulfuron-methyl by strain T9DB-01 were investigated by single factor experiment. The degradation conditions of chlorosulfuron by strain T9DB-01 were optimized by orthogonal test and verification. Results show that 30 °C, pH 8.0, inoculum 4%, liquid volume 100 mL/250 mL, substrate concentration of 200 mg/L, cultured for 5 d, the strain degraded 93.7% chlorosulfuron-methyl. The degrading strain has certain application potential for bioremediation of chlorosulfuron-contaminated soil.

Keywords: chlorimuron-ethyl, degradation bacterium, *Pseudomonas* sp., optimization of degradation conditions

氯嘧磺隆 (Chlorimuron-ethyl) 是美国杜邦公司 20 世纪 80 年代研制的一种广谱、高效的选择性内吸传导型磺酰脲类除草剂,在我国广泛用于防除大豆、玉米等作物田间阔叶及禾本科杂草^[1]。氯嘧磺隆的田间使用量和残留量不高,但残留时间长、难降解,尤其实际使用过程中存在长期、超量、重复使用等问题,对后茬敏感作物产生不同程度药害^[2-4],造成减产甚至绝产,对农田土壤和周边水体造成污染,对生态环境和人类健康造成潜在威胁^[5]。氯嘧磺隆在土壤中的降解主要包括光解、化学水解和微生物降解 3 种途径,微生物降解因其具有高效、快速、安全等优点成为各国学者关注的焦点^[6]。目前已经报道的具有氯嘧磺隆降解特性的微生物有真菌如掷孢酵母 *Sporobolomyces* sp. LF1、粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* N80、黑曲霉 *Aspergillus niger*^[7-10], 细菌如假单胞菌 *Pseudomonas* sp. LW3、克雷伯氏菌 *Klebsiella jilinsis* 2N3、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* YB1、

Hansschlegelia sp. CHL1、红球菌 *Rhodococcus* sp. D310-1、嗜麦芽寡养单胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia* D310-3 和路德维希氏肠杆菌属 *Enterobacter ludwigii* sp.等^[11-17]。深入挖掘氯嘧磺隆降解菌株资源,获得种类更多、降解特性更高的氯嘧磺隆降解菌株,进行氯嘧磺隆污染土壤生物修复,对农业种植结构调整、生态环境保护 and 可持续发展具有重要意义。

本研究从氯嘧磺隆污染土壤中分离鉴定了 1 株以氯嘧磺隆为唯一碳源的高效降解菌,研究其对氯嘧磺隆的降解特性,优化菌株降解条件,提高其降解效率。为氯嘧磺隆污染土壤原位生物修复提供理论及应用依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

从山东省高密市呼家庄镇小南庄村氯嘧磺隆药害农田中采集土壤样品,去除作物根系及地表浮

土, 随机选取 10 个采样点, 每点取样 200 g, 深度 5–13 cm, 置于灭菌自封袋中, 4 °C 冰箱保存。

1.2 主要试剂

氯嘧磺隆 20% 可湿性粉剂, 大连瑞泽农药厂生产; 氯嘧磺隆标样 (GSBG24151-42 国标液): 100 ng/μL, 介质为丙酮, 农业部天津环境保护科研监测所监制; 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (天根生化科技有限公司); 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成; pMD18-T Vector 购自大连宝生物公司; 其他化学试剂均为分析纯。

1.3 氯嘧磺隆降解菌株分离

以氯嘧磺隆为唯一碳源, 采用摇瓶富集培养技术分离土壤中的降解菌株。氯嘧磺隆起始含量 200 mg/L, 30 °C、200 r/min 恒温振荡培养 5 d 后 5% 接种量转接, 终浓度至 800 mg/L, 3 次重复。应用高效液相色谱法进行农药残留量的检测。选取降解率较高的样品, 梯度稀释, 30 °C 反复纯化培养, 4 °C 冰箱保存^[18]。

