

苄嘧磺隆降解菌 BP-H-01 的分离及降解特性

彭星星, 罗建军, 刘承兰, 周静韵, 钟国华

(华南农业大学 昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

【摘要】 【目的】分离筛选苄嘧磺隆的高效降解菌株, 为磺酰脲类除草剂土壤残留危害的综合治理提供候选生物制剂。【方法】采用查氏培养基, 从采自全国 5 省市的 23 份土壤样品中筛选降解菌, 以苄嘧磺隆为唯一碳源进行摇瓶培养复筛, 以相对降解率为评价标准, 确定高效降解菌株, 根据形态初步鉴定其种属, 研究其降解特性。【结果】从土壤中分离筛选出能耐受 500 mg/L 苄嘧磺隆的真菌与细菌菌株共计 78 株, 其中共培养 2 d 后, 菌株 BP-H-01 对 25~500 mg/L 苄嘧磺隆的相对降解率达 80% 以上, 根据形态学特征初步确定该菌株为曲霉属(*Aspergillus* sp.) 真菌。菌株 BP-H-01 降解苄嘧磺隆的最适 pH 为 7.5, 最适温度为 28℃, 初始接菌量 2 g/L, 在此条件下相对降解率可达 84.5%。【结论】菌株 BP-H-01 对苄嘧磺隆具有显著降解效果。

【关键词】 苄嘧磺隆; 降解真菌; 降解特性; 磺酰脲类除草剂

【中图分类号】 X172; S482.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)05-0155-06

Screening of degradation fungi of bensulfuron-methyl and their growth and degradation characteristics

PENG Xing-xing, LUO Jian-jun, LIU Cheng-lan,

ZHOU Jing-yun, ZHONG Guo-hua

(Lab of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: 【Objective】 The study was done to isolate the effective fungi strains for biodegrading bensulfuron-methyl, one of the most widely used herbicides in China, and provide prospect candidate biological preparations for reducing sulfonylurea herbicide residues in the soil. 【Method】 The degrading fungi were isolated in Czapek media from poor nutrient or serious contaminated soil collected from several provinces in China, and then screened in the media of bensulfuron-methyl as only carbohydrate. The effective degrading fungi were determined according to the degrading rate and the morphology and the degradation characteristics were preliminarily identified. 【Result】 A bensulfuron-methyl highly effective degradation fungus strain BP-H-01 with above 80% of relative degradation rate to 25—500 mg/L of bensulfuron-methyl, which was screened from 78 fungi and bacteria strains, tolerated 500 mg/L of bensulfuron-methyl. Based on morphological study, BP-H-01 was identified as *Aspergillus* sp. The optimum conditions for degrading Bensulfuron-methyl were pH 7.5, 28℃ and 2 g/L of the inoculated quantity respectively. In this condition, the degradation rate achieved 84.5%. 【Conclution】 Fungus strain BP-H-01 can biodegrade remarkably bensulfuron-methyl specially.

Key words: bensulfuron-methyl; degrading fungi; degradation characteristic; sulfonylurea herbicide

* [收稿日期] 2008-11-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30871660); 教育部全国优秀博士学位论文作者专项(2004061)

[作者简介] 彭星星(1983—), 女, 湖南湘西州人, 在读硕士, 主要从事农药残留微生物降解研究。

E-mail: pengxingxing1983@yahoo.com.cn

[通信作者] 钟国华(1973—), 男, 广东梅州人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事昆虫生理毒理、细胞生物学和农药残留微生物降解研究。E-mail: guohuazhong@scau.edu.cn

磺酰脲类除草剂自 20 世纪 80 年代问世以来,在杂草防除中发挥了举足轻重的作用^[1]。但在广泛应用的同时,人们也开始注意到其长期大量或不科学使用给环境带来的负面影响,因此降低或消除环境中磺酰脲类农药残留量,对保护环境、保证作物丰收、保障食品安全具有重要意义。苄嘧磺隆(ben-sulfuron-methyl)是磺酰脲类除草剂的重要品种,广泛应用于稻田杂草的防治^[2]。然而大量研究证实,苄嘧磺隆的高残留量不仅极易对后茬敏感作物造成危害,且该药在环境中较难自净,极易通过地表径流或其他途径造成地下水和地表水的污染^[2-4]。微生物降解是降低农药残留的有效方法之一,是当今国内外的研究热点^[5-6]。据报道,浅灰链霉菌(*Streptomyces griseolus*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、青霉菌(*Penicillium sp.*)^[7]等真菌,以及短杆菌属(*Brevibacterium*)^[8]、假单胞菌属(*Pseudomonas sp.*)^[9-10]等细菌均对磺酰脲类除草剂具有降解作用,但对苄嘧磺隆具有较好降解效果的菌株报道极少。本试验从土壤中分离得到苄嘧磺隆降解菌株 BP-H-01,并初步确定了其种类,研究了其降解特性,旨在为磺酰脲类除草剂残留治理提供候选生物制剂。

