

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55(1):80-88; 4 January 2015
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20140161

二氯喹啉酸降解菌 MC-10 的筛选、鉴定及其降解特性

张顺^{1,5}, 黄国联², 许家来³, 李斌⁴, 李宏光², 陈德鑫^{5*}

¹ 中国农业科学院研究生院, 北京 100000

² 湖南省烟草公司郴州市公司, 湖南 郴州 423000

³ 山东省烟草研究院, 山东 济南 250101

⁴ 中国烟草总公司四川省公司, 四川 成都 610000

⁵ 中国农业科学院烟草研究所, 山东 青岛 266001

摘要:【目的】为治理稻-烟轮作田块上茬土壤中二氯喹啉酸残留问题, 筛选高效降解细菌菌株。【方法】通过富集培养和选择培养, 从常年施用二氯喹啉酸的水稻田中筛选可以降解二氯喹啉酸的细菌; 对其进行形态学观察、生理生化特征测定和 16S rDNA 序列系统发育鉴定。【结果】分离的降解菌株 MC-10 被鉴定为节杆菌属菌株 (*Arthrobacter* sp.)。菌株 MC-10 在 5% 接种量 pH 7、28℃ 时, 对初始浓度为 20 mg/L 二氯喹啉酸 7 d 可降解 90% 以上。该降解菌的最佳降解条件为 pH 7、30℃, 二氯喹啉酸初始浓度在 1-100 mg/L 间均有良好的降解效果; 菌株 MC-10 在土壤中对二氯喹啉酸同样有良好的降解效果, 温室 内 7 d 对二氯喹啉酸污染土壤的修复率可达 70%。【结论】菌株 MC-10 在二氯喹啉酸污染土壤和水质治理中具有潜在的应用前景。

关键词: 二氯喹啉酸, 微生物修复, 节杆菌, 药害

中图分类号: X172 **文章编号:** 0001-6209(2015)01-080-09

二氯喹啉酸, ISO 通用名称: Quinclorac, CIPAC 数字代号: 439, 分子式: $C_{10}H_5Cl_2NO_2$, 化学名称: 3, 7-二氯喹啉-8-羧酸 (3, 7-dichloroquinoline-8-carboxylic acid); 1984 年由德国巴斯夫公司开发的激素类选择性稻田除草剂, 商品名有神锄 (1 代、2 代)、快杀稗、杀稗灵、稗草净、克稗星和稗草王等, 能有效防除稻田大龄稗草而得到广泛推广使用^[1-2]。二氯喹啉酸的大量使用减轻了田间工作

量, 但由于其在土壤中降解缓慢, 易在土壤中残留积累给下茬作物造成药害, 尤其对二氯喹啉酸敏感的十字花科、伞形花科和茄科作物等影响更为明显。张倩等人^[3]测得二氯喹啉酸在水稻田中的半衰期为 35.6 d, 陈泽鹏等人^[4-5]的研究表明, 在田间推荐使用量 225-375 g a.i/hm², 需经过 269 d 降解才能消除对烟株生长的影响。温度、湿度和 pH 值对二氯喹啉酸的降解有一定影响, 光照对二氯喹啉酸的

基金项目: 中国烟草总公司资助项目 (110200902065); 四川省烟草公司资助项目 (201302005); 山东省烟草公司资助项目 (201001); 湖南省烟草公司资助项目 (12-44Aa03)

* 通信作者。E-mail: cdxyes@gmail.com

作者简介: 张顺 (1990-), 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要研究方向为植物保护。E-mail: 15652157693@163.com

收稿日期: 2014-03-31; **修回日期:** 2014-09-02

降解缓慢^[6-7] 二氯喹啉酸在土壤中的降解主要依靠酶和微生物^[8-9]。目前针对二氯喹啉酸土壤中残留污染问题主要治理对策有物理吸附、深耕覆土、增施有机肥和化学药剂缓解药害等措施,但都不能从根本上解决二氯喹啉酸在土壤中的残留问题,所以亟待提出新的方法和措施来解决二氯喹啉酸残留污染问题,这也是该研究的目的所在。

