

乙羧氟草醚降解菌 *Pseudomonas* sp. YF1 的 分离、鉴定与降解特性*

邱吉国 郑金伟 张 隽 李顺鹏 何 健**

(南京农业大学生命科学学院, 农业部农业环境微生物工程重点开放实验室 南京 210095)

摘 要 从生产乙羧氟草醚工厂的污水处理池污泥中分离到一株乙羧氟草醚降解细菌, 命名为YF1. 根据表型特征、生理生化特性和16S rDNA序列系统发育分析, 将其鉴定为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.). 接种量为5%时, 菌株YF1在含200 mg/L乙羧氟草醚的基础盐液体培养基中降解乙羧氟草醚, 7 d后降解率约80%. 加大接种量和外加营养碳氮源可以促进乙羧氟草醚的降解. 该菌株降解乙羧氟草醚的最适pH为7.0, 最适温度为30 °C. 菌株YF1能利用苯酚、邻苯二酚、对苯二酚、苯甲酸、龙胆酸、对硝基苯酚和邻氯苯酚为底物生长, 不能利用3-苯氧基苯甲酸为碳源生长, 菌株YF1细胞内邻苯二酚1,2-双加氧酶受到乙羧氟草醚或其代谢产物的诱导. 图5 表1 参25

关键词 乙羧氟草醚; 假单胞菌; 生物降解; 降解特性

CLC X172

Isolation, Identification and Characteristics of a Fluoroglycofen-ethyl-degrading Bacterium YF1*

QIU Jiguo, ZHENG Jinwei, ZHANG Jun, LI Shunpeng & HE Jian**

(Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract The use of organofluorine compounds has been increased in recent years, and some of the compounds are now ubiquitous environmental contaminants. Although generally viewed as recalcitrant because of their lack of chemical reactivity, a lot of fluorinated organisms are biologically active. The pesticides containing fluorine is now the hot spot of research and development. Fluoroglycofen-ethyl is one kind of herbicides having been widely used recently. A bacterial strain designated as strain YF1, capable of degrading fluoroglycofen-ethyl efficiently, was isolated from sludge in a wastewater treatment installation that had long been used to treat fluoroglycofen-ethyl polluted water. Strain YF1 was identified preliminarily as *Pseudomonas* sp. based on its physiological and biochemical characters and the result of the 16S rDNA homologue sequence analysis. This bacterium could degrade 80% of 200 mg/L fluoroglycofen-ethyl in 7 d. Large initial inoculum size and additional nutrients could promote the degradation. The optimal pH and temperature for fluoroglycofen-ethyl degradation were 7.0 and 30 °C, respectively. Strain YF1 used phenol, catechol, hydroquinol, benzoic acid, gentisic acid, *p*-nitrophenol and *o*-chlorophenol, but not 3-phenoxybenzoate as sole carbon sources. Catechol 1,2-dioxygenase, but not catechol 2,3-dioxygenase and gentisic acid 1,2-dioxygenase, was induced by fluoroglycofen-ethyl in strain YF1 cells. Fig 5, Tab 1, Ref 25

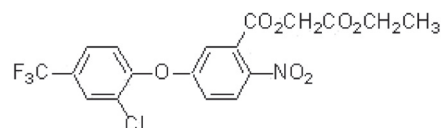
Keywords Fluoroglycofen-ethyl; *Pseudomonas*; biodegradation; degradation characteristics

CLC X172

含氟 (Fluorine) 农药是近几十年来使用的新兴农药. 氟原子具有半径小、电负性大的特点, 将氟原子和含氟基团 (如-CF₃) 引入到具有生物活性的有机化合物中, 能大大提高有机氟化物的稳定性和生理活性, 从而成为当今研究和开发的热点^[1, 2]. 但含氟农药大量使用导致此类农药在土壤和水体环境中的残留, 可能会对生态环境和人体健康构成潜在

威胁, 因此含氟农药在环境中的迁移、转化和分解等环境行为正受到日益关注^[3-7].