1.4 氯嘧磺隆降解菌鉴定

1.4.1 形态特征鉴定

采用平板划线法将氯嘧磺隆降解菌接种于无机盐基础固体培养基 (MSM, NaCl 0.50 g/L, KH₂PO₄ 0.50 g/L, K₂HPO₄ 1.50 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.50 g/L, NH₄NO₃ 1.00 g/L, Agar 20 g/L, pH 7.0), 30 °C 恒温培养 5 d 后观察菌落形态。采用革兰氏染色法和 KOH 反应试验确定菌株革兰氏类型。扫描电子显微镜观察菌株显微结构。

1.4.2 生理生化鉴定

参照《伯杰细菌鉴定手册》^[19]完成菌株生理生化指标测定, 包括淀粉水解试验、液化明胶试验、接触酶试验、VP 试验、耐盐性、氧化酶、葡萄糖氧化发酵、MR 试验 (甲基红试验)、柠檬酸盐利用试验、乙醇氧化、高温培养 (60 °C)、吡啶试验等。

1.4.3 16S rDNA 基因序列测定与系统发育分析

采用 CTAB 法和 SDS 高盐沉淀法提取菌体总 DNA。利用 16S rDNA 通用上、下游引物 P2/P7,

P2: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 P7: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3' 扩增降解菌株的 16S rDNA 区域序列。PCR 产物回收、纯化, 与 T 载体连接。将 10 μL 连接产物转化到 *E. coli* DH5α 感受态细胞, 检测阳性克隆子。利用 pMD18-T 载体上的通用引物, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司测序, 应用 BLAST 进行 DNA 序列分析。测序结果与 GenBank 上的序列进行同源性比对, 用 ClustalX 进行序列比对, 并构建系统发育树。

1.5 氯嘧磺隆降解性能测定

降解菌株在 LB 液体培养基活化至对数生长期, 离心去上清, 0.02 mol/L NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ (pH 7.0) 缓冲液洗涤 2 次, 用等体积缓冲液悬浮菌体, 4 °C 保存备用。

制备氯嘧磺隆 300 mg/L 的无机盐基础培养液 (MSM, 不含琼脂), 接入终浓度为 8.0×10⁷ cfu/mL 降解菌株, 30 °C、200 r/min 条件摇床振荡培养 5 d, 离心取上清液 2 mL, 参照肖延臣^[18]建立的氯嘧磺隆的高效液相色谱条件, 测定氯嘧磺隆浓度, 设不接菌为对照。降解率计算公式:

$$\text{降解率}(\%) = (\text{残留农药量} / \text{起始农药量}) \times 100\%$$

1.6 氯嘧磺隆降解菌降解条件优化

分别以 10 °C、15 °C、20 °C、25 °C、30 °C、35 °C、40 °C、45 °C 作为温度试验组, 以初始 pH 分别为 4.0、5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、9.0、10.0 作为 pH 试验组, 以分别装入 25 mL/250 mL、50 mL/250 mL、75 mL/250 mL、100 mL/250 mL、125 mL/250 mL、150 mL/250 mL、200 mL/250 mL 培养基作为装液量试验组, 以氯嘧磺隆浓度分别为 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L、300 mg/L、400 mg/L、600 mg/L、800 mg/L 作为初始浓度试验组, 分别按 1%、2%、4%、6%、8%、10%、15% (V/V) 的量定量接种菌悬液作为接种量试验组。以上各试验组均使用初始浓度 300 mg/L 无机盐基础培养液, 每个处理设 3 次重复, 对照组加药不接菌, 200 r/min 摇床培养 5 d 后, 测定培养

液 OD_{600} 值及氯嘧磺隆降解率, 研究不同环境因素对降解菌株生长和氯嘧磺隆降解率的影响。

1.7 氯嘧磺隆降解菌株降解性能正交优化试验

在单因素实验基础上, 对 pH 值、浓度、接种量、培养温度和装液量进行 5 因素 4 水平的正交实验, 每个处理重复 3 次。以降解率作为考察指标。正交实验设计表见表 1。

1.8 数据处理

所有数据取 3 次重复的平均值, 数据分析和制图采用 Origin8.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 氯嘧磺隆降解菌分离