目前我国科研工作者已从土壤中分离到几株具有二氯喹啉酸降解活性的菌株,如吕镇梅^[10-12]分离到两株降解菌,分别为苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*) 的菌株 LS 和洋葱伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia cepacia*) 的菌株 WZ1;董俊宇等人^[13]分离到一株产碱菌属 (*Alcaligenes*) 的菌株 J3;徐淑霞等人^[14]分离到一株博德特氏菌属 (*Bordetella*) 的降解菌株 HN36 等;但目前国内尚无有关节杆菌属 (*Arthrobacter*) 二氯喹啉酸降解菌的报道。

本研究长期从事二氯喹啉酸降解菌的筛选工作并获得了一株对二氯喹啉酸有良好降解效果的节杆菌属降解菌 MC-10,对其进行形态学、生理生化鉴定和分子生物学鉴定确定了其种属,测定了其降解效果并对影响其降解效果的因素进行了相关分析,并初步评价了该菌对土壤中二氯喹啉酸的降解效果。结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器:98.1% 二氯喹啉酸标准品 (德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司);细菌 DNA 提取试剂盒 (天根生化科技有限公司)。Waters 2695 液相色谱仪-紫外检测器 (HPLC-UV, 美国 Waters 公司);BLUD PARDWSZ-200A 回旋式振荡器 (上海一恒科技有限公司);TD5A-WS 多管架自动平衡离心机 (上海卢湘仪离心机仪器有限公司);离心机;PCR 仪;电泳仪;培养箱;摇床;超净台;JEM-1200EX 透射电子显微镜。

1.1.2 土样:四川省西昌市常年施用二氯喹啉酸的稻田土 (北纬 27° 51' 0", 东经 102° 21' 46", 海拔 1590.3 米)。

1.1.3 培养基:实验所用无机盐选择培养基和 LB 扩大培养基参照文献 [13]。

1.2 菌株富集、分离与纯化

向 50mg/L 二氯喹啉酸无机盐培养基中加入 5 g 土样,于 28℃、150 r/min 的摇床上培养 7 d,以 5% 的转接量转接到新的 50 mg/L 的二氯喹啉酸无机盐培养基中,连续富集培养 4 次。在含 50 mg/L 二氯喹啉酸的无机盐固体培养基上划线分离纯菌株,在 35℃ 下培养 48 h 挑取生长势旺的单菌落于 LB 液体培养基中扩大培养,并保存于 LB 斜面待用。

1.3 菌株鉴定

1.3.1 形态学鉴定:将降解菌 MC-10 接种于固体 LB 培养基,35℃ 下培养 48 h 观察菌落形态并用电子显微镜观察菌体形态。

1.3.2 生理生化鉴定:生理生化鉴定采用单盒生化鉴定管并参照文献 [15] 方法进行。

1.3.3 分子生物学鉴定:(1) 采用细菌 DNA 提取试剂盒提取 MC-10 降解菌 DNA,并以此为模板扩增降解菌的 16S rDNA 序列。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'-TACCTTGTACGATT-3' (*E. coli* bases 1507 to 1492)。(2) 扩增反应体系 (25 μL):模板 1 μL, dNTP (25 mmol/L) 2 μL,引物 (1 mmol/L) 各 1 μL, 10xTaq 缓冲液 2.5 μL,超纯水 15.7 μL。(3) PCR 反应条件:95℃ 5 min;94℃ 0.5 min,54℃ 1 min,72℃ 1 min,循环 30 次;72℃ 10 min。(4) PCR 产物采用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (Transgenic) 进行目的片段回收,回收产物测序工作由上海瀚宇生物科技有限公司完成。测序结果与 GenBank 数据库进行对比,并利用 MEGA4.0 软件构建降解菌 MC-10 系统发育树。

1.4 降解菌悬液制备

将待测菌接种于 LB 液体培养基中,28℃、150 r/min 培养至对数中期 ($OD_{600} = 1.5$),10000 × g 离心 1 min 收集菌体,用 PBS 缓冲液洗涤两次,重悬用于降解效果测定试验。

