

烟嘧磺隆降解菌枯草芽孢杆菌 YB1 颗粒剂的加工及应用

张哲¹, 杨树森², 杨冬臣¹, 张金林^{*1}

(1. 河北农业大学植物保护学院, 河北保定 071000; 2. 河北省沽源县小河子乡人民政府, 河北张家口 075000)

摘要: YB1 是从农药厂污水中分离筛选得到的一株对烟嘧磺隆具有较好降解作用的枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*。为探究 YB1 对土壤中烟嘧磺隆的降解能力, 本研究对 YB1 固体发酵产物进行了颗粒剂加工, 并对菌株载体和保护剂进行了筛选。优化后的 YB1 颗粒剂的加工方法为: 将 YB1 固体发酵产物与载体活性白土按质量比 1:1 混合, 加入质量分数为 3% 的保护剂酪氨酸和 5% 的淀粉进行挤压造粒, 所得颗粒剂的有效活菌数为 8.75×10^8 CFU/g。以小麦为指示植物, 应用室内盆栽法研究了 YB1 颗粒剂对土壤中烟嘧磺隆的降解效果。结果表明, 1 kg 土壤中添加 20 g YB1 颗粒剂 28 d 后可将土壤中 1 mg/kg 的烟嘧磺隆降解至对小麦无明显药害水平。研究表明, YB1 颗粒剂对含有烟嘧磺隆残留的土壤具有一定的修复能力。

关键词: 烟嘧磺隆; 降解; 枯草芽孢杆菌; 颗粒剂加工; 土壤修复

中图分类号: TQ458.1; TQ450.63

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2018)02-0254-05

Processing and application of nicosulfuron degrading bacterium *Bacillus subtilis* YB1 granules

ZHANG Zhe¹, YANG Shusen², YANG Dongchen¹, ZHANG Jinlin^{*1}

(1. College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, Hebei Province, China;

2. People's Government, Xiaohezi Township, Guyuan County, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China)

Abstract: YB1 is a highly effective nicosulfuron-degrading *Bacillus subtilis* strain isolated from pesticide factory wastewater. In order to investigate the ability of YB1 to degrade nicosulfuron in the soil, the solid fermentation product of YB1 was used for granules processing, and the vector and protective agent of YB1 were screened during processing. The optimized formula of YB1 granules is as follows: solid fermentation product and activated clay (1:1 mass ratio) were mixed and extruded into granules, with adding tyrosine (mass fraction 3%), and starch (mass fraction 5%). The effective number of viable bacteria of YB1 granules was 8.75×10^8 CFU/g. In addition, indoor pot experiment method was conducted to study the effect of YB1 granules on the remediation of nicosulfuron in soil, using wheat as a sensitive indicator plant. When the concentration of nicosulfuron was 1 mg/kg and the added granules in the soil were 20 g/kg, the concentration of nicosulfuron decreased to safe-level after 28 d. The results demonstrated that YB1 granules has the ability to remediate the nicosulfuron residue in soil.

收稿日期: 2017-10-30; 录用日期: 2018-03-14.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171877); 河北省研究生创新项目 (1009050).

作者简介: 张哲, 女, 在读博士, 研究方向为微生物降解农药, E-mail: zhang_z2013@163.com; *张金林, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 教授; 研究方向为天然产物和微生物降解农药, E-mail: zhangjinlin@hebau.edu.cn

Keywords: nicosulfuron; degradation; *Bacillus subtilis*; processing of granules; soil remediation

烟嘧磺隆属于磺酰脲类除草剂, 因具有高效、低毒且对玉米无害等优点被广泛应用, 但烟嘧磺隆在土壤中不易降解, 易对后茬作物如小麦、白菜等敏感作物造成一定程度的药害^[1]。土壤生物及微生物修复是目前治理环境污染, 特别是农药等化学污染的有效途径之一^[2-5], 其中微生物菌剂因具有安全、有效、便于培养加工、抗逆性强等优点而受到广泛关注^[6]。季彬等^[7]研究表明, 农用微生物制剂可大大改善农药、化肥及化学制剂中重金属等对土壤造成的污染, 在一定范围内对受损的土壤具有修复作用。马晓亮等^[8]研究发现, 在土壤中添加粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* N80 可以促进土壤中烟嘧磺隆的降解, 当烟嘧磺隆的质量分数为 10 mg/kg 时, 添加降解菌 N80 的处理, 小白菜等的出苗率分别比未添加降解菌 N80 的处理提高 26%~43%。

