

阿特拉津降解菌 FM326(*Arthrobacter* sp.)的 分离筛选、鉴定和生物学特性

李明锐, 祖艳群, 陈建军, 湛方栋, 何永美, 李 元*

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

摘 要:采集除草剂阿特拉津污染的土壤,通过直接涂布法和富集驯化培养分离法,分别获得 6 株和 5 株能够降解阿特拉津的细菌。通过降解效率和降解动态试验,筛选到 1 株高效降解阿特拉津的菌株 FM326,该菌株能以阿特拉津为唯一的碳源和氮源生长,培养 96 h 后对 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿特拉津降解效率达到 97%。通过生理生化鉴定和 16S rDNA 序列分析,菌株 FM326 鉴定为节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)细菌。该菌株表现出最适生长温度 $30\sim 35\ ^\circ\text{C}$,最适生长 pH 值 5~9,好氧生长的生长特性。

关键词:阿特拉津;降解菌;节杆菌属;降解效率

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)11-2242-07

Isolation, Screening and Identification of Atrazine-degrading Bacterium FM326(*Arthrobacter* sp.)

LI Ming-rui, ZU Yan-qun, CHEN Jian-jun, ZHAN Fang-dong, HE Yong-mei, LI Yuan*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The triazine herbicide atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropyl-amino-s-triazine) is one of the most used pesticides. Atrazine is principally used for control of certain annual broadleaf and grass weeds, primarily in corn but also in sorghum, sugarcane, and other crops. Although atrazine has relatively low persistency in soil, its remanets have been found in many higher concentrations even years after application due to widespread use. Microbial remediation is an effective and economic method to control the environment that has been polluted by atrazine. From herbicide contaminated soil, 5 atrazine degrading bacterial strains were isolated by enrichment culture, and 6 atrazine-degrading bacterial strains were isolated by direct coating method. In the 11 strains, FM326 was screened out as the most highly efficient degradation bacteria by degradation test and could use atrazine as the sole carbon and nitrogen sources for growth. The degradation efficiency of strain FM326 was up to 97% within 96 hours while atrazine concentration was $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Strain FM326 was identified as *Arthrobacter* sp. according to physiological and biochemical tests and the phylogenetic tree established by means of 16S rDNA sequencing. Moreover, strain FM326 was aerobic bacteria, its optimum temperature and pH value for growth was $30\sim 35\ ^\circ\text{C}$ and 5~9, respectively. Strain of highly efficient degrading atrazine was found from soils, and which provide a basis for the treatment of contaminated soils by atrazine for the further research.

Keywords: atrazine; degrading bacteria; *Arthrobacter* sp.; degrading efficiency

阿特拉津(Atrazine)又名莠去津,化学名称是2-氯-4-乙氨基-6-异丙氨基-1,3,5 三嗪,是一种广泛使用的除草剂。阿特拉津不易挥发,易在土壤和水体中流动,易溶于水,不易吸附在土壤或沉淀物上。阿特拉津

在土壤中的半衰期是 8~99 d,而在水体中的半衰期是 41~237 d,因环境条件的不同而不同^[1]。由于阿特拉津的使用量大,半衰期长,溶解性较好,迁移率较高,很容易造成水体和土壤污染。目前世界上许多国家在地表水、地下水、雨水和大气中检测出阿特拉津^[1-3]。阿特拉津具有很强的生态毒性,可降低哺乳动物体内雄激素的含量、提高雌激素、改变性成熟时间,甚至导致人乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌的发生率增加^[2,4-5],因此阿特拉津被列为环境荷尔蒙的可疑物质。

收稿日期:2011-09-01

基金项目:云南省自然科学基金项目(2010CD058);云南省教育厅科学研究基金项目(2010Y339)

作者简介:李明锐(1978—),女,河南社旗县人,讲师,博士生,主要从事农业环境保护方面的研究。E-mail:mingrui@yaho.com.cn

* 通讯作者:李 元 E-mail:liyuan03@yahoo.com.cn

阿特拉津在土壤中的分解既有化学降解过程,也有生物降解过程,但以生物降解为主。国内外研究者已经报道了多株可以降解阿特拉津的单一菌株或复合菌群,这些菌株或菌群大多是从受污染的土壤、废水或污泥中,采用富集培养或直接涂布方法得来。近年国内外研究者针对阿特拉津已分离得到了一系列降解菌,如:诺卡氏菌属(*Nocardia*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)、棒杆菌属(*Clavibacter*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)^[6-10]等。然而,不同地域阿特拉津污染及其降解菌的特征有差异,将现有筛选出的阿特拉津降解菌引入到各地农田土壤,可能对当地生物与环境造成生物安全等方面的问题。因此有必要从不同地域土壤筛选阿特拉津高效降解菌,为不同地域阿特拉津污染土壤的修复提供科学材料。