乙羧氟草醚 (Fluoroglycofen-ethyl) 的分子式为 C₁₈ H₁₃ ClF₃NO₂, 相对分子质量为 447.8, 化学结构式如下:



属二苯醚类含氟除草剂, 它通过杂草茎叶吸收后进入细胞内部, 破坏细胞膜, 使细胞内容物溢出, 对植物组织产生物理性伤害, 最终导致死亡, 可用于防除小麦、大麦、花生、大豆和稻田的苗后阔叶杂草等^[8, 9]. 目前国内外有关乙羧氟草醚在环境中降解动态方面的研究不多, 如吴凌云等发现在土壤中

收稿日期: 2008-09-05 接受日期: 2008-12-05

*国家高技术研究发展计划 (863计划, No. 2006AA10Z402) 和国家自然科技平台项目 (No. 2005DKA21201-2) Supported by the National High-tech Research and Development Program of China (863 Program, No. 2006AA10Z402) and the National Technology Platform Program of China (No. 2005DKA21201-2)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: hejian@njau.edu.cn)

此种农药的降解动态速度与土壤 pH 和温度关系较大, 升高 pH 和温度有利于乙羧氟草醚的降解^[10, 11]; 国外 Aldo Laganà 等分析和测定了自然界水体中乙羧氟草醚及其代谢产物^[12]. 大量的研究证明, 自然界中存在的多种微生物往往是环境中农药残留分解的重要因素^[13~17], 但到目前为止, 有关乙羧氟草醚的微生物降解尚未见报道. 我们从生产乙羧氟草醚车间的污水处理池污泥中筛选、分离到一株能够降解乙羧氟草醚的假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 细菌, 命名为 YF1, 并对其生理生化特性、降解特性等进行了研究, 以期对乙羧氟草醚在土壤环境中的降解规律研究提供基础资料和科学依据.

1 材料与方法

1.1 培养基与试剂

基础盐培养基 (MM): NH_4NO_3 1.0 g/L, K_2HPO_4 1.5 g/L, KH_2PO_4 0.5 g/L, MgSO_4 0.2 g/L, NaCl 1.0 g/L, pH 7.0. LB培养基: 蛋白胨 10.0 g/L, 酵母膏 5.0 g/L, NaCl 10.0 g/L. 固体培养基加入 2% 的琼脂粉. PBS 缓冲液: Na_2HPO_4 1.2 g/L, KH_2PO_4 0.2 g/L, NaCl 8.0 g/L, KCl 0.2 g/L, pH 8.0. 121 °C、25 min 灭菌.

乙羧氟草醚原药购自江苏扬州某农药厂 (纯度为 98%), 使用前将乙羧氟草醚原药溶于甲醇并过滤除菌, 按所需浓度添加到培养基中. 甲醇 (色谱纯) 购自 Sigma 公司, 分子生物学试剂购于 Takara 公司. 其它化学试剂为分析纯, 购自上海化学试剂有限公司.

1.2 菌株的富集、分离与纯化

富集用污泥取自江苏扬州某农药厂污水处理池. 在 100 mL、50 mg/L 乙羧氟草醚基础盐培养基中加入 5 g 污泥, 30 °C、150 r/min 摇床培养 7 d 后, 以 5% 接种量转接至新的含乙羧氟草醚的基础盐培养基中, 连续富集、转接 5 次, 乙羧氟草醚的浓度逐渐提高到 200 mg/L. 富集培养液经测定有降解效果后, 在含 200 mg/L 的乙羧氟草醚基础盐固体培养基平板上接入 0.2 mL 富集液涂布, 30 °C 培养. 待平板上出现单菌落后, 挑取有透明圈的单菌落划线 3 次进行纯化, 纯化后取单菌于 LB 培养基中扩大培养, 转接至含乙羧氟草醚 200 mg/L 的基础盐液体中, 30 °C、150 r/min 摇床培养, 验证单菌降解效果.

1.3 菌株的鉴定

菌株形态及生理生化特性测定参照文献^[18]进行.

菌株 YF1 的总 DNA 的提取采用高盐法^[19], 并以此作为模板, 进行 16S rDNA 基因的扩增. 用于扩增反应的引物为一对通用引物, 上游引物: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (*E. coli* bases 8 to 27), 下游引物: 5'-TACCTTGTTACGACTT-3' (*E. coli* bases 1 507 to 1 492). 25 μL 体系为: 模板 1 μL , dNTP (25 mmol/L) 2 μL , 引物 (1 mmol/L) 各 1 μL , 10 $\times$ Taq 缓冲液 2.5 μL , Mg^{2+} (25 mmol/L) 1.5 μL , Taq 酶 (5 U/ μL) 0.3 μL , 超纯水 15.7 μL . 聚合酶链式反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 0.5 min, 52 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 循环 30 次; 72 °C 延伸 10 min. 采用 PCR 回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 回收 16S rDNA 的基因片段, 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物的大小 (1.5 kb 左右), TA 克隆后进行测序 (由 BIOAISA 公司完成). 测序结果通过在线分析,

与 RDP 数据库 (<https://rdp.cme.msu.edu/>) 中的 16S rDNA 基因序列进行相似性比较, 鉴定到属.