YB1 菌株是杨亚君等从农药厂污水中分离筛选得到的一株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*, 其可在 5 d 内将 2 mg/L 的烟嘧磺隆降解 86.2%^[9]。已有研究表明, YB1 对烟嘧磺隆的降解主要是通过分泌胞外酶来实现的^[10-12]。为此, 笔者将 YB1 菌株进行固体发酵, 同时考虑到微生物颗粒剂具有易加工、且操作方便等优点, 通过对菌株载体和保护剂种类的筛选, 将 YB1 发酵产物加工成颗粒剂, 并测定其特性。通过室内盆栽法, 以小麦为敏感指示植物, 研究了 YB1 颗粒剂对土壤中烟嘧磺隆的降解效果, 旨在为解决烟嘧磺隆残留地区的土壤修复问题提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* YB1 菌株 (由河北农业大学植物保护学院农药系实验室筛选获得并保存)。活菌计数板 (北京维欣仪奥科技发展有限公司); Nikon ECLIPSE E100 显微镜 (日本 Nikon 公司); 湿法制粒机 KCB-80 (北京开创同和科技发展有限公司)。麦麸、秸秆粉碎后过孔径为 0.18 mm 的样品筛。供试植物: 大白菜、小白菜、小麦、油菜和生菜 (购自保定市农资市场)。载体: 白炭黑 (焦作市科邦精细材料有限公司)、膨润土、活性白土和硅藻土 (淄川区天华膨润土加

工厂); 保护剂: 酪氨酸、羧甲基纤维素钠、腐殖酸 (北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 YB1 菌株载体和保护剂筛选 分别以秸秆粉、膨润土、白炭黑、活性白土和硅藻土作为载体, 经高压蒸汽 121 °C (1.51 × 10⁷ Pa) 灭菌 20 min 后以 5% 的质量分数分别与 LB 固体培养基混合制备平板。取 YB1 斜面保存的菌种, 用无菌水冲洗稀释, 制备成活菌含量为 10³ CFU/mL 的菌悬液。取 0.1 mL 菌悬液涂板, 于 30 °C 培养 48 h 后观察单菌落数目。

分别以酪氨酸、羧甲基纤维素钠和腐殖酸为保护剂, 于培养皿 (无盖) 中加入 10 mL 活菌含量为 10³ CFU/mL 的 YB1 菌悬液, 添加保护剂的质量分数分别为 1% 和 3%。于紫外灯下 30 cm (垂直距离) 处照射 20 min 后立即涂 LB 平板, 于 30 °C 避光培养 48 h 后计算单菌落数目。分别以不添加保护剂经紫外灯照射和不经紫外灯照射的处理为对照。每处理 3 次重复。

1.2.2 YB1 颗粒剂加工与生物特性检测 将枯草芽孢杆菌 YB1 菌株接种于新鲜的 LB 液体培养基中, 于 30 °C、150 r/min 摇床中培养 24 h 制备种子液 (活菌数约为 1 × 10⁸ CFU/mL) 备用。按照前期已优化的发酵条件进行发酵: 麦麸与秸秆质量比为 5:5, 氮源为氯化铵, 接种量为 1 × 10⁷ CFU/g, 培养基固液比为 1:2、于 30 °C 下培养 7 d 后得到固体发酵产物, 统计 YB1 活菌数。

将 YB1 固体发酵产物与筛选后的载体按质量比 1:1 混合, 加入质量分数为 3% 的保护剂和 5% 的淀粉进行挤压造粒, 得到枯草芽孢杆菌 YB1 颗粒剂。按文献方法^[13]测定 YB1 颗粒剂的生物特性, 包括有效活菌数与杂菌数、含水量及 pH 值等。