通过富集培养、逐级驯化和平板分离等方法, 分离出一株氯嘧磺隆降解菌, 命名为 T9DB-01, 该菌株以氯嘧磺隆为唯一碳源。测得菌体浓度为 8.0×10^7 CFU/mL, 30 °C、pH 7.0、200 r/min 条件下培养 5 d, 对浓度为 300 mg/L 的氯嘧磺隆的降解率为 92.1%。

菌落呈白色, 不透明, 形态呈圆形, 表面光滑, 微微隆起, 边缘整齐。菌株为革兰氏阴性, 无芽孢。扫描电镜下观察到菌体细胞长杆状, 菌体大小 $(0.2-0.4) \times (0.8-0.9) \mu\text{m}$, 侧生鞭毛 (图 1), 好氧, 能运动。

2.2 氯嘧磺隆降解菌株生理生化鉴定

对氯嘧磺隆降解菌株 T9DB-01 进行 24 项生理生化指标鉴定, 结果如表 2 所示。

表 1 T9DB-01 降解特性正交实验设计表
Table 1 Orthogonal experiments design of strain T9DB-01 about degradation characteristics

Levels	Factors				
	pH	Concentration (mg/L)	Temperature (°C)	Liquid volume (mL)	Inoculum (%)
1	4	50	28	25	1
2	6	200	30	100	4
3	8	400	35	150	6
4	10	800	37	200	8

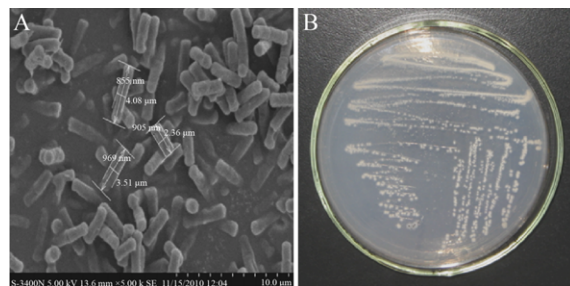


图 1 菌株 T9DB-01 扫描电镜图 (A) 和无机盐培养基上菌落形态 (B)

Fig. 1 Morphological observation of strain T9DB-01. (A) A scanning electron micrograph of strain T9DB-01. (B) A photograph of the colony after 2 days culture on mineral medium.

表 2 降解菌株 T9DB-01 生理生化特征

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain T9DB-01

Physiological and biochemical identification	Results
Starch hydrolysis test	-
Catalase test	+
Gelatin liquefaction test	+
VP test	-
Nitrate reduction test	+
Oxidase test	+
Indole test	+
High temperature culture (60 °C)	-
MR test	+
Citrate utilization test	+
Ethanol oxidation	+
Glucose oxidation and fermentation	+
Mannitol	+
Sorbic alcohol	+
Seminose	-
Arabinose	+
Fructopyranose	+
Saccharose	+
Lactose	+
Maltose	+
Glycerol	+
Salicin	-
Hydrolysis of seven-leaf glycosides	-
Hydrogen sulfide test	-

Note: “+” means positive biochemical reaction; “-” means negative biochemical reaction.

2.3 氯嘧磺隆降解菌分子生物学鉴定

菌株 T9DB-01 的 16S rDNA 序列与假单胞菌属的序列同源性达到 100%。说明该菌株在分子系统发育分类学上属于假单胞菌属, 学名为 *Pseudomonas* sp.。用 Clustalx 软件分析比对菌株的 16S rDNA 基因序列, 利用 NJ 法构建系统发育树 (图 2)。结合菌株的形态特征、生理生化特征, 综合推断该菌株为假单胞菌 *Pseudomonas* sp.。菌株 T9DB-01 序列已在 GenBank 中注册, GenBank 登录号为 GU395783。

2.4 环境因素对 T9DB-01 生长和氯嘧磺隆降解的影响

温度对菌株 T9DB-01 降解率影响比较大 (图 3A), 10–45 °C 降解率呈先增加后减小的趋势, 30 °C 时菌体的降解率为 86.3% 达到最大值, 此时菌体 OD_{600} 值为 0.771。pH 4.0–10.0 范围内, 降解率先增加后减小 (图 3B), pH 值为 7.0 时降解率达到最大值 90.4%, 此时菌体 OD_{600} 值为 0.904。氯嘧磺隆的降解率随着接种量增加而增大 (图 3C),