1.4 降解菌液的制备

在 LB 培养基中接种 YF1, 30 °C、150 r/min 振荡培养至对数期 ($D_{600\text{ nm}}=1.5$), 6 000 r/min、3 min 离心收集菌体, 以 PBS 缓冲液洗涤菌体 2 次, 再以等体积基础盐培养基重悬, 作为接种菌液.

在基础盐培养基中添加不同浓度的乙羧氟草醚, 不同的接种量, 不同的温度或 pH, 不同的营养条件, 研究这些环境因素对菌株降解乙羧氟草醚效率的影响, 在测定某一环境因素时, 其它因素保持不变.

在基础盐培养基中添加苯酚、邻苯二酚、对苯二酚、苯甲酸、龙胆酸、对硝基苯酚、邻氯苯酚和 3-苯氧基苯甲酸作为碳源, 5% 接种量接入 YF1, 测定培养液在 600 nm 的光密度变化来研究对这些芳香族化合物的利用情况.

1.5 乙羧氟草醚含量的测定

采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定乙羧氟草醚的含量. 乙羧氟草醚的提取方法参照文献^[11]进行, 不同的是在氮气吹干后用等体积的甲醇 (色谱纯) 定容. HPLC 测定条件如下: 高效液相色谱仪 (Waters 600); 色谱柱 Agilent TC-C18 柱, 4.6 mm $\times$ 250 mm (i.d), 5 μm ; 以甲醇 (色谱纯) 为流动相, 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL/min, 进样量 15 μL .

1.6 细胞粗酶液的制备

菌株 YF1 分别接种到 100 mL 葡萄糖为碳源的基础盐培养基及 100 mL 含 200 mg/L 乙羧氟草醚的以葡萄糖为碳源的基础盐培养基中, 生长到稳定期后, 12 000 r/min 离心 5 min, PBS 缓冲液洗涤菌体 2 次, 然后重悬于 10 mL 的 PBS 缓冲液中, 超声破碎 (Auto Science, UH-650B ultrasonic processor, 30% intensity) 5 min, 12 000 r/min, 4 °C 离心 10 min, 回收上清作为粗酶液用于酶活测定.

1.7 酶活测定

邻苯二酚 1,2-双加氧酶和邻苯二酚 2,3-双加氧酶活性测定参照文献^[20, 21]. 3-苯氧基苯甲酸氧化酶和原儿茶酸 3,4-双加氧酶活性测定参照文献^[22]. 龙胆酸 1,2-双加氧酶活性测定参照文献^[23]. 酶活单位定义为每分钟催化生成 1 μmol 产物所需的酶量. 蛋白浓度测定参照文献^[24].

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离及生理生化特性

采用富集培养的方法, 从长期生产乙羧氟草醚的工厂的污泥样品分离获得一株乙羧氟草醚降解菌, 命名为 YF1, 该菌能在含乙羧氟草醚 200 mg/L 的基础盐液体培养基中降解乙羧氟草醚, 降解率约为 80% (图 1). 同时, 菌株 YF1 可在含乙羧氟草醚的 LB 平板上形成透明圈 (图 2).

菌株 YF1 在 LB 固体培养基上生长 7 d 后, 菌落呈黄色, 圆形, 隆起, 表面光滑, 湿润, 边缘整齐, 不透明. 在透射电子显微镜下该菌呈短杆状或卵形状 (0.4~0.5 μm $\times$ 0.8~1 μm), 端生单根鞭毛 (图 3). 革兰氏反应、甲基红试验 (M.R.)、明胶液化反应为阴性, 接触酶、氧化酶和 VP 反应为阳性. 不水解淀粉, 葡萄糖发酵产酸. 菌株对 50 mg/L 氨基青霉素具有抗性, 而对 20 mg/L 卡那霉素、链霉素、四环素、壮观霉素、先锋霉素、氯