在云南主产甘蔗的西双版纳和德宏等州市,阿特拉津被广泛用来控制甘蔗田杂草生长,云南阿特拉津商品药的用量是每年1500 t,对当地农田和水体使用安全构成威胁。然而,有关云南土壤中阿特拉津的高效降解微生物的筛选、降解效率等方面的研究尚未见报道。因此,在云南开展土壤中阿特拉津降解菌的筛选及其生物学特性研究,对于云南农田阿特拉津污染控制与修复具有重要的实际和理论意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2009年6月从昆明农药厂富民分厂采集10个0~20 cm土样和2个污泥样。

1.2 培养基和培养条件

牛肉膏蛋白胨培养基和基础无机盐培养基见文献[11]。菌株的培养条件是:30℃,120 r·min⁻¹摇床振荡培养。

阿特拉津原药(纯度98%,由昆明农药厂富民分厂提供)用丙酮配成0.1 g·mL⁻¹悬浮液,每次按需量加入培养基中。

1.3 富集驯化培养和直接涂布法分离土样中的阿特拉津降解菌株

富集驯化分离:每个土样取5.0 g,在无菌操作条件下,加入到含有200 mg·L⁻¹阿特拉津的100 mL无机盐液体培养基中驯化培养。每隔7 d取培养物接种到新鲜的培养基中,接种量为10%,培养基中阿特拉津的含量增加100 mg·L⁻¹。连续驯化培养2个月,直

至培养基中阿特拉津的终浓度达到1000 mg·L⁻¹。将阿特拉津驯化浓度为600 mg·L⁻¹、700 mg·L⁻¹、800 mg·L⁻¹、900 mg·L⁻¹、1000 mg·L⁻¹时的富集培养物分别稀释10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸倍,各取0.1 mL分别涂布于添加相应阿特拉津浓度的无机盐平板上,置于30℃恒温培养箱中培养。培养结束后,在无机盐平板上挑取有透明降解圈的单菌落,连续划线纯化培养3次,得到纯化菌株^[11]。

直接涂布分离:称取土样10.0 g,放入90 mL无菌水中,摇床振荡1 h,稀释到10⁻²~10⁻⁴,取稀释液涂布于添加了阿特拉津(1000 mg·L⁻¹)的基础盐平板上,30℃培养2~5 d后,挑取有明显降解圈的菌落,连续划线纯化培养获得单菌落,4℃冰箱冷藏保存。

1.4 菌株对阿特拉津的降解效率及其降解动态

降解试验:将OD₆₀₀=1的菌悬液^[11]以1%的接菌量接种于阿特拉津浓度为1000 mg·L⁻¹的无机盐液体培养基中培养7 d,每株菌做3个重复,设不接菌的无机盐液体培养基为空白对照,上述操作均在无菌条件下进行。

反应体系中阿特拉津的提取:降解实验结束后,将培养液转入250 mL分液漏斗中,依次加入10 mL、5 mL、5 mL三氯甲烷和适量的NaCl,剧烈振荡提取1 min,静置2 min,待分层后收集下层有机相,所得溶液4800 r·min⁻¹离心5 min,除去上层残留的液体培养基和菌体,下层有机相转入到容量瓶中,定容到50 mL,从中吸取1 mL,再定容到50 mL,待测^[11]。

降解动态:将OD₆₀₀=1的菌悬液以1%的接种量接种于含有1000 mg·L⁻¹阿特拉津的100 mL无机盐液体培养基中培养,分别于24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h取样检测阿特拉津残留浓度,设3个重复,每日设3个对照。

安捷伦气相色谱GC7890,ECD检测器,温度条件:进样口温度250℃,检测器温度340℃。柱升温程序:150℃保持2 min,15℃·min⁻¹升温至270℃,保持10 min。高纯氮气作为载气和尾吹气,出峰时间为8 min。进样量1 μL。