1 材料与方法

1.1 供试菌种、药品和主要仪器

从采自山东、四川、湖南、广东、河南等 5 省市 23 份土样中分离降解菌,其中菌株 BP-H-01 分离于湖南省湘西自治州保靖县大妥乡长期使用苄嘧磺隆的水稻田土样。供试农药为 99% 苄嘧磺隆,由江苏常隆化工有限公司惠赠。降解菌培养基为常规查氏液体培养基和固体培养基^[11-12]。所用分析试剂均为国产分析纯或色谱纯。主要仪器包括高效液相色谱仪(HP1100,美国惠普公司)、旋转蒸发仪(LABOR-TA4001,德国 Heidolph 公司)、恒温振荡器(SHZ-82A,金坛市富华仪器有限公司)、立式压力蒸汽灭菌器(YXQ-LS-30S,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、超声波振荡器(宁波科生仪器厂)等。

1.2 苄嘧磺隆质量浓度的定量测定

苄嘧磺隆质量浓度采用 HPLC 法测定^[13-16]。用乙腈配制质量浓度分别为 2, 5, 10, 25, 50 mg/L 的苄嘧磺隆标准溶液,制作标准曲线。分析条件:流动相为乙腈—蒸馏水混合液($V(\text{乙腈}):V(\text{蒸馏水})=50:50$);流速 0.9 mL/min;UV 检测波长为 234 nm;上样量为 10 μL 。样品前处理时,每 50 mL

培养液中加入 10 g NaCl 以及 0.6 mL 5 mol/L 盐酸,依次用 20, 20, 10 mL 二氯甲烷萃取。合并萃取液,用无水硫酸钠脱水后于旋转蒸发仪 35 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浓缩至干,用乙腈定容至 2.0 mL,再用孔径 0.45 μm 滤膜过滤。当苄嘧磺隆质量浓度分别为 10, 25, 50 mg/L 时,测定添加回收率,每处理重复 3 次。

1.3 苄嘧磺隆降解菌株的筛选

包括土样采集、分离纯化和菌株验证复筛等 3 个步骤。

(1) 土样采集。选取长期施用农药或贫营养的土壤,铲除表层土(0~20 cm) 1~2 cm,自样地的上、下、左、右、中各取 10 g 土样共计 50 g,混匀后将土样装入无菌袋备用。

(2) 分离纯化。取 5 g 污泥或 5 mL 污水,加入 50 mL 无菌水,磁力搅拌器搅拌 15 min 后,稀释 1 000 倍。取 1 mL 稀释液均匀涂抹于含苄嘧磺隆的查氏固体培养基上,置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 生化培养箱中培养,待长出单个菌落,根据不同的外观形态及特征挑取单菌落,划线分离,纯化 3 次,纯化过程中培养基苄嘧磺隆的初始质量浓度分别是 25, 50, 200, 500 mg/L。

(3) 菌株验证复筛。将纯化后的菌株接入装有 50 mL 查氏液体培养基的 250 mL 三角瓶,每处理 3 个重复。在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床上培养 4 d 后,分别加入已配制好的苄嘧磺隆母液,使其终质量浓度为 25 mg/L,培养 48 h 后,采用 HPLC 法测定其苄嘧磺隆质量浓度,按以下公式计算相对降解率:

菌株降解率/% = ((初始质量浓度 - 培养后质量浓度)/初始质量浓度) $\times$ 100%;

空白降解率/% = ((初始质量浓度 - 对照质量浓度)/初始质量浓度) $\times$ 100%;

相对降解率/% = ((菌株降解率 - 空白降解率)/空白降解率) $\times$ 100%。

选取能够耐受 500 mg/L 苄嘧磺隆、且当苄嘧磺隆质量浓度为 25~500 mg/L 时,相对降解率最高的菌株进行研究。

1.4 苄嘧磺隆降解菌株的鉴定

观察 1.3 中筛选的降解菌在查氏固体培养基中的培养特征^[17]。在显微镜下观察菌落、菌丝、分生孢子梗、分生孢梗茎、分生孢子头、分生孢子等的特征^[18],初步确定菌株的归属。