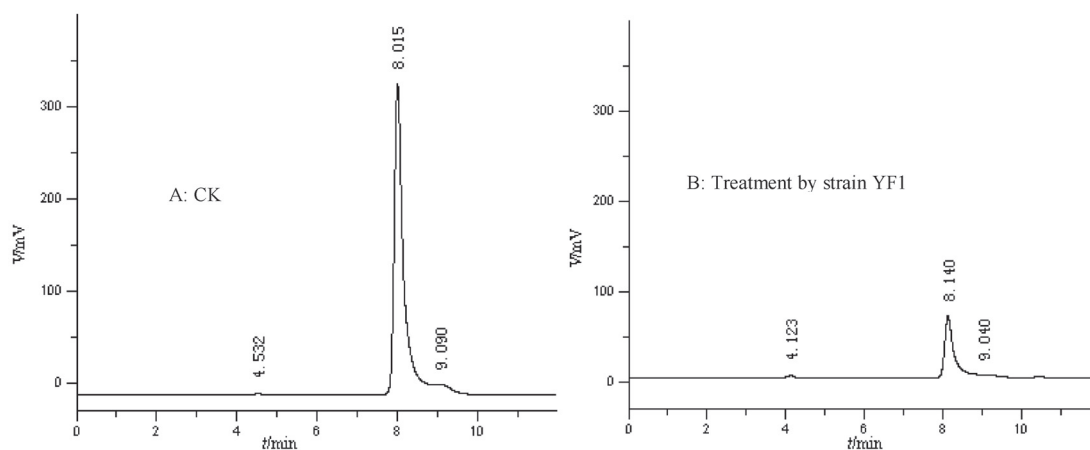


图1 YF1降解乙羧氟草醚的HPLC分析

Fig. 1 HPLC analysis of biodegradation of fluoroglycofen-ethyl by strain YF1

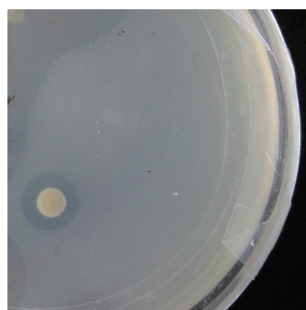


图2 YF1在LB加乙羧氟草醚平板上形成透明圈

Fig. 2 Fluoroglycofen-ethyl degrading bacterium YF1 on LB agar plate
霉素、庆大霉素等敏感。好氧条件下, YF1在LB培养基中生长的最适pH为7.0, 最适温度为30℃, 最适NaCl浓度为1%。

2.2 菌株16S rDNA测定及系统进化树构建

以YF1的基因组DNA为模板, 用细菌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。测序后在GenBank上登录, 序列号为EU220238。在RDP数据库 (<https://rdp.cme.msu.edu/>)中进行BLAST, 并应用MEGA软件作系统发育树(图4), 结果表明, 菌株YF1与*Pseudomonas citronellolis* (Z76659)的同源性为98.8%, 与*Pseudomonas*

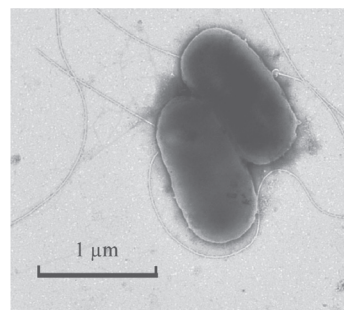


图3 菌株的透射电镜照片

Fig. 3 Electronic microscopy photograph of strain YF1

jinjuensis (AF468448)的同源性为98.1%。一般认为, 当某两个细菌的16S rDNA同源性大于95%时, 可将其归为同一属^[25]。因此, 结合生理生化特性, 将YF1鉴定为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。

2.3 温度对YF1降解乙羧氟草醚的影响

在基础盐培养基中添加乙羧氟草醚浓度至200 mg/L, 5%接种量接入YF1菌液, 设接种灭活的YF1为对照, 分别在20、25、30、35、42℃和150 r/min摇床培养7 d后取样测定乙羧氟草醚含量。结果(图5-A)显示, 温度对YF1降解乙羧氟草

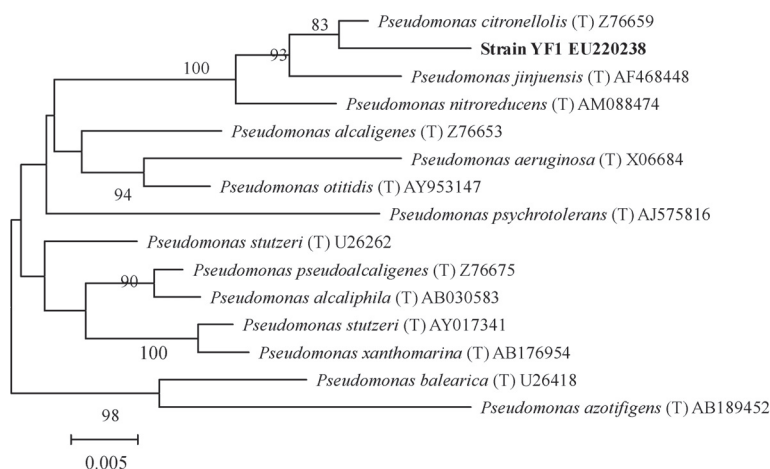


图4 菌株YF1的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequence of strain YF1

醚的影响较大, 菌株YF1在较低和较高的温度下对乙羧氟草醚的降解率在40%以下; 在25~30 ℃时降解效果较好, 降解率都能达到75%以上; 降解的最适温度为30 ℃.