阿特拉津残留量测定:用紫外分光光度计(北京普析通用T6新世纪,270 nm)或气相色谱测定阿特拉津残留量。

阿特拉津降解率(%)=[1-(残留量/添加量)]×100%

1.5 阿特拉津降解菌的鉴定

生理生化性质的测定^[12]。

降解菌的 16S rDNA 序列分析:(1)降解菌基因组 DNA 提取和纯化^[13];(2)PCR(Bio-Rad 公司的 MyCycler) 扩增 16S rDNA 序列。PCR 扩增引物,27 f:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492r:5'-TACCTTGTACGACTT-3'。PCR 反应体系:10×Taq Buffer (5 μL)d NTP(25 mmol·L⁻¹,4 μL),27f(20 μmol·L⁻¹,1 μL),1492r (20 μmol·L⁻¹,1 μL),DNA 模板 (1 μL),Taq 酶(2.5 U,0.3 μL),ddH₂O,总体积 50 μL。PCR 扩增程序如下:95℃ 预变性 4 min。然后 95℃ 变性 1 min,54℃ 复性 1 min,72℃ 延伸 2 min,共计 30 个循环。最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物测序:测序引物:27 f 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492r 5'-TACCTTGTACGACTT-3'。

测定结果通过在线分析(www.ncbi.nlm.nih.gov),与 GenBank 中的基因序列进行相似性比较,从中获取相近的典型菌株 16S rDNA 序列,用 ClustalX 按照最大同源性的原则进行排序,采用 Kimura-2 计算核苷酸差异值,并用 BioEdit 5.0.9 进行检验,最后用 Nergbor-Joining 法构建系统进化树,自展数(bootstrap)为 1 000。以 16S rDNA 相似性小于 97% 定义为不同分类单元。

1.6 FM326 生长特性的研究

生长温度:将菌悬液以 5% 的转接量接入新鲜的牛肉膏蛋白胨液体培养基中,分别放在 15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、45℃ 恒温摇床培养 24 h 后取菌液稀释 4 倍测定 OD₆₀₀ 值。

生长 pH:将菌悬液以 5% 的转接量接入新鲜的牛肉膏蛋白胨液体培养基中,调节牛肉膏蛋白胨液体培养基的 pH 值分别为 4、5、6、7、8、9、10,培养 24 h 后取菌液测定 OD₆₀₀ 值。

通氧量测定:将牛肉膏蛋白胨液体培养基调至最适 pH 值,取 250 mL 三角瓶分别装入 50 mL、90 mL、130 mL、170 mL、210 mL,接种后置于最适生长温度的条件下,24 h 测定菌夜 OD₆₀₀ 值。

1.7 数据分析统计方法

采用统计软件 DPS6.55,最小显著极差法(LSD)进行差异显著性分析($n=3$)。

2 结果与分析

2.1 阿特拉津降解菌株的筛选和分离

采用无机盐液体培养基对土样和污泥样品驯化培养一段时间后,菌液稀释涂平板,在无机盐固体平板培养基上共发现 5 株可以形成透明降解圈的菌落

(见图 1),分别是:FM326、FM316、FM428、FM641 和 FM532。这 5 株菌连续平板划线纯化后保存,5 株菌在牛肉膏蛋白胨固体平板培养基上的菌落特征见表 1。

表 1 11 株菌在牛肉膏蛋白胨固体平板培养基上的菌落特征
Table 1 Colony characteristics of 11 strains on the solid medium of beef extract

菌株编号	颜色	透明度	形状	表面	边缘
FM326	白色	不透明	圆形	低凸面	——
FM316	黄色(小米样)	不透明	圆形	高凸面	边缘整齐
FM428	黄色(小米样)	不透明	圆形	高凸面	边缘整齐
FM532	白色	不透明	圆形	低凸面	边缘整齐
FM641	白色	不透明	圆形	低凸面	边缘整齐
FM1132	白色	不透明	圆形	高凸面	边缘整齐
FM1131	白色	不透明	圆形	高凸面	——
FM112	浅黄色	不透明	圆形	低凸面	边缘整齐
FM111	白色	不透明	圆形	高凸面	边缘整齐
FM1233	白色	不透明	圆形	低凸面	边缘整齐
FM1133	白色	不透明	圆形	低凸面	边缘整齐