但在接种量达 4% 以后, 降解率不再显著增加, 故确定 4% 为最佳接种量。氯嘧磺隆初始浓度对菌株 T9DB-01 的生长及降解率的影响呈先升后降的趋势 (图 3D), 氯嘧磺隆浓度在 50–300 mg/L 范围内, 降解菌的生长呈逐渐上升趋势, 氯嘧磺隆浓度在 300–800 mg/L 范围内, 菌株 T9DB-01 生长受到抑制, 降解率也随之逐渐减低。随着三角瓶中装液量的增加, 菌株的生长速度呈现先上升后下降的趋势 (图 3E), 装液量为 100 mL 时, 菌体的生长量和降解率均达到峰值。

2.5 正交法对环境条件的优化

单因素实验结果单一, 为进一步优化菌株降解条件, 提高菌株对氯嘧磺隆降解率, 根据单因素实验结果, 设计 5 因素 4 水平正交实验。结果显示, 正交试验第 12 组 (A2B3C2D2E2) 为菌株 T9DB-01 降解氯嘧磺隆最佳条件: 30 °C, pH 8.0, 接种量 4%, 装液量 100 mL/250 mL, 底物浓度为 200 mg/L, 培养 5 d, 降解率为 93.7% (表 3)。

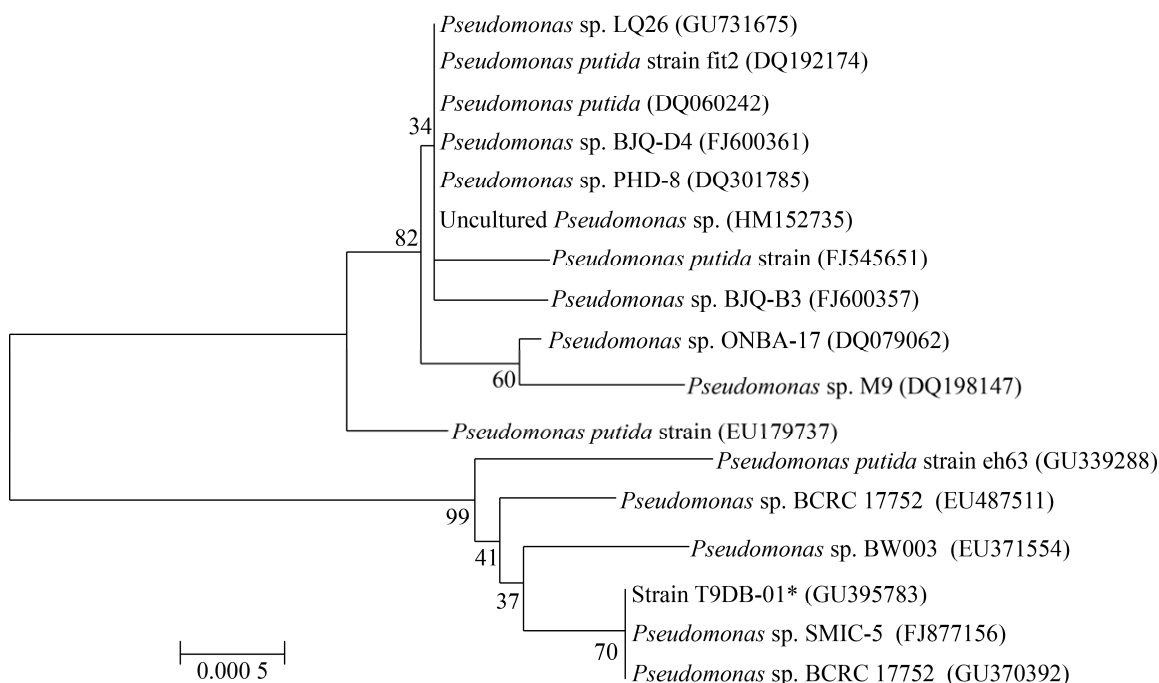


图 2 菌株 T9DB-01 基于 16S rDNA 基因序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rDNA genes of strain T9DB-01.