2.4 pH对YF1降解乙羧氟草醚的影响

在不同pH的基础盐培养基中添加乙羧氟草醚浓度至200 mg/L, 5%接种量接入YF1菌液, 设接种灭活的YF1为对照, 30 ℃、150 r/min培养7 d后取样测定乙羧氟草醚浓度. 结果(图5-B)显示, 乙羧氟草醚的降解在pH 4.0时最差; pH 6~7之间较好, 降解率都达到70%以上; 降解的最适pH为7.0.

2.5 接种量对YF1降解乙羧氟草醚的影响

在基础盐培养基中添加乙羧氟草醚浓度至200 mg/L, 以0%、1%、3%、5%、7%的接种量接入YF1菌液, 设相应接种灭活的YF1为对照, 30 ℃、150 r/min摇床培养7 d后取样测定乙羧氟草醚含量. 结果(图5-C)显示, 当接种量小于5%时, 乙羧氟草醚的降解效率受到YF1接种量的显著影响, 接种量越大降解效果越好; 但接种量大于5%时, 降解效率趋于平稳, 最终降解率不会随接种量的增加而显著增大.

2.6 乙羧氟草醚起始浓度对YF1降解乙羧氟草醚的影响

在基础盐培养基中添加不等量的乙羧氟草醚, 使其终浓度为50、100、150、200、300、400 mg/L, 以5%接种量接入

YF1菌液, 设接种灭活的YF1为对照, 30 ℃、150 r/min摇床培养7 d后取样测定乙羧氟草醚含量. 结果(图5-D)显示, YF1对较低浓度的乙羧氟草醚有较好的降解效果, 当乙羧氟草醚浓度超过200 mg/L时, YF1的降解效果显著下降, YF1几乎不能降解浓度超过400 mg/L的乙羧氟草醚, 这可能是由于过高浓度的乙羧氟草醚对YF1菌株产生毒害作用而抑制其生长.

2.7 不同营养条件对YF1降解乙羧氟草醚的影响

在基础盐培养基中添加乙羧氟草醚浓度至200 mg/L, 分别添加50 mg/L的蛋白胨、酵母膏、葡萄糖, 以5%接种量接入YF1菌液, 设接种灭活的YF1为对照, 30 ℃、150 r/min摇床培养7 d后取样测定乙羧氟草醚含量. 结果(图5-E)显示, 外加3种营养均能够促进YF1对乙羧氟草醚的降解. 蛋白胨和酵母膏的促进效果较大, 葡萄糖相对较小, 可能的原因是蛋白胨和酵母膏较葡萄糖营养丰富, 相对均衡.

2.8 菌株YF1对各种芳香族化合物的利用情况

乙羧氟草醚分子结构为两个带侧链基团的苯环通过醚键连结, 目前其微生物降解途径还未见报道, 为研究菌株YF1降解乙羧氟草醚可能的代谢途径, 测定了菌株YF1对乙羧氟草醚可能的下游代谢产物的利用及氧化还原酶的诱导情况. 底物利用情况结果显示, YF1能利用苯酚、邻苯二酚、