1.5 苄嘧磺隆降解菌生长曲线及培养条件的确定

1.5.1 生长曲线 将预培养 4 d 的降解菌培养液于 4 000 r/min 离心 10 min,取 0.1 g 沉淀(湿菌

体), 在无菌条件下接入装有 50 mL 查氏液体培养基的 250 mL 三角瓶(即初始接菌量为 2 g/L, 下同), pH 值 7.5, 空白对照中加入等体积的查氏液体培养基, 每处理 3 个重复, 置气浴恒温振荡器(150 r/min、28 ℃)中分别培养 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 d, 4 ℃冰箱冷藏。待所有试验全部完成后取出, 测定菌丝干质量。每处理重复 3 次。根据培养时间与菌丝干质量的关系, 求取生长曲线。根据培养时间(X)与菌丝干质量(Y)关系, 配置拟合 Logistic 模型^[19], 按照统计学要求进行模型方差检验, 求取降解菌的生长曲线。

1.5.2 最适温度 初始接菌量为 2 g/L, 苄嘧磺隆初始质量浓度为 25 mg/L, pH 值 7.5, 分别置 20, 24, 28, 32, 36, 40 ℃气浴恒温振荡器(150 r/min)中培养 2 d, 测定相对降解率。根据温度(X)与相对降解率(Y)的关系拟合模型, 确定最适温度, 研究温度对 BP-H-01 菌株降解苄嘧磺隆的影响。

1.5.3 最适 pH 值 初始接菌量为 2 g/L, 苄嘧磺隆初始质量浓度为 25 mg/L, 培养基初始 pH 值分别设置为 4, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 9, 12, 在 1.5.2 中确定的最适培养温度下, 置气浴恒温振荡器(150 r/min)中培养 2 d, 测定相对降解率。根据 pH 值(X)与相对降解率(Y)的关系进行模型拟合, 确定最适 pH 值, 研究 pH 值变化对 BP-H-1 菌株降解苄嘧磺隆的影响。

1.5.4 最适初始接菌量 在 1.5.2 和 1.5.3 确定的最适温度、pH 值条件下, 苄嘧磺隆初始质量浓度为 25 mg/L, 初始接菌量分别设置为 0.1, 0.5, 2, 5 和 10 g/L, 在气浴恒温振荡器(150 r/min)中培养 2 d, 测定相对降解率。根据接菌量(X)与相对降解率(Y)的关系, 求接菌量对苄嘧磺隆相对降解率的影响模型, 确定最适初始接菌量。

2 结果与分析

2.1 苄嘧磺隆标准曲线的制定与添加回收率的测定

以苄嘧磺隆质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行回归分析(图 1), 得标准曲线的方程为: $Y=28.235X+8.7033$, 相关系数 $R^2=0.9997$, 相关性显著, 方法可信。当苄嘧磺隆添加质量浓度分别为 50, 25, 10 mg/L 时, 添加回收率分别为 $(89.5 \pm 1.6)\%$, $(78.4 \pm 2.1)\%$, $(84.7 \pm 0.9)\%$, 变异系数分别为 3.08%, 4.71% 和 1.77%, 说明添加回收率符合常规范围(70%~110%)要求, 该方法可行。

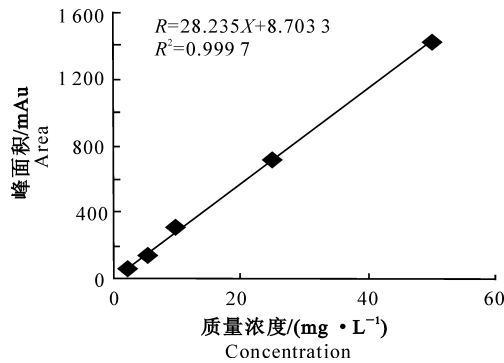


图 1 苄嘧磺隆的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of Bensulfuron-methyl