1.2.3 YB1 颗粒剂对土壤中烟嘧磺隆降解效果的测定 采用室内盆栽法^[14]测定不同供试植物对烟嘧磺隆的敏感性。将提前催芽露白的供试植物分别播种于含不同质量分数 (0、0.156 3、0.312 5、0.625、1.25 和 2.5 mg/kg) 烟嘧磺隆的土壤中, 于室温通风处培养 7 d 后, 拔出植物幼苗, 洗净后测量株高。每处理 3 次重复。通过 SPSS19.0 软件计算烟嘧磺隆对各供试植物的有效抑制中浓度 (IC₅₀), 以确定对烟嘧磺隆最敏感的植物。

选用筛选到的敏感指示植物进行试验。每 1 kg 土壤中分别添加 1 mg 烟嘧磺隆和 0、5、10、20、40、80 g YB1 颗粒剂。以不添加烟嘧磺隆和 YB1 颗粒剂的处理为对照组。将各处理土壤置于室温通风处，每隔 7 d 取该土壤种植敏感植物，于室温通风处培养 7 d 后拔出幼苗，洗净，测量株高和根长，以确定对土壤修复效果最好的颗粒剂的添加量；在最优颗粒剂添加量的基础上，分别设烟嘧磺隆在土壤中的质量分数为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 mg/kg，同法处理后测量幼苗株高和根长，以确定 YB1 颗粒剂对含不同质量分数烟嘧磺隆的土壤的修复效果。

2 结果与分析

2.1 YB1 菌株载体和保护剂的筛选结果

由表 1 数据可见，在 5 种供试载体中，活性白土和白炭黑对 YB1 菌株活菌抑制效果均较低，且与硅藻土、秸秆粉和膨润土的处理存在显著差异。因此，最终选择以活性白土为菌株载体。

保护剂筛选试验结果见表 2，其中，添加腐殖

表 1 YB1 颗粒剂中菌株载体的筛选结果

Table 1 Result of vector screening of YB1 granules

载体 Vector	单菌落数 Number of colonies/(10 ³ CFU/mL)
CK	72.67 Aa
白炭黑 Silica	67.67 Ab
硅藻土 Diatomite1	21.33 De
活性白土 Activated clay	68.33 Ab
秸秆粉 Straw powder	34.67 Cd
膨润土 Bentonite	43.67 Bc

注：数据后的不同大写字母表示在 $P=0.01$ 水平差异显著，不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: Different capital letters after the data indicate significant differences at the $P=0.01$ level, and different lowercase letters indicate significant differences at the $P=0.05$ level.

酸和羧甲基纤维素钠的处理与未添加保护剂经紫外光照射的处理差异显著，而以添加 3% 酪氨酸的处理对 YB1 菌株的紫外保护效果最好。

2.2 YB1 颗粒剂的生物特性

经测定，YB1 菌株固体发酵产物中有效活菌数为 1.9×10^9 CFU/g。以活性白土为菌株载体，以酪氨酸为保护剂，按 1.2.2 节加工方法进行造粒，得到 YB1 颗粒剂。对颗粒剂中有效活菌数、杂菌率、水分及 pH 值进行检测，结果见表 3。各项指标基本符合农用微生物菌剂标准^[13]。

表 2 YB1 颗粒剂中保护剂的筛选

Table 2 Protective agent screening of YB1 granules

保护剂 Protective agent	添加量(质量分数) Additive amount (Mass fraction)/%	单菌落数 Numbers of colonies/(10 ³ CFU/mL)
空白对照 CK	0	104.67 Aa
无保护剂 No protective agent	0	53.33 Cc
酪氨酸 Tyrosine	1	82.67 Bb
	3	89.67 Bb
羧甲基纤维素钠 Carboxymethylcellulose sodium	1	70.67 Dd
	3	66.67 Dd
腐殖酸 Humic acid	1	52.33 Cc
	3	61.33 Dd

注：同列数据后的不同大写字母表示在 $P=0.01$ 水平差异显著，不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: Different capital letters after the data in the same column indicate significant differences at the $P=0.01$ level, and different lowercase letters indicate significant differences at the $P=0.05$ level.