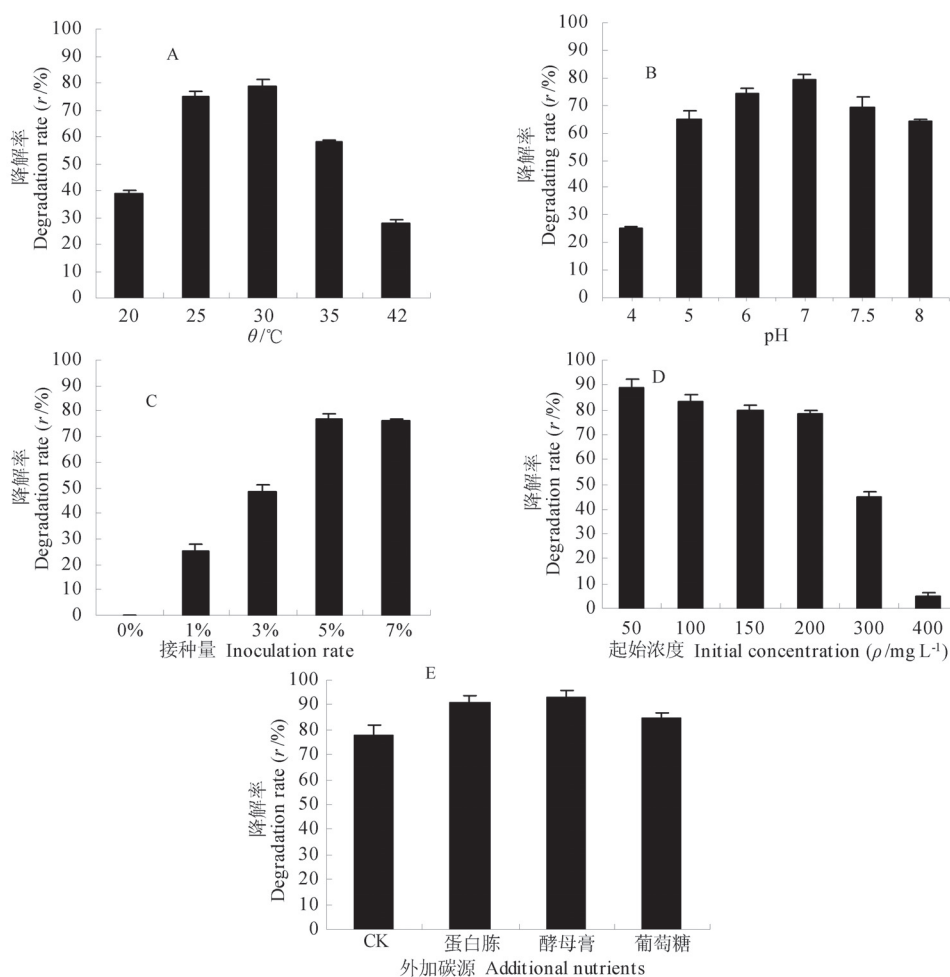


图5 环境条件对YF1降解乙羧氟草醚的影响
Fig. 5 Effect of different conditions on fluoroglyphen-ethyl degradation by strain YF1

对苯二酚、苯甲酸、龙胆酸、对硝基苯酚和邻氯苯酚等,但不能利用3-苯氧基苯甲酸。

测定了菌株YF1在添加及不添加200 mg/L乙羧氟草醚的培养基中生长的细胞内3-苯氧基苯甲酸氧化酶、龙胆酸1,2-双加氧酶、邻苯二酚1,2-双加氧酶和邻苯二酚2,3-双加氧酶的活性。结果(表1)显示,在没有添加乙羧氟草醚的培养基中生长的细胞粗酶液中未检测到上述各种酶的酶活,而在添加了200 mg/L乙羧氟草醚的培养基中生长的细胞粗酶液检测到邻苯二酚1,2-双加氧酶的活性,但没有检测到3-苯氧基苯甲酸氧化酶、龙胆酸1,2-双加氧酶和邻苯二酚2,3-双加氧酶的酶活。

表1 乙羧氟草醚诱导及不诱导条件下*Pseudomonas* sp. YF1各种降解酶酶活

Table 1 Specific activities of enzymes in the cell-free extract of *Pseudomonas* sp. YF1

酶 Enzyme	酶活 Specific activity (Unit/mg of protein)	
	MM不添加乙羧 氟草醚 MM-grown cells	MM添加乙羧氟草醚 MM supplemented with fluoroglycofen-ethyl
3-苯氧基苯甲酸氧化酶 3-phenoxybenzoate oxygenase	0	0
龙胆酸1,2-双加氧酶 Getisic acid 1,2-dioxygenase	0	0
邻苯二酚1,2-双加氧酶 Catechol 1, 2-dioxygenase	0	0.58±0.11
邻苯二酚2,3-双加氧酶 Catechol 2,3-dioxygenase	0	0