2.2 苄嘧磺隆降解菌株的筛选结果

从 23 份土样中分离筛选出能耐受 500 mg/L 苄嘧磺隆的真菌与细菌菌株共计 78 株, 其中多数菌株对苄嘧磺隆的相对降解率低于 50%, 有的菌株甚至无降解作用, 其中降解菌株 BP-H-01 对苄嘧磺隆的降解作用显著, 在苄嘧磺隆初始质量浓度分别为 25, 50, 200, 500 mg/L 时, 共培养 2 d 后, 其对苄嘧磺隆的相对降解率分别为 85.3%, 83.0%, 84.5%, 89.2%, 显著高于其他菌株, 属高效降解菌株, 供进一步研究。

2.3 苄嘧磺隆降解菌株的初步鉴定

菌株 BP-H-01 的菌落形态及其显微观察结果见图 2 和图 3。在查氏固体培养基上, 菌株 BP-H-01 菌落呈绒状、黄褐色, 且有同心环纹, 随着培养时间的增加, 菌落颜色逐渐增加, 呈褐色(图 2)。显微镜下可见菌丝有隔, 分生孢子梗不分枝, 其顶端形成膨大的烧瓶形顶囊, 并从顶囊上生出产孢细胞; 分生孢梗茎不分枝, 也不具分隔; 在顶囊表面辐射状长满 1 层或 2 层小梗, 初生小梗柱状, 次生小梗瓶状; 瓶状小梗顶端生成成串的球形分生孢子, 分生孢子为球形, 初步确定其为曲霉属(*Aspergillus* sp.) 真菌(图 3)。

2.4 苄嘧磺隆降解菌生长曲线及培养条件的确定

2.4.1 生长曲线 从图 4 可以看出, 菌株 BP-H-01 在查氏液体培养基中生长速度较快, 1~7 d 菌丝的干质量分别为 41.1, 106.6, 190.5, 243.2, 249.5, 254.6, 256.0 mg/g, 接菌后 1 d 内为生长迟缓期; 1~4 d 为快速增长期, 生长迅速, 各代稳定; 从第 4 天起菌株生长量增加不明显, 第 6 天后生长量增加更少, 进入稳定期。菌株 BP-H-01 生长曲线的 Logistic 模型见表 1。

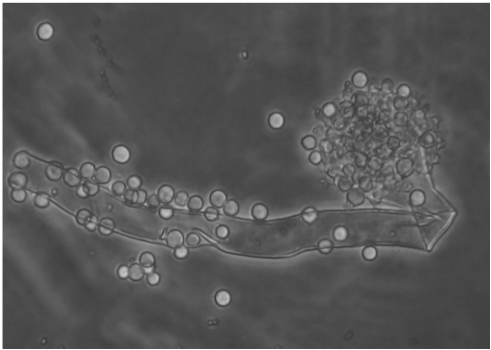
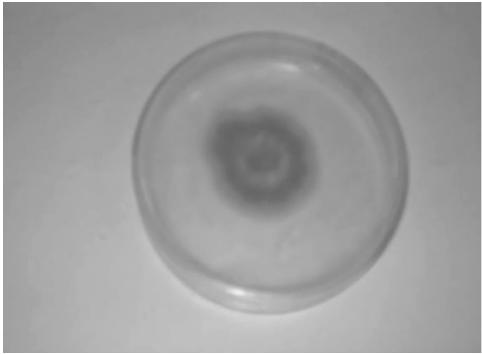


图 2 菌株 BP-H-01 在查氏固体培养基中的菌落形态

Fig. 2 Colony morphology of BP-H-01 cultured in solid culture

图 3 菌株 BP-H-01 分生孢子头与分生孢子的形态(×200)

Fig. 3 Morphology of conidial head and conidia of BP-H-01 (×200)

表 1 苄嘧磺隆降解菌 BP-H-01 的分析模型

Table 1 Model analysis of strain BP-H-01

模型 Theory analysis model	曲线方程 Curve equation	决定系数 Decision coefficient
生长曲线模型 Growth curve model	$Y = -0.133 + 0.225\ 1X - 0.019\ 2X^2$	0.987 405
培养温度 Culture temperature	$Y = -275.6 + 24.708\ 9X - 0.426\ 3X^2$	0.992 167
培养基 pH 值 pH value in culture medium	$Y = -89.919\ 7 + 42.744\ 3X - 2.756\ 0X^2$	0.867 367
初始接菌量 Inoculated-pathogen quantities	$Y = 86.768\ 9 / (1 - 6.139 \times 10^9 / (1 - 5.99 \times 10^{11} X))$	0.973 126