利用直接涂布法获得 6 株可以在含有阿特拉津的无机盐固体培养基上形成透明降解圈的菌落,分别是:FM1132、FM1131、FM112、FM111、FM1233、FM1133,连续平板划线纯化保存。6 株菌在牛肉膏蛋白胨固体培养基上的菌落特征见表 1。

2.2 阿特拉津高效降解菌的筛选

2.2.1 紫外分光光度法定性测定 11 株菌的降解效率

紫外分光光度计法简便快速,因此先用该方法对 11 株菌的降解效率进行定性的了解。FM428、FM111、FM532、FM326 和 FM1233 这 5 株菌培养 7 d 后的降解效率在 86% 以上,以 FM326 最高,达到 98%,与其他 6 株菌达到了显著差异(见图 2)。FM1133 的降解效率是 61%,其余 5 株的降解效率都在 50% 以下,

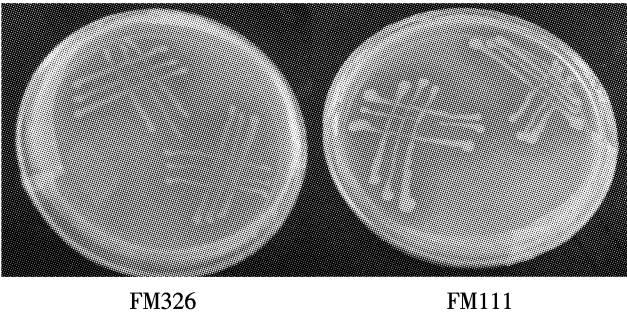


图 1 FM326 和 FM111 在含有阿特拉津的无机盐平板上形成的降解圈

Figure 1 Clear zones on inorganic salt agar plat containing atrazine of FM326 and FM111

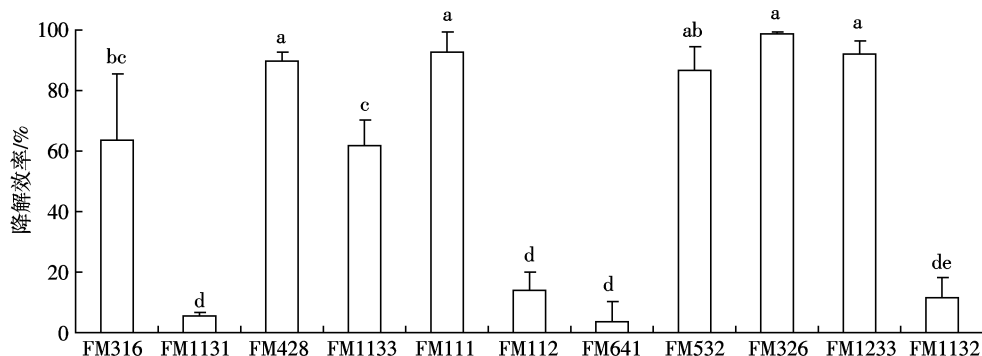


图 2 紫外分光光度计法测定 11 株菌的降解效率

Figure 2 The degradation efficiency of the 11 strains by ultraviolet spectrophotometer

FM641 最低。通过对 11 株降解菌降解效率的定性测定, 确定 FM428、FM111、FM532、FM326 和 FM1233 这 5 株菌为降解效率较高的菌株, 对这 5 株菌的降解效率进行进一步的研究。

2.2.2 气相色谱法定量测定 5 株菌的降解效率

把菌株接种在含有阿特拉津的无机盐培养基中培养 7 d 后, 用气相色谱法定量的测定 5 株菌的降解效率, 结果见图 3。FM326 和 FM111 的降解效率较高, 分别为 91% 和 90%, 与其他 3 株菌之间达到了显著差异。FM532 的降解效率为 46%。FM428 和 FM1233 的降解效率显著低于另外 3 株菌。通过对这 5 株菌降解效率的定量测定, 确定 FM326 和 FM111 为高效降解菌株。