细菌对芳烃化合物的好氧降解有3种基本途径,一种是通过邻苯二酚1,2-双加氧酶在两个羟基之间开环,称为邻位裂解途径;一种是通过邻苯二酚2,3-双加氧酶在两个羟基之旁开环,称为间位裂解途径;另一种是通过龙胆酸途径。邻苯二酚1,2-双加氧酶而非邻苯二酚2,3-双加氧酶和龙胆酸1,2-双加氧酶受到乙羧氟草醚或其代谢产物的诱导,说明菌株YF1是通过邻苯二酚邻位裂解途径降解乙羧氟草醚的下游中间产物,菌株YF1虽能利用龙胆酸作为底物,但并非通过龙胆酸1,2-双加氧酶途径来降解乙羧氟草醚的下游中间产物。菌株YF1不能利用3-苯氧基苯甲酸,且3-苯氧基苯甲酸氧化酶不受乙羧氟草醚或其代谢产物的诱导,说明菌株YF1对乙羧氟草醚降解可能不是通过3-苯氧基苯甲酸或其衍生物作为中间产物,而可能是醚键先断裂,生成苯的衍生物再进入下一步降解。综上所述,推测菌株YF1降解乙羧氟草醚可能是先断裂二苯醚键,然后脱去苯环上的侧链,最终通过邻苯二酚1,2-双加氧酶裂解开环。

3 结论

3.1 从生产乙羧氟草醚工厂的污水处理池污泥中分离到一株乙羧氟草醚降解细菌YF1,根据表型特征、生理生化特性和16S rDNA基因序列相似性分析,将其鉴定为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)细菌。

3.2 菌株YF1降解乙羧氟草醚的最适温度为30℃,最适pH为7.0。YF1的降解效果与接种量成正相关,接种量大于5%时有较高降解效果。YF1对较低浓度的乙羧氟草醚有很好的降解效果,过高的起始浓度抑制YF1对乙羧氟草醚的降解。外加营养特别是均衡的营养能够促进YF1对乙羧氟草醚的降解。

3.3 菌株YF1能利用苯酚、邻苯二酚、对苯二酚、苯甲酸、龙

胆酸、对硝基苯酚和邻氯苯酚为底物生长,不能利用3-苯氧基苯甲酸为碳源生长,菌株YF1细胞内邻苯二酚1,2-双加氧酶受到乙羧氟草醚或其代谢产物的诱导。

References

- 1 Zhang YB (张一宾), Qian YY (钱跃言). Structure speciality and researching development survey of pesticide containing fluorine. *Jiangsu Chem Ind* (江苏化工), 2002, **30** (2): 13~15
- 2 Zhang GZ (张广忠), Yang YR (杨燕茹), Hao YA (郝爱友). 含氟农药发展概况. *Organo-Fluorine Ind* (有机氟工业), 2004, **2**: 28~29
- 3 Key BD, Howell RD, Criddle CS. Fluorinated organics in the biosphere. *Environ Sci Technol*, 1997, **31** (9): 2445~2454
- 4 Yu H (余慧), Zhou Q (周琪). Biological transformation of organofluorine compounds. *Sichuan Environ* (四川环境), 2005, **24** (4): 54~58
- 5 Ling Y (凌云), Chu XG (储晓刚), Yong W (雍炜), Wang DN (王大宁), Cui XY (崔新仪). Degradation of fipronil during making pickle. *Chin J Food Hygiene* (中国食品卫生杂志), 2007, **19** (6): 495~498
- 6 Guo M (郭敏), Shan ZJ (单正军), Shi LL (石利利). Studies on the degradation characteristics of Fipronil in three kinds of soils. *Chin J Pesticide Sci* (农药学报), 2008, **10** (3): 335~342
- 7 Zong HM (宗虎民), Ma DY (马德毅), Wang JY (王菊英), Hu JT (户江涛). Effects of florfenicol on microbial activity in marine sediment. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2008, **14** (3): 408~412
- 8 Yu HF (于海峰). 乙羧氟草醚的生物学特性研究. *Pesticide* (农药), 2001, **40** (5): 31~36
- 9 Liu CL (刘长令). 世界农药大全除草剂卷. Beijing, China (北京): Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2002. 190~192
- 10 Wu LY (吴凌云), Tao CJ (陶传江), Pu XY (朴秀英), Jiang H (姜辉), Li XF (李学锋), Wang CJ (王成菊). Residue analysis and degradation dynamics of fluoroglycofen-ethyl in soils. *J Agro-Environ Sci* (农业环境科学学报), 2006, **25** (6): 1659~1662
- 11 Wu LY (吴凌云), Tao CJ (陶传江), Zong FL (宗伏霖), Pu XY (朴秀英), Jiang H (姜辉), Li XF (李学锋), Wang CJ (王成菊). Degradation dynamics of fluoroglycofen-ethyl in water. *Chin J Pesticide Sci* (农药学报), 2007, **9** (1): 96~99
- 12 Laganà A, Fago G, Fasciani L, Marino A, Mosso M. Determination of diphenyl-ether herbicides and metabolites in natural waters using high-performance liquid chromatography with diode array tandem mass spectrometric detection. *Anal Chim Acta*, 2000, **414**: 79~94
- 13 Cheng GF (程国锋), Li SP (李顺鹏), Shen B (沈标), Yang JH (杨军辉). Microbial degradation of residual pesticides in vegetable. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 1998, **4** (1): 81~84
- 14 Topp E, Zhu H, Nour S, Houot S, Lewis M, Cuppels D. Characterization of an atrazine-degrading *Pseudaminobacter* sp. isolated from Canadian and French agricultural soils. *Appl Envir Microbiol*, 2000, **66** (7): 2773~2782
- 15 Zheng JL (郑金来), Li JW (李君文), Chao FH (晁福寰). Advance and prospect of microorganism degrading common pesticide. *Res Environ Sci* (环境科学研究), 2001, **14** (2): 62~64
- 16 Yang XH (杨小红), Li J (李俊), Ge C (葛诚), Shen DL (沈德龙). Nonel advanceson pesticides degradation by microognisms. *Microbiology* (微