2.4.2 培养温度 在 24~32 ℃ 培养时,菌株 BP-H-01 对苄嘧磺隆降解效果较好,其中在 24,28,32℃ 培养时,BP-H-01 对 25 mg/L 苄嘧磺隆的相对降解率分别为 70.7%,81.3%,77.9%;但在 20,36,40 ℃ 培养时,相对降解率分别下降至 49.0%,64.5%,29.0%(图 5)。菌株 BP-H-01 培养温度

(X)对苄嘧磺隆相对降解率(Y)影响的配置模型及其检验结果见表 1。根据该模型计算结果可知,最佳理论培养温度为 29.0 ℃,苄嘧磺隆理论相对降解率最高达 82.4%,与实测最适培养温度(28 ℃)时的相对降解率(81.3%)基本一致。

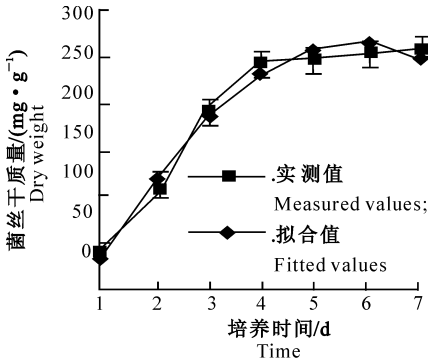


图 4 苄嘧磺隆降解菌 BP-H-01 的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of bensulfuron-methyl degrading strain BP-H-01

2.4.3 培养基 pH 本研究结果表明,供试菌株 BP-H-01 在 pH 值 4~12 的培养基中培养,随 pH 改变,其对苄嘧磺隆的相对降解率有明显影响。当培养基 pH 分别为 6,6.5,7,7.5,8 和 9 时,菌株 BP-H-01 对苄嘧磺隆的相对降解率分别为 62.3%,72.8%,81.0%,84.1%,78.2%和 56.0%(图 6),说

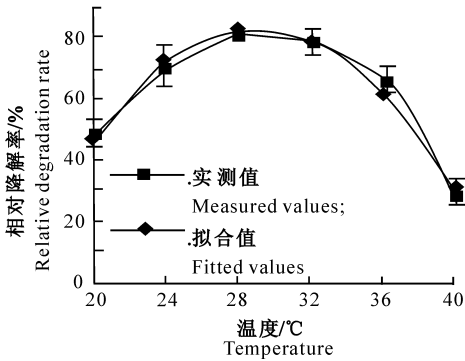


图 5 温度对菌株 BP-H-01 降解苄嘧磺隆的影响

Fig. 5 Effects of temperature on the bensulfuron-methyl degradation by strain BP-H-01

明适宜该菌株生长的 pH 值范围较广。pH 值(X)与降解菌 BP-H-01 对苄嘧磺隆的相对降解率(Y)之间的模型及其检验结果见表 1。由该模型计算结果可知,当培养基 pH 值为 7.75 时,苄嘧磺隆的相对降解率最高达 75.8%,与试验所得的最适 pH 值 7.5 时的相对降解率(84.1%)基本一致。

2.4.4 初始接菌量 由图 7 可知,不同初始接菌量对菌株 BP-H-01 的生长量及农药生物降解都有明显影响,一定范围内菌丝生长量和菌株降解能力随接菌量的增加而提高。菌株 BP-H-01 的初始接菌量分别为 0.1、0.5 和 2 g/L 时,苄嘧磺隆的相对降解率分别为 45.2%、67.1% 和 84.5%;当初始接菌

量分别为 5 和 10 g/L 时,苄嘧磺隆的相对降解率不再增加,与接菌量为 2 g/L 时的差异不明显,说明当初始接菌量超过 2 g/L 时,接菌量的增加对相对降解率的影响不明显。初始接菌量(X)与菌株 BP-H-01 对苄嘧磺隆相对降解率(Y)的关系模型及其检验结果见表 1。

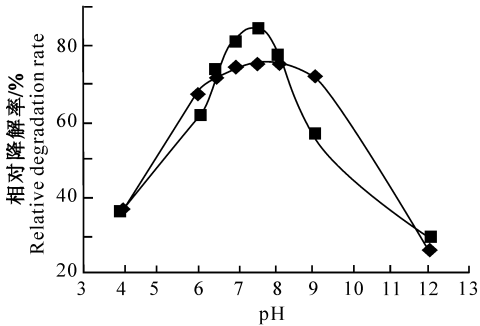


图 6 pH 值对菌株 BP-H-01 降解苄嘧磺隆的影响
—■—, 实测值; —◆—, 拟合值
Fig. 6 Effects of pH on the bensulfuron-methyl degradation by strain BP-H-01
—■—, Measured values; —◆—, Fitted values