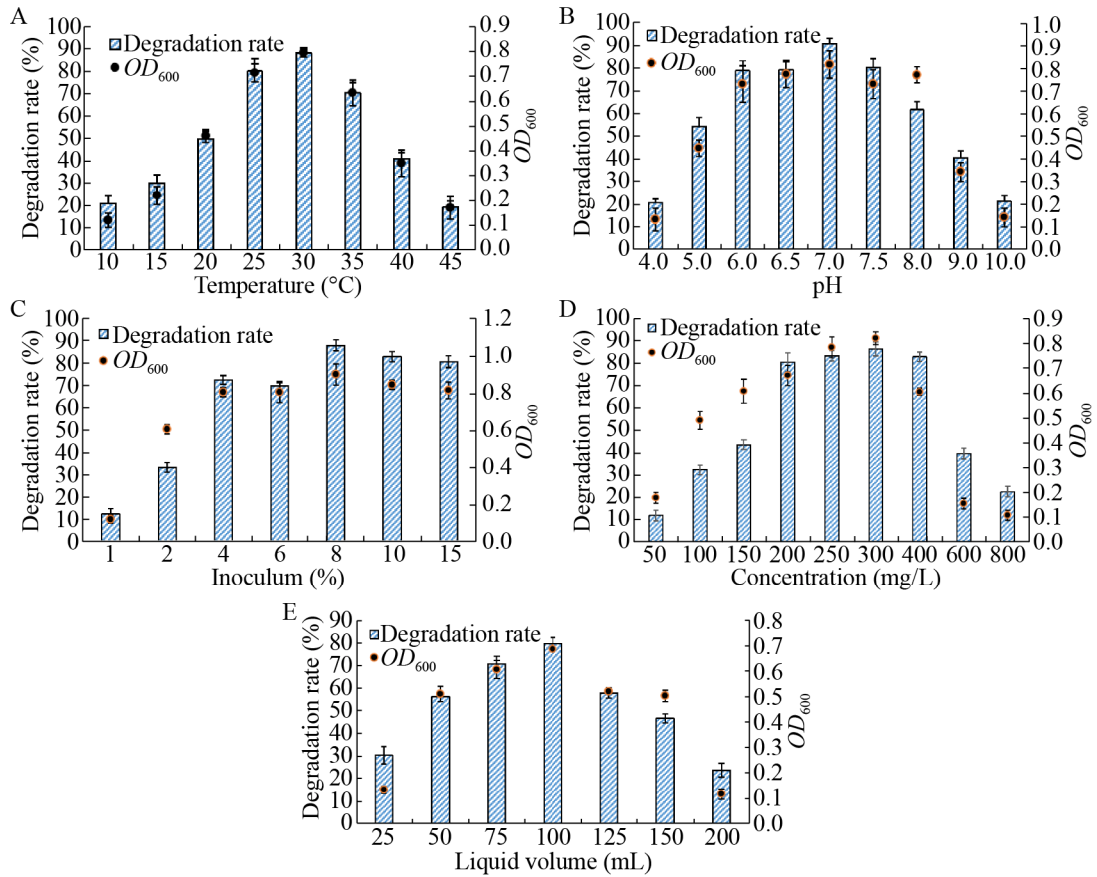


图 3 不同因素对降解菌 T9DB-01 生长及氯嘧磺隆降解能力的影响

Fig. 3 Effects of different factors on strain T9DB-01 growth and chlorimuron-ethyl degradation.

表 3 正交实验结果直观分析

Table 3 Intuitive analysis of orthogonal test results

No.	Concentration (mg/L)	Temperature (°C)	pH	Liquid volume (mL)	Inoculum (%)	Degradation rate (%)
1	1	1	1	1	2	80.1
2	3	1	2	4	1	82.3
3	2	1	3	3	3	86.3
4	4	1	4	2	4	90.0
5	4	2	2	1	3	93.3
6	2	2	1	4	4	92.3
7	3	2	4	3	2	85.1
8	1	2	3	2	1	83.5
9	3	3	3	1	4	90.3
10	1	3	4	4	3	82.4
11	4	3	1	3	1	85.8
12	2	3	2	2	2	93.7
13	2	4	4	1	1	81.1
14	4	4	3	4	2	82.2
15	1	4	2	3	4	86.2
16	3	4	1	2	3	83.1
K1	330.7	338.7	331.6	344.8	344.5	
K2	355.5	354.2	342.2	350.3	352.3	
K3	342.3	352.2	352.0	343.4	333.3	
K4	349.2	332.6	351.9	339.2	347.6	