表 3 YB1 颗粒剂的生物特性

Table 3 The biological characteristics of YB1 granules

指标 Index	测定结果 Experimental data	标准 ^[13] Standard
有效活菌数 Number of viable bacteria	8.75×10^8 CFU/g	$\geq \times 10^8$ CFU/g($\times 10^8$ CFU/mL)
杂菌率 Rate of inviable bacteria	6.7%	$\leq 30.0\%$
水分 Moisture	14.3%	$\leq 20.0\%$
pH	7.8	5.5~8.5

2.3 供试植物对烟嘧磺隆的敏感性

测定结果(表 4)表明：小麦对烟嘧磺隆最为敏感， IC_{50} 值为 0.259 g/kg；油菜次之。因此选择小麦作为指示植物。

2.4 YB1 颗粒剂对含有烟嘧磺隆土壤的修复效果

以小麦为指示植物，在土壤中添加不同剂量的 YB1 颗粒剂，测定不同时间小麦的生长情况。结果(表 5)表明：当颗粒剂的添加量小于 20 g/kg_± 时，即使延长处理时间至 35 d，小麦的根长和株高均比空白对照明显缩短，表明此时添加的 YB1 颗粒剂对烟嘧磺隆的降解作用较弱，对土壤的修复效果不理想；而当颗粒剂的添加量大于等于 20 g/kg_± 并处理 28 d 以上时，小麦的根长和株高与空白对照相比无显著差异，表明此时 YB1 颗粒剂对烟嘧磺隆具有较好的降解作用，对土壤具有较好的修复效果。

土壤中添加 20 g/kg_± YB1 颗粒剂对不同含量

表 4 对烟嘧磺隆敏感植物筛选结果

Table 4 The screening result of plants sensitive to nicosulfuron

供试植物 Test plants	IC ₅₀ /(g/kg)	毒力回归方程 Virulence regression equation	相关系数 Correlation coefficient, <i>r</i>
大白菜 Chinese cabbage	1.409	$y = -1.21 + 0.809x$	0.906
生菜 Lettuce	2.083	$y = -0.321 + 1.006x$	0.895
小白菜 Baby bok choy	0.897	$y = 0.064 + 1.363x$	0.914
油菜 Rape	0.372	$y = 0.532 + 1.238x$	0.938
小麦 Wheat	0.259	$y = 0.724 + 1.236x$	0.946

烟嘧磺隆的降解效果见表 6。其中当烟嘧磺隆质量分数 ≤ 1 mg/kg 并处理 28 d 时, 小麦根长和株高均与空白对照无显著差异; 而当烟嘧磺隆的质量分数 > 1 mg/kg 时, 即使延长处理时间, YB1 颗粒剂也不能将该土壤完全修复。

3 结论与讨论

目前, 有关烟嘧磺隆的高效降解菌株的报道很多, 但应用于被烟嘧磺隆污染的土壤修复的研

究相对较少^[15], 为缓解实际生产中烟嘧磺隆对土壤的污染程度, 笔者将枯草芽孢杆菌 YB1 菌株加工成颗粒剂, 以期获得一种对含有烟嘧磺隆残留的土壤具有修复作用的微生物菌剂。

YB1 菌株经固体发酵后得到固体发酵产物, 有效活菌数为 1.9×10^9 CFU/g, 低于 Liu 等^[16]对枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* L7 进行固体发酵所得发酵产物的活菌数 (3.26×10^{10} CFU/g), 因此, YB1 发酵产物中有效活菌数量有待进一步优化提高。通过对 YB1 菌株载体和保护剂的筛选, 确定了 YB1 菌株的最佳载体为活性白土, 最佳保护剂为酪氨酸。在颗粒剂中, 固体发酵产物与活性白土的质量比为 1:1, 酪氨酸质量分数 3%, 淀粉质量分数 5%。

盆栽试验结果表明, YB1 颗粒剂对低浓度 (质量分数 ≤ 1 mg/kg) 烟嘧磺隆的降解效果明显, 对高浓度烟嘧磺隆 (质量分数 > 1 mg/kg) 的降解效果略差。赵卫松^[17]采用室内模拟添加降解菌的方法研究了苍白杆菌属 (*Ochrobactrum* sp.) ZWS16 和寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas* sp.) ZWS18 2 个

表 5 添加不同剂量的 YB1 颗粒剂处理不同处理时间时小麦的生长情况

Table 5 The growth of wheat with different doses of YB1 granules and different treatment period