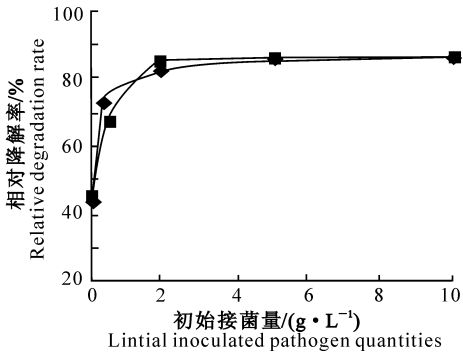


图 7 初始接菌量对菌株 BP-H-01 降解苄嘧磺隆的影响
—■—, 实测值; —◆—, 拟合值
Fig. 7 Effects of inoculated-pathogen quantities on the bensulfuron-methyl degradation by strain BP-H-01
—■—, Measured values; —◆—, Fitted values

3 结论与讨论

本研究经筛选得到了能耐受 500 mg/L 苄嘧磺隆的菌株 BP-H-01,通过对其培养及形态观察,初步鉴定其为曲霉属(*Aspergillus* sp.)真菌。该菌株在查氏培养基中繁殖较快,具有可通过短时间发酵而获得大量菌株的优势,这为实际应用提供了条件。本试验确定 BP-H-01 降解苄嘧磺隆的适宜条件为:当 pH 为 7.5、温度为 28 ℃、初始接菌量 2 g/L 时,25 mg/L 苄嘧磺隆与降解菌 BP-H-01 共培养 2 d 后,相对降解率为 84.5%;当接菌量<2 g/L 时,相对降解率随初始接菌量的增加而升高;当接菌量>2 g/L 时,接菌量的增加对相对降解率影响不明显,这为进一步研究苄嘧磺隆的微生物降解作用提供了参考。

磺酰脲类除草剂在环境中易与土壤结合形成残留,且残留时间较长,不容易降解,所以对其具有明显降解效果的菌株不多,其中相对降解率达到 80% 以上的菌株很少^[6-10],苄嘧磺隆高效降解菌的报道则更少。在通氧条件下接种微生物可提高对土壤中苄嘧磺隆的降解效果^[20]。Brusa 等^[21]报道,土壤中的混合菌群对苄嘧磺隆有降解作用,但效果并不理想。谢晓梅等^[22]报道了水稻土壤中微生物群对苄嘧磺隆的降解作用,但并未分离获得单一降解菌株。

Zhu 等^[8]报道的短杆菌属(*Brevibacterium* sp.)菌株,是迄今惟一文献报道的苄嘧磺隆降解菌株,处理后 7 d,对 200 mg/L 苄嘧磺隆的降解率为 80%。用本试验经筛选得到的菌株 BP-H-01,在最适条件下处理仅 2 d 后,其对 25 mg/L 苄嘧磺隆的相对降解率即达 84.5%,表现出良好的应用潜力,有望进一步开发利用。今后可采取多种方法对该菌株进行诱变育种,进一步筛选出具有更高降解率的菌株,或者提取其降解酶,定位降解酶基因,为构建降解工程菌提供依据。

[参考文献]

[1] Takeda S, Yuyama T, Ackerson R C, et al. Herbicidal activities and selectivity of a new rice herbicide DPX-F 5384 [J]. Weed Research, 1985, 30(4): 284-289.
[2] Zhou Q X, Xiao J P, Wang W D. Trace analysis of triasulfuron and bensulfuron-methyl in water samples using a carbon nanotubes packed cartridge in combination with high-performance liquid chromatography [J]. Microchim Acta, 2007, 157(1/2): 93-98.
[3] Hay J V. Chemistry of sulfonylurea herbicides [J]. Pestic Sci, 1990, 29(3): 247-261.
[4] Thompson D G, Mac Donald L M, Staznik B. Persistence of hexazinone and metsulfuron-methyl in a mixed-wood/boreal forest lake [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 1444-1449.
[5] 尤民生, 刘 新. 农药污染的生物降解及生物修复 [J]. 生态学杂志, 2004, 23(1): 73-77.