- 生物学通报), 2003, **30** (6): 93~96
- 17 Gou M (苟敏), Qu YY (曲媛媛), Yang H (杨桦), Zhou JT (周集体), Li A (李昂), Guan XY (关晓燕), Ai FF (艾芳芳). *Sphingomonas* sp.: A novel microbial resource for biodegradation of aromatic compounds. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2008, **14** (2): 276~282
- 18 Dong XZ (东秀珠), Cai MY (蔡妙英). Identification Manual of Common Bacteria System. Beijing, China (北京): Science Press (科学出版社), 2001. 370~410
- 19 奥斯伯F, 布伦特R, 金斯顿RE. Short Protocols in Molecular Biology. Beijing, China (北京): Science Press (科学出版社), 1999. 39
- 20 Shen XH (沈锡辉), Liu ZP (刘志培), Wang BJ (王保军), Liu SJ (刘双江). Isolation, identification of phenol-degrading *Rhodococcus* sp. strain PNaN5 and characterization of its ring-cleavage dioxygenases. *Acta Sci Circumst* (环境科学学报), 2004, **24** (3): 482~486
- 21 Ren HS (任河山), Wang Y (王颖), Zhao HB (赵化冰), Cai BL (蔡宝立). Isolation and identification of phenol-degrading strains and the application in biotreatment of phenol-containing wastewater. *Environ Sci* (环境科学), 2008, **29** (2): 482~487
- 22 Tallur PN, Megadi VB, Ninnekar HZ. Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN1. *Biodegradation*, 2008, **19** (1): 77~82
- 23 Zhou NY, Fuenmayor SL, Williams PA. nag genes of *Ralstonia* (formerly *Pseudomonas*) sp. strain U2 encoding nzymes for gentisate catabolism. *J Bacteriol*, 2001, **183**: 700~708
- 24 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Anal Biochem*, 1976, **72** (1): 248~254
- 25 Yang SS (杨苏声). 细菌分类学. Beijing, China (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1997. 1~7

欢迎订阅2010年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办, 中国科学院主管, 科学出版社出版。中文核心期刊、中国科技核心期刊, 被美国化学文摘、国际农业生物学文摘、美国乌利希国际期刊指南以及中国科学引文数据库、中国期刊全文数据库等多家检索系统和数据库收录。荣获第三届、四届全国农业优秀期刊一等奖和首届北方优秀期刊奖, 连续三届获得河北省优秀期刊奖。

《中国生态农业学报》主要报道农业生态学、生态学、农业资源与环境保护、农业生态经济学及生态农业建设等领域创新性研究成果。适于从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生, 农业及环境管理工作者和基层从事生态农业建设的广大技术人员阅读与投稿。

《中国生态农业学报》国内外公开发行, 国内刊号CN13-1315/S, 国际刊号ISSN1671-3990。双月刊, 国际标准大16开本, 192页, 每期定价35元, 全年210元。邮发代号: 82-973, 全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接汇款至编辑部补订(需另加邮资24.00元)。

地址: (050021)河北省石家庄市槐中路286号 《中国生态农业学报》编辑部

电话: (0311)85818007 传真: (0311)85815093

网址: <http://www.ecoagri.ac.cn> E-mail: editor@sjziam.ac.cn