表 4 正交实验结果方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal test results

Source	Sum of square	df	Mean square	R value	F
Concentration	3 789.8	3	1 263.2	6.2	126.32*
Temperature	2 896.4	3	965.4	5.4	96.54
pH	1 687.8	3	562.6	5.1	56.26
Liquid volume	521.9	3	173.9	2.7	17.39
Inoculum	1 043.8	3	347.9	4.7	34.79
Error	94.3	3	2.9		
Total	10 034.8	18			

* means significant difference.

进一步对方差分析可以发现, 5 个因素中浓度的 F 值最大, 为 126.32, 对其降解氯嘧磺隆效果影响达到极显著水平。其次是温度, 装液量的 F 值最小。所以 5 个因素的显著性差异由大到小的顺序是: 底物浓度>温度>pH 值>接种量>装液量。

3 讨论

以微生物修复理论为基础的除草剂残留降解技术是解决土壤修复问题的有效途径^[20]。文献已经报道了很多能降解或转化氯嘧磺隆的微生物, 包括真菌、细菌和放线菌, 其中以细菌为主。Ma 等^[11]从污染土壤中分离到氯嘧磺隆降解菌为假单胞菌属 LW3, 氯嘧磺隆 50 mg/L, pH 7.0, 30 °C, 接种 7 d 后, 液体培养基中的降解率约为 81.5%。Pan 等^[17]从污染土壤中分离得到氯嘧磺隆降解菌 *Enterobacter ludwigii* sp., 生物降解作用随着浓度 (1–10 mg/L) 和温度 (20–40 °C) 的升高而增加, 最佳 pH 为 7.0。刘艳等^[21]从长期施用氯嘧磺隆的土壤中分离得到 1 株氯嘧磺隆降解菌恶臭假单胞菌 L-6, 200 mg/L、pH 8.0、30 °C, 接种 4 d 后氯嘧磺隆降解率达到 80% 以上。Zhang 等^[22]从污染农田土壤中分离出苯磺隆甲基共代谢降解菌株假单胞菌属 NyZ42, 当葡萄糖或琥珀酸盐作为补充碳源时, 200 mg/L 苯磺隆甲酯, 接种 4 d, 降解率约 80%。Li 等^[23]用两种氯嘧磺隆-乙基降解菌株 (*Rhodococcus* sp. D310-1; *Enterobacter* sp. D310-5) 混合发酵制备氯嘧磺隆-乙基降解细菌聚生体, 在

温室中用于修复氯嘧磺隆污染的 (20 mg/kg) 土壤, 60 d 后降解率达到 80.02%。Cheng 等^[24]对 D310-1 进行了 RNA-Seq 分析, 根据 qRT-PCR, 提出羧酸酯酶、细胞色素 P-450 和糖基转移酶 3 个基因参与氯嘧磺隆的生物降解。本研究从氯嘧磺隆污染土壤中分离到 1 株高效氯嘧磺隆降解菌, 经鉴定为假单胞菌 *Pseudomonas* sp.。氯嘧磺隆 200 mg/L, 30 °C, pH 8.0, 接种量 4%, 装液量 100 mL/250 mL, 培养 5 d, 降解率为 93.7%。利用假单胞菌对氯嘧磺隆污染土壤进行生物修复具有巨大潜力。假单胞菌既可以降解氯嘧磺隆, 也可以降解其他磺酰脲类除草剂, 体现了微生物适应环境的多重活性。