YB1 颗粒剂添加量 Addition amount of YB1 granules/(mg/kg soil)	根长 Root/cm			株高 Plant height/cm		
	21 d	28 d	35 d	21 d	28 d	35 d
0	12.50 a	12.80 a	12.40 a	13.10 a	12.70 a	13.20 a
5	4.80 e	5.20 c	6.80 c	4.60 f	5.30 c	6.76 c
10	7.00 d	7.70 b	9.30 b	7.00 e	7.90 b	9.67 b
20	11.00 c	12.51 a	12.23 a	11.20 d	12.61 a	13.12 a
40	11.60 bc	12.56 ba	12.34 a	11.70 c	12.65 a	13.13 a
80	11.50 b	12.73 a	12.36 a	12.00 b	12.71 a	13.19 a

注: 同列数据后不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at the $P=0.05$ level.

表 6 添加 20 g/kg_{soil} YB1 颗粒剂对不同含量的烟嘧磺隆处理不同时间的小麦生长情况Table 6 The effect of 20 g/kg_{soil} YB1 granules to the growth of wheat under different content of nicosulfuron and different treatment period

烟嘧磺隆质量分数 Mass fraction of nicosulfuron/(mg/kg)	根长 Root/cm			株高 Plant height/cm		
	21 d	28 d	35 d	21 d	28 d	35 d
0	12.75 a	13.04 a	13.26 a	13.25 a	13.55 a	13.77 a
0.5	12.73 ab	13.02 a	13.24 a	13.23 ab	13.53 a	13.74 a
1.0	12.70 b	12.98 a	13.23 a	13.12 b	13.51 a	13.72 a
1.5	6.56 c	7.97 b	8.56 b	6.47 c	8.36 b	8.38 b
2.0	4.74 d	6.76 c	7.54 c	4.96 d	6.88 c	6.94 c
2.5	3.46 e	4.59 d	5.34 d	3.75 e	4.86 d	4.96 d

注: 同列数据后不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at the $P=0.05$ level.

菌株对噻吩磺隆以及烟嘧磺隆的降解情况,发现2个菌株可将土壤中10 mg/L的烟嘧磺隆在8 d内降解70%以上。张国民等^[18]从常年使用烟嘧磺隆农田采集的土壤中筛选得到的红假单胞菌(*Rhodopseudomonas* sp.) J5-2对烟嘧磺隆降解效果较好,可将400 mg/L的烟嘧磺隆在7 d内降解32.2%。土壤中烟嘧磺隆的质量分数一般低于1 mg/kg^[19-20],本研究中所研制的YB1颗粒剂对低浓度的烟嘧磺隆降解效果较好,因此,其可用于被烟嘧磺隆污染的土壤修复,且颗粒剂加工过程简单,操作方便,具有应用推广的潜力。后期将继续研究YB1颗粒剂在大田试验中的应用情况,以便为解决部分地区土壤烟嘧磺隆残留问题提供借鉴。

参考文献 (Reference):

[1] SARMAH A K, SABADIE J. Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: A review[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(22): 6253-6265.

[2] 刘少文, 焦如珍, 董玉红, 等. 土壤重金属污染的生物修复研究进展[J]. *林业科学*, 2017, 53(5): 146-155.

LIU S W, JIAO R Z, DONG Y H, et al. Research progress in bioremediation of heavy-metal contaminated soil[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2017, 53(5): 146-155.

[3] 余天红, 黎华寿. 砷污染土壤微生物修复机制及其研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2014, 36(12): 77-82.

YU T H, LI H S. Mechanism of bioremediation in arsenic contaminated soil and its research progress[J]. *Environ Pollut Control*, 2014, 36(12): 77-82.

[4] 李影, 付颖, 叶非. 微生物降解磺酰脲类除草剂的研究进展[J]. *农药科学与管理*, 2013, 34(2): 19-23.

LI Y, FU Y, YE F. Research progress on bioremediation of sulfonylurea herbicides[J]. *Pestic Sci Admin*, 2013, 34(2): 19-23.

[5] 王楠希. 微生物降解除草剂苯磺隆的相关研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2013.

WANG N X. Microbial degradation of tribenuron-methyl[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2013.

[6] LIU W X, SUN J Y, DING L L, et al. Rhizobacteria (*Pseudomonas* sp. SB) assist phytoremediation of oily-sludge-contaminated soil by tall fescue (*Festuca arundinacea* L.)[J]. *Plant Soil*, 2013, 371(1-2): 533-542.