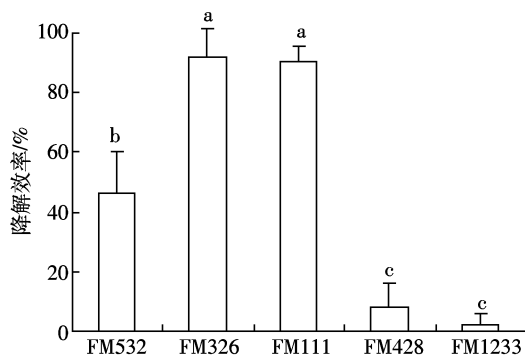


图 3 气相色谱法测定 5 株菌的降解效率

Figure 3 The degradation efficiency of the 5 strains by gas chromatography

2.2.3 FM326 和 FM111 的降解动态

FM326 和 FM111 的降解效率在培养 7 d 后, 2 株菌的降解效率显著高于其它菌株。但是 2 株菌在这 7 d 的培养过程中, 降解动态不同。

如图 4 所示, FM326 培养 24 h 后降解效率为 49%, 培养 48 h 后降解效率为 71%, 培养 72 h 后为

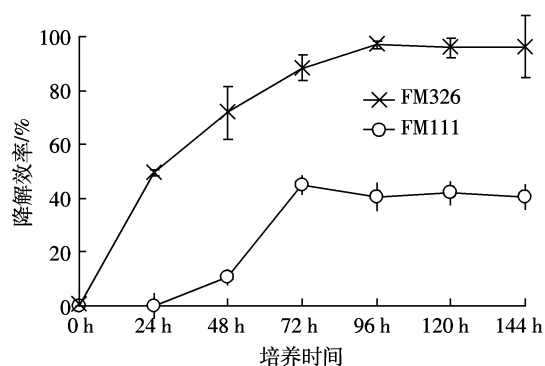


图 4 FM326 和 FM111 的降解动态

Figure 4 Degradation dynamics of FM326 and FM111

88%, 培养 96 h 后为 97%, 之后稳定下来。

FM111 培养 24 h 后对阿特拉津的降解很小, 在实验仪器的精度范围内测不出来, 培养 48 h 后的降解效率为 10%, 培养 72 h 后为 44%, 之后稳定在这个范围, 不再增加。

FM326 和 FM111 相比, 降解效率较高, 而且能在较短的时间内降解效率迅速升高, 因此, 确定 FM326 为阿特拉津高效降解菌。

2.3 菌株 FM326 的鉴定

2.3.1 生理生化鉴定

FM326 是革兰氏阴性杆菌, 好氧, 接触酶阳性, 氧化产酸, 在 0~5% 的 NaCl 中生长。能利用葡萄糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖为单一碳源, 可以利用酵母粉、蛋白胨、氯化铵和硝酸钾为单一氮源生长。

2.3.2 基于 16S rDNA 的 FM326 的系统发育分析

通过 PCR, 克隆到菌株 FM326 的 16S rDNA 序列片段, 将所得序列进行在线 Blast 比对分析。基于 16S rRNA 基因序列构建的 Neighbor-Joining 系统发育树 (图 5) 中, 菌株 FM326 与较近的系统进化邻居

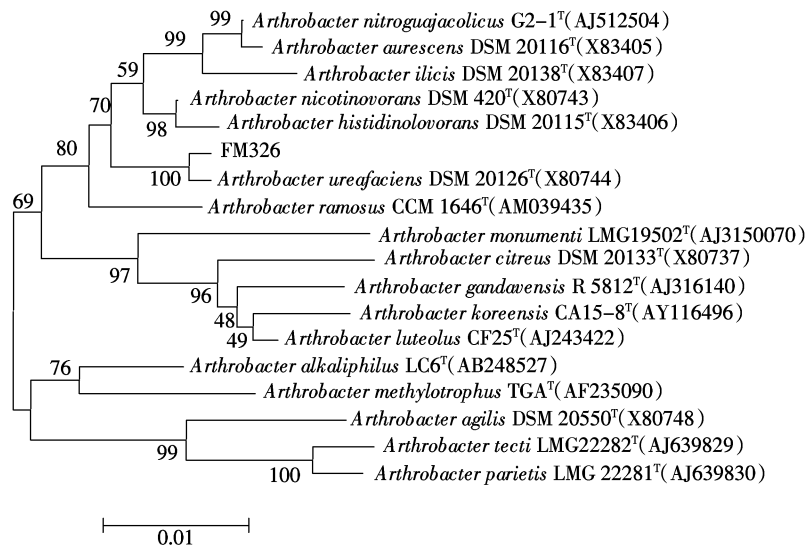


图 5 FM326 的系统发育树

Figure 5 The phylogenetic tree of strain FM326

Arthrobacter ureafaciens DSM 20126^T (产脲节杆菌) 构成一个亚分支,且与其系统进化关系最近,相似性为 99.44%,结合生理生化特征,FM326 被鉴定为节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)。