降解菌株氯嘧磺隆的效率与菌株活性密切相关, 凡是能够影响微生物活性的因素均能影响它们的降解率。如底物浓度、温度、pH 值、装液量、接种量等因子。其中底物浓度对降解菌的降解效率影响达到极显著水平, 底物浓度小于 300 mg/L 可促进菌株生长, 大于 300 mg/L 则抑制菌株生长。这与刘艳等^[21]在研究恶臭假单胞菌属菌株 L-6 降解特性时得到的结果基本相同, 氯嘧磺隆浓度为 200 mg/L 时, 菌株 L-6 的降解率达到 86.75%。低于或高于该浓度, 菌体生长量和降解率均有所下降。李春艳等^[25]在研究肠杆菌属菌株 D310-5 也得到同样结果。这是因为氯嘧磺隆作为一种复杂的化学物质, 一方面为微生物的生长提供了碳源, 随着浓度增加, 为菌体提供足够的能量, 使菌体大量繁殖, 促进了菌株对氯嘧磺隆的降解; 另一方面氯嘧磺隆具有一定的毒性, 且难以被微生物直接利用, 当氯嘧磺隆浓度过大时, 对菌株产生了毒性, 影响菌株生长, 从而使降解率下降。当氯嘧磺隆的浓度较低时, 菌体可以耐受氯嘧磺隆的毒性, 并能够利用其提供的碳源生长, 当氯嘧磺隆的浓度高于菌体的耐受力时则抑制其生长。菌体对氯嘧磺隆的耐受力因菌而异。

经降解条件优化, 氯嘧磺隆降解菌株 T9DB-01 在实验室条件下较其他菌株表现出显著优良的降

解性能,具有一定的应用潜力,为氯嘧磺隆降解菌株资源提供了有益的补充,关于菌株 T9DB-01 在污染土壤中的降解能力及对后茬敏感作物药害修复能力还需进一步研究。

REFERENCES

- [1] Wang X, Sun SY, Zhang HW. Advances in the research on microbial degradation of sulfonylurea herbicides. *Chin J Ecol*, 2018, 37(11): 3449–3457 (in Chinese).
王新, 孙诗雨, 张惠文. 微生物降解磺酰脲类除草剂的研究进展. *生态学杂志*, 2018, 37(11): 3449–3457.
- [2] Carvalho SJP, Soares DJ, Lopez-Ovejero RF, et al. Soil persistence of chlorimuron-ethyl and metsulfuron-methyl and phytotoxicity to corn seeded as a succeeding crop. *Planta Daninha*, 2015, 33(2): 331–339.
- [3] Zhang XL, Li X, Zhang CG, et al. Ecological risk of long-term chlorimuron-ethyl application to soil microbial community: an *in situ* investigation in a continuously cropped soybean field in Northeast China. *Environ Sci Pollut Res*, 2011, 18(3): 407–415.
- [4] Wang ME, Zhou QX. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2005, 60(2): 169–175.
- [5] Yin XH, Li SN, Zhang L, et al. Evaluation of DNA damage in Chinese toad (*Bufo bufo gargarizans*) after *in vivo* exposure to sublethal concentrations of four herbicides using the comet assay. *Ecotoxicology*, 2008, 17(4): 280–286.
- [6] Singh B, Singh K. Microbial degradation of herbicides. *Crit Rev Microbiol*, 2016, 42(2): 245–261.
- [7] Zhang XL, Zhang HW, Li X, et al. Isolation and characterization of *Sporobolomyces* sp. LF1 capable of degrading chlorimuron-ethyl. *J Environ Sci*, 2009, 21(9): 1253–1260.
- [8] Sharma S, Banerjee K, Choudhury PP. Degradation of chlorimuron-ethyl by *Aspergillus niger* isolated from agricultural soil. *FEMS Microbiol Lett*, 2012, 337(1): 18–24.
- [9] Zhang H, Mu WH, Hou ZG, et al. Biodegradation of nicosulfuron by the bacterium *Serratia marcescens* N80. *J Environ Sci Health Part B*, 2012, 47(3): 153–160.
- [10] Zhang Q, Wang BC, Cao ZY, et al. Plasmid-mediated bioaugmentation for the degradation of chlorpyrifos in soil. *J Hazard Mater*, 2012, 221–222: 178–184.
- [11] Ma JP, Wang Z, Lu P, et al. Biodegradation of the sulfonylurea herbicide chlorimuron-ethyl by the strain *Pseudomonas* sp. LW3. *FEMS Microbiol Lett*, 2009, 296(2): 203–209.
- [12] Zhang H, Zhang XH, Mu WH, et al. Biodegradation of chlorimuron-ethyl by the bacterium *Klebsiella jilinsis* 2N3. *J Environ Sci Health Part B*, 2010, 45(6): 501–507.
- [13] Lu XH, Kang ZH, Tao B, et al. Degradation of nicosulfuron by *Bacillus subtilis* YB1 and *Aspergillus niger* YF1. *Appl Biochem Microbiol*, 2012, 48(5): 460–466.
- [14] Yang LQ, Li XY, Xu L, et al. Bioremediation of chlorimuron-ethyl-contaminated soil by *Hanschlegelia* sp. strain CHL1 and the changes of indigenous microbial population and N-cycling function genes during the bioremediation process. *J Hazard Mater*, 2014, 274: 314–321.
- [15] Li CY, Zang HL, Yu Q, et al. Biodegradation of chlorimuron-ethyl and the associated degradation pathway by *Rhodococcus* sp. D310-1. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23(9): 8794–8805.
- [16] Zang HL, Yu Q, Lv TY, et al. Insights into the degradation of chlorimuron-ethyl by *Stenotrophomonas maltophilia* D310-3. *Chemosphere*, 2016, 144: 176–184.
- [17] Pan X, Wang SG, Shi N, et al. Biodegradation and detoxification of chlorimuron-ethyl by *Enterobacter ludwigii* sp. CE-1. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 150: 34–39.
- [18] Xiao YC. Screening, identification and degradation characteristics of long-residual herbicide chlorampsulfuron-degrading bacteria[D]. Harbin: Heilongjiang University, 2011 (in Chinese).
肖延臣. 长残效除草剂氯嘧磺隆降解菌的筛选鉴