- You M S, Liu X. Biodegradation and bioremediation of pesticide pollution [J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(1): 73-77. (in Chinese)
- [6] Bekker B M, Wolfe N L. Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueous buffers and anaerobic water-sediment systems: assessing fate pathways using molecular descriptors [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1996, 15(9): 1500-1507.
- [7] Joshi M M, Brown H M, Romesser J A. Degradation of chlor-sulfuron by soil microorganisms [J]. Weed Sci, 1985, 33(6): 888-893.
- [8] Zhu Y W, Zhao Y H, Lin X Y, et al. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of an aerobic bacterium capable of degrading bensulfuronmethyl [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2005, 21(6/7): 1195-1200.
- [9] Zanardini E, Amoldi A, Boschin G, et al. Degradation pathways of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by *Pseudomonas fluorescens* strain [J]. Annals of Microbiology, 2002, 52: 25-37.
- [10] 黄 星, 何 健, 潘继杰. 甲磺隆降解菌 FLDA 的分离鉴定及其降解特性的研究 [J]. 土壤学报, 2006, 43(5): 821-827.
Huang X, He J, Pan J J, et al. Isolation and identification of metsulfuron-methyl degrading strain flda and its degrading characteristics [J]. Acta Pedologica Sinica, 2006, 43(5): 821-827. (in Chinese)
- [11] 范秀容, 李广斌, 沈 萍. 微生物学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1980: 261.
Fan X R, Li G B, Sheng P. Microbiology experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 1980: 261. (in Chinese)
- [12] Kurakov A V, Lavrent'ev R B, Nechitailo T Y, et al. Diversity of facultatively anaerobic microscopic mycelial fungi in soils [J]. Microbiology, 2008, 77(1): 103-112.
- [13] 黄 梅, 刘志娟, 蔡志敏. 高效液相色谱法检测稻田水体中苄嘧磺隆与甲磺隆及乙草胺残留量 [J]. 湖南农业大学学报, 2005, 31(2): 213-215.
Huang M, Liu Z J, Cai Z M. Determination of residue amount of bensulfuron-methyl metsulfuron-methyl and acetochlor in paddyfield water by HPLC [J]. Journal of Hunan Agricultural University, 2005, 31(2): 213-215. (in Chinese)
- [14] Perreau F, Bados P, Kerhoas L, et al. Trace analysis of sulfonylurea herbicides and their metabolites in water using a combination of off-line or on-line solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 388(5/6): 1265-1273.
- [15] Pang G F, Liu Y M, Fan C L, et al. Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2006, 384(6): 1366-1408.
- [16] 岳霞丽, 张新萍, 董元彦. 固相萃取-高效液相色谱法测定水体中苄嘧磺隆的残留量 [J]. 光谱实验室, 2006, 23(2): 321-323.
Yue X L, Zhang X P, Dong Y Y. Determination of bensulfuron-methyl residues in water by high performance liquid chromatography with solid phase extraction [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2006, 23(2): 321-323. (in Chinese)
- [17] 中国科学院微生物研究所. 常见与常用真菌 [M]. 北京: 科学出版社, 1973: 250-254.
Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Common fungi [M]. Beijing: Science Press, 1973: 250-254. (in Chinese)
- [18] 齐祖同. 中国真菌志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 4-10.
Qi Z T. Flora fungorum sinicorum [M]. Beijing: Science Press, 1997: 4-10. (in Chinese)
- [19] 盖钧镒. 田间试验与统计 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 197-256.
Gai J Y. Field experiment and statistics [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 197-256. (in Chinese)
- [20] Cristina S, Maurizio M, Luigi A, et al. Laboratory remediation test on a soil contaminated by the herbicide bensulfuron-methyl [J]. Meded Fac Landbouwkd Toegepaste Biol Wet; Univ Gent, 1996, 61(2b): 651-654.
- [21] Brusa T, Ferrari F, Bolzacchini E, et al. Study on the microbiological degradation of bensulfuronmethyl [J]. Annals of Microbiology, 2001, 51: 189-199.
- [22] 谢晓梅, 廖 敏, 黄昌勇, 等. 除草剂苄嘧磺隆对稻田土壤微生物活性和生物化学特性的影响 [J]. 中国水稻科学, 2004, 18(1): 67-72.
Xie X M, Liao M, Huang C Y, et al. Effects of bensulfuron-methyl on soil microbial activity and biochemical characteristics in paddy [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2004, 18(1): 67-72. (in Chinese)