2.4 FM326 的生长特性

FM326 在 30 ℃和 35 ℃时菌株生长较好,液体培

养基的 OD₆₀₀ 值最大,显著大于其他温度培养的菌液的 OD₆₀₀ 值,因此 FM326 的最适生长温度是 30~35℃ (图 6)。从图 6 可以看出 FM326 在 pH 5~9 这个范围内生长较好,在 pH 4 以下和 pH 10 以上几乎不能生长。FM326 好氧生长,用 250 mL 三角瓶盛装培养基,通过改变三角瓶中的培养基的量来改变瓶中的空气

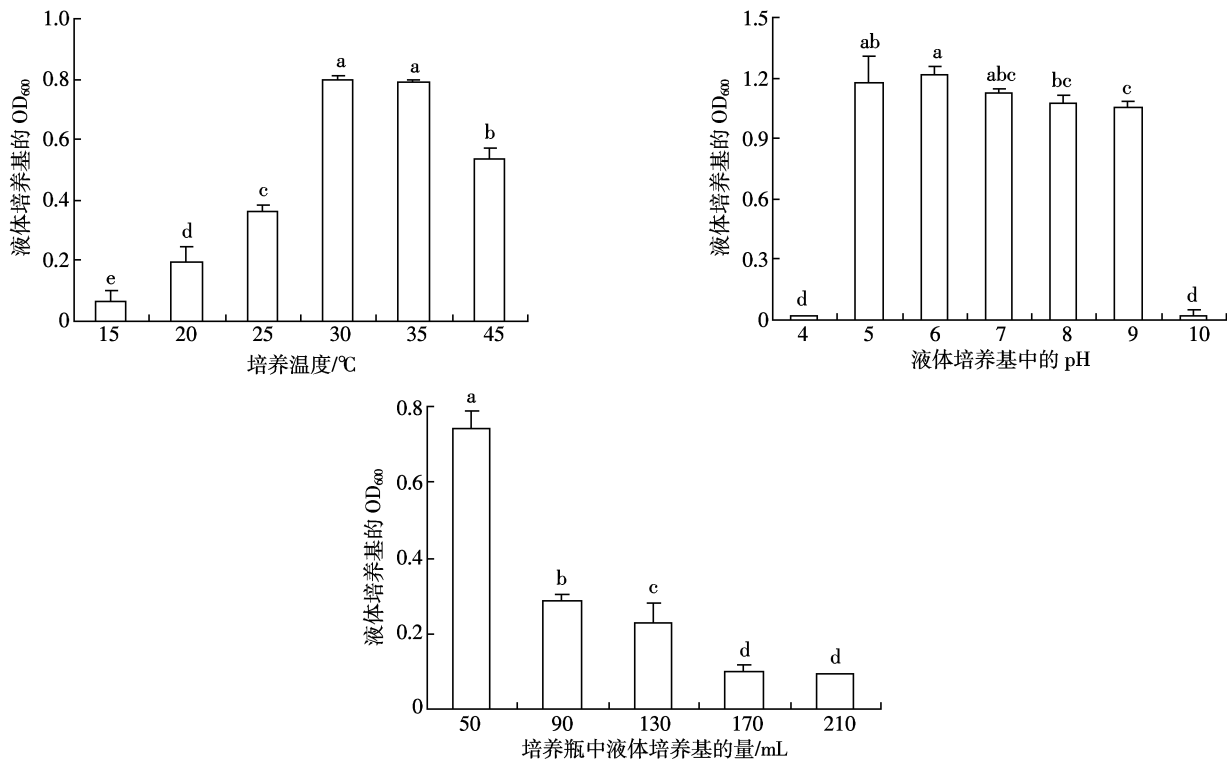


图 6 FM326 在不同温度、pH 和通氧量条件下的生长情况

Figure 6 Effect of culture temperature, pH and oxygen supply on FM326 growth

量。培养瓶中的培养基是 50 mL 时,菌株生长最好,培养基的 OD_{600} 值最大,与其他处理有显著差异。当培养瓶中的培养基的量越多,空气量越少,菌株生长越不好, OD_{600} 值越小(见图 6)。