- 定及其降解特性研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2011.
- [19] Buchanan RE, Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Translation Group of Berger Bacteria Identification Manual, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, trans. Beijing: Science Press, 1984: 760–761 (in Chinese).
布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册. 8 版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 1984: 760–761.
- [20] Yin LB, Liu Y, Zhang DY, et al. Research progress of microbial degradation of the sulfonylurea herbicides. *Microbiol China*, 2010, 37(4): 594–600 (in Chinese).
尹乐斌, 刘勇, 张德咏, 等. 磺酰脲类除草剂残留的微生物降解研究进展. *微生物学通报*, 2010, 37(4): 594–600.
- [21] Liu Y, Fan LW, Wang XP. Isolation identification and degradation characteristics of chlorimuron-ethyl degradation bacteria L-6. *Chin Agric Sci Bull*, 2010, 26(19): 339–343 (in Chinese).
刘艳, 范丽薇, 王晓萍. 氯嘧磺隆降解菌 L-6 的分离鉴定及其降解特性. *中国农学通报*, 2010, 26(19): 339–343.
- [22] Zhang UJ, Chen YF, Fang T, et al. Co-metabolic degradation of tribenuron methyl, a sulfonylurea herbicide, by *Pseudomonas* sp. strain NyZ42. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2013, 76: 36–40.
- [23] Li CY, Lv TY, Liu WJ, et al. Efficient degradation of chlorimuron-ethyl by a bacterial consortium and shifts in the aboriginal microorganism community during the bioremediation of contaminated-soil. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017, 139: 423–430.
- [24] Cheng Y, Zang HL, Wang HL, et al. Global transcriptomic analysis of *Rhodococcus erythropolis* D310-1 in responding to chlorimuron-ethyl. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 157: 111–120.
- [25] Li CY, Cao HM, An XJ, et al. Isolation and identification of a chlorimuron-ethyl-degrading bacterium and optimization of its degradation conditions. *J Northeast Agric Univ*, 2016, 47(4): 65–72 (in Chinese).
李春艳, 曹会鸣, 安雪姣, 等. 一株氯嘧磺隆高效降解菌分离鉴定及降解条件优化. *东北农业大学学报*, 2016, 47(4): 65–72.

(本文责编 陈宏宇)