[7] 季彬, 杜军国, 祁宏山, 等. 微生物菌剂在土壤修复中的应用[J]. *吉林农业*, 2016(16): 93.

JI B, DU J G, QI H S, et al. Application of microbial agents in soil remediation[J]. *Agric Jilin*, 2016(16): 93.

[8] 马晓亮, 于佩博, 高鹤南, 等. 外源微生物对土壤中烟嘧磺隆的降解作用研究[J]. *安全与环境学报*, 2011, 11(4): 44-47.

MA X L, YU P B, GAO H N, et al. Bioremediation of exogenous degrading bacteria to the nicosulfuron-contaminated soil[J]. *J Saf Environ*, 2011, 11(4): 44-47.

[9] 杨亚君, 刘顺, 武丽芬, 等. 可降解水体中烟嘧磺隆微生物的分离与筛选[J]. *农药学学报*, 2007, 9(3): 275-279.

YANG Y J, LIU S, WU L F, et al. Isolation and screening of microorganisms capable of degrading nicosulfuron in water[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2007, 9(3): 275-279.

[10] LU X H, KANG Z H, TAO B, et al. Degradation of nicosulfuron by *Bacillus subtilis* YB1 and *Aspergillus niger* YF1[J]. *Appl Biochem Microbiol*, 2012, 48(5): 460-466.

[11] KANG Z H, REN C C, ZHANG J L, et al. Purification and cloning of nicosulfuron-degrading enzymes from *Bacillus subtilis* YB1[J]. *Appl Biochem Microbiol*, 2014, 50(1): 30-34.

[12] KANG Z H, DONG J G, ZHANG J L. Optimization and characterization of nicosulfuron-degrading enzyme from *Bacillus subtilis* strain YB1[J]. *J Integr Agric*, 2012, 11(9): 1485-1492.

[13] 农用微生物菌剂: GB 20287—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

Microbial inoculants in agriculture: GB 20287—2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2006.

[14] 化学农药环境安全评价试验准则第19部分: 非靶标植物影响试验: GB/T 31270.19—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 19: Non-target plant impact test: GB/T 31270.19-2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.

[15] 赵卫松, 邱立红, 郭庆港, 等. 烟嘧磺隆的微生物降解研究进展[J]. *农药学学报*, 2016, 18(6): 676-685.

ZHAO W S, QIU L H, GUO Q G, et al. Research progress on microbial degradation of nicosulfuron[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2016, 18(6): 676-685.

[16] LIU D F, ZHAO L, GAO Y Z, et al. Conversion of furfural residue to biofertilizer using *Bacillus subtilis* L7 by solid-state fermentation method[J]. *J Chem Pharmaceut Res*, 2015, 7(3): 2491-2496.

[17] 赵卫松. 烟嘧磺隆和噻吩磺隆微生物降解研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.

ZHAO W S. Studies on biodegradation of nicosulfuron and thifensulfuron-methyl by microorganism[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.

[18] 张国民, 张松柏, 刘勇, 等. 一株降解烟嘧磺隆光合细菌的分离鉴定及降解特性研究[J]. *环境污染与防治*, 2011, 33(5): 18-21.

ZHANG G M, ZHANG S B, LIU Y, et al. Isolation and identification of a nicosulfuron-degrading strain J5-2 and its degradation characteristics[J]. *Environ Pollut & Control*, 2011, 33(5): 18-21.

[19] 朴秀英, 胡俊栋, 周艳明, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法检测土壤中烟嘧磺隆的残留[J]. *农药科学与管理*, 2012, 33(8): 25-28.

PIAO X Y, HU J D, ZHOU Y M, et al. Analysis method for determination of nicosulfuron residues in soil using UPLC-MS/MS[J]. *Pestic Sci Adm*, 2012, 33(8): 25-28.

[20] 桑海旭, 姚远, 刘限, 等. 玉米田除草剂烟嘧磺隆在辽宁地区土壤中的主要环境行为[J]. *农药*, 2016, 55(6): 441-444.

SANG H X, YAO Y, LIU X, et al. Study on the main environmental behaviors of herbicide nicosulfuron in soil of Liaoning[J]. *Agrochemicals*, 2016, 55(6): 441-444.