3 讨论

分离得到农药降解菌通过富集驯化培养^[6,14]或者直接涂布^[15]。富集培养是通过逐渐提高选择压,使得整个微生物群落的正向自发突变得以积累,最终提高降解活性,最后分离到的降解菌在自然环境中不一定是具有竞争优势的群体。把长期经受污染的样品直接涂布,被认为是克服了富集培养分离降解菌的局限性,分离到的降解菌已经经历了一个长期的天然富集过程。本试验中,两种方法都可以得到能够降解阿特拉津的降解菌。研究认为细菌降解阿特拉津的基因是通过水平转移和重组形成的,在阿特拉津的长期胁迫下,可以驯化出高效降解阿特拉津的菌株^[11]。本试验筛选到的高效降解菌 FM326 是通过富集驯化培养所得,证实了这一理论。

高效降解菌 FM326 经初步鉴定是节杆菌属,目前国内分离到的阿特拉津的降解菌较多都是节杆菌属细菌^[15-19]。节杆菌属的细菌具有很强的抗旱性、耐饥饿性、耐碱性,通常被认为是土壤中的优势菌^[14]。该菌属细菌降解底物比较广泛,对多种复杂化合物都具有良好的降解功能。

从 11 株降解菌中筛选高效降解菌,在筛选比较的过程中,菌株的降解效率不尽相同。例如 FM428、FM532 和 FM1233,用紫外分光光度计测定的降解效率在 86% 以上,而用气相色谱法测定时,其降解效率又都降低到 50% 以下。又如 FM111 的降解效率,在利用紫外分光光度计和气相色谱测定的过程中,都达到了 90% 以上,而在比较 FM111 和 FM326 的降解动态的试验中,FM111 的降解效率最高时仅为 44%。造成这些差异的原因,除了紫外分光光度计和气相色谱的测试精确度不同外,可能是因为菌株对阿特拉津的降解效率受到外界环境条件的影响,例如 pH、接种量、通氧量、培养温度等^[6,20];还可能与阿特拉津降解菌的降解能力会发生变化有关,因为有些菌株是在阿特拉津的长期选择压下形成的对阿特拉津的降解能力,一旦保存一段时间,在保存的过程中没有阿特拉津的选择压,再重新接种后,菌株可能丧失或者降低了对阿特拉津的降解能力。而目标菌株 FM326 在各试验中,都保持了较高的降解能力,因此把它作为目标的高效

降解菌是正确可行的。

关于 FM326 的生长特性、降解机理以及在生态环境中的实际应用,都是下一步要进行研究的重要问题。

4 结论

(1) 从受阿特拉津污染的农药厂土壤中,用摇瓶富集培养和直接涂布两种方法获得 11 株能够降解阿特拉津的菌株。

(2) 通过比较 11 株菌的降解效率,筛选到阿特拉津高效降解菌株 FM326,经生理生化和 16S rDNA 序列分析,该菌株被鉴定为节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)。

(3) 菌株 FM326 的最适生长温度是 30~35 ℃,最适生长 pH 值是 5~9,好氧生长。

参考文献:

- [1] Giddings J M, Anderson T A, Hall Jr L W, et al. Atrazine in North American surface waters: a probabilistic aquatic ecological risk assessment [M]. USA. Pensacola, SETAC Press, 2004.
- [2] Gammon D W, Aldous C N, Carr Jr W C, et al. A risk assessment of atrazine use in California: Human health and ecological aspects[J]. *Pest Management Science*, 2005, 61(4): 331-355.
- [3] 任 晋, 蒋 可, 周怀东. 官厅水库水中阿特拉津残留的分析及污染来源[J]. *环境科学*, 2002, 23(1): 126-128.
REN Jin, JIANG Ke, ZHOU Huai-dong. The concentration and source of atrazine residue in water of Guanting Reservoir[J]. *Environmental Science*, 2002, 23(1): 126-128.
- [4] 万年升, 顾续东, 段舜山. 阿特拉津生态毒性与生物降解的研究[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(4): 552-560.
WAN Nian-sheng, GU Xu-dong, DUAN Shun-shan. Eco-toxicity and biodegradation of atrazine in the environment[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(4): 552-560.
- [5] Hayes T B, Collins H, Lee M, et al. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses[J]. *PNAS*, 2002, 99(8): 5476-5480.
- [6] 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.
DAI Xian-zhu, JIANG Jian-dong, GU Li-feng, et al. Isolation and characterization of an atrazine-degrading bacterium strain SA1[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(3): 544-547.
- [7] Vibber L L, Pressler M J, Colores G M. Isolation and characterization of novel atrazine-degrading microorganisms from an agricultural soil[J]. *Applied of Microbiology and Biotechnology*, 2007, 75(4): 921-928.
- [8] Fazlurrahman, Batra M, Pandey J, et al. Isolation and characterization of an atrazine-degrading *Rhodococcus* sp. strain MB-P1 from contaminated soil[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2009, 49(6): 721-729.
- [9] Singha P, Suria C R, Cameotra S S. Isolation of a member of *Acinetobacter* species involved in atrazine degradation[J]. *Biochemical and Bio-*

- physical Research Communications*, 2004, 317(3):697-702.
- [10] 李清艳, Boundy-Mills K L, Sadowsky M J, 等. 阿特拉津降解菌株 *Alcaligenes* sp. SG1 的分离鉴定和降解特性研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2010(3):94-100.
- LI Qing-yan, Boundy-Mills K L, Sadowsky M J, et al. Isolation, characterization and degradation characteristics of the atrazine-degrading *Alcaligenes* sp. Strain SG1[J]. *Acta Scientiarum Naturalium University Nankaiensis*, 2010(3):94-100.
- [11] 应 飞. 阿特拉津高效降解菌及其降解酶粗酶液特性的研究[D]. 中国农业科学院植物保护研究所, 2007.
- YING Fei. Characterization of highly effective atrazine-degrading bacteria and enzymes[D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007.
- [12] 东秀珠, 蔡妙英, 等. 常见细菌鉴定手册[M]. 科学出版社, 2001.
- DONG Xiu-zhu, CAI Miao-ying. Manual of systematic determinative familiar bacteriology[M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [13] Rainey F A, Naomi W R, Kroppenstedt R M, et al. The genus *Nocardioopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, 46:1088-1092.
- [14] Topp E, Zhu H, Nour S M, et al. Characterization of an atrazine-degrading *Pseudomonas* sp. isolated from Canadian and French agricultural soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(7):2773-2782.
- [15] 代先祝, 胡 江, 蒋建东, 等. 污染土壤中原位阿特拉津降解菌的分离和鉴定[J]. 土壤学报, 2006, 43(3):467-472.
- DAI Xian-zhu, HU Jiang, JIANG Jian-dong, et al. Isolation and identification of in situ atrazine-degrading bacteria from contaminated soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(3):467-472.
- [16] Vaishampayan P A, Kanekar P P, Dhakephalkar P K. Isolation and characterization of *Arthrobacter* sp. strain MCM B-436, an atrazine-degrading bacterium, from rhizospheric soil[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2007(60):273-278.
- [17] Getenga Z, Dorfler U, Iwobi A, et al. Atrazine and terbuthylazine mineralization by an *Arthrobacter* sp. isolated from a sugarcane-cultivated soil in Kenya[J]. *Chemosphere*, 2009(77):534-539.
- [18] 韩 鹏, 洪 青, 何丽娟, 等. 阿特拉津降解菌 ADH-2 的分离、鉴定及其特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(2):406-410.
- HAN Peng, HONG Qing, HE Li-juan, et al. Isolation, identification and characterization of an atrazine-degrading bacteria ADH-2[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2009, 28(2):406-410.
- [19] 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.
- ZHU Xi-kun, LI Qing-yan, CAI Bao-li. Isolation and identification of *Arthrobacter* sp. AD26 and joint degradation of atrazine by *Arthrobacter* sp. AD26 and *Pseudomonas* sp. ADP[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(3):627-632.
- [20] Wang J H, Zhu L S, Liu A J, et al. Isolation and characterization of an *Arthrobacter* sp. Strain HB-5 that transforms atrazine[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2010(33):259-266.