1.5 降解菌降解效果测定试验

1.5.1 二氯喹啉酸浓度的测定:采用高效液相色谱法,并参照文献 [16] 进行。

1.5.2 二氯喹啉酸降解试验:向 20 mg/L 二氯喹啉酸无机盐液体培养基中,以 5% 接种量接种初步筛选得的 12 株降解菌,于 28℃、150 r/min 的摇床上培养 7 d,每隔 24 h 分别测定一次二氯喹啉酸的质量浓度和菌株生长量 (OD_{600} 值)。对照组接种等量灭活

的 PBS 菌悬液。

1.6 降解菌 MC-10 降解二氯喹啉酸的条件试验

1.6.1 温度对降解菌降解效果影响:以 5% 接种量将 MC-10 PBS 菌悬液接种到 20 mg/L、pH 7 的二氯喹啉酸无机盐培养基中,分别置于 25℃、28℃、30℃、33℃、35℃ 的摇床上培养 4 d,测定各处理二氯喹啉酸浓度。

1.6.2 pH 对降解菌降解效果的影响:分别配制 pH 为 4、5、6、7、8、9 的 20 mg/L 二氯喹啉酸无机盐培养基,并向各培养基中接种 5% 降解菌 MC-10 PBS 菌悬液,于 28℃、150 r/min 的摇床上培养 4 d 测定各处理二氯喹啉酸浓度。

1.6.3 接种量对降解效果的影响:分别以 1%、3%、5%、7%、10% 接种量将降解菌 MC-10 PBS 菌悬液接种到 20 mg/L、pH 7 的二氯喹啉酸无机盐培养基中,培养 4 d 测定各处理二氯喹啉酸浓度。

1.6.4 二氯喹啉酸初始浓度对降解效果的影响:将降解菌 MC-10 PBS 菌悬液以 5% 的接种量分别接种到 10 mg/L、30 mg/L、50 mg/L、80 mg/L 和 100 mg/L 的二氯喹啉酸无机盐培养基中,于 28℃、150 r/min 摇床上培养 4 d 后测定二氯喹啉酸浓度。

1.7 降解菌 MC-10 降解土壤中二氯喹啉酸试验

以混土法将二氯喹啉酸加入到灭活土壤中,配制最初沉积量为 10 mg/kg 的二氯喹啉酸毒土,将降解菌 MC-10 PBS 菌悬液以 5% 接种量均匀接种到二氯喹啉酸毒土中,对照组加等量灭活的 MC-10 PBS 菌悬液。于 30℃ 培养箱中培养 7 d,测定土壤中残留二氯喹啉酸的含量,测定过程参照文献 [3] 进行。

2 结果和分析

2.1 降解菌筛选结果

从二氯喹啉酸无机盐筛选培养基中选取 12 株长势良好的菌株,分别将其接种到 20 mg/L、pH 7 二氯喹啉酸无机盐培养基中,在 28℃、150 r/min 摇床上培养 7 d 后测得各处理残留二氯喹啉酸浓度并计算各菌株降解率见表 1。降解率 = [(对照组残留浓度 - 处理组残留浓度) / 初始浓度] × 100%。从表 1 可以看出 MC-10 的降解效果较好可达 90%,降解菌 MC-10 降解二氯喹啉酸的液相色谱分析图如图 1。

表 1. 12 株降解菌的二氯喹啉酸降解率

Table 1. Degradation rate of the 12 strains quinclorac degrading bacteria

Strain No.	Quinclorac concentration after 7 days / (mg/L)	Degradation rate / %
MC-01	15.15	23.7
MC-02	16.51	16.9
MC-03	17.03	14.3
MC-04	17.99	9.5
MC-05	6.07	69.1
MC-06	8.25	58.2
CK	19.89	-
MC-07	15.81	20.4
MC-08	5.19	73.5
MC-09	17.85	10.2
MC-10	1.63	91.3
MC-11	8.51	56.9
MC-12	11.35	42.7

2.2 降解菌的鉴定结果

菌株 MC-10 在 LB 固体培养基上培养 48 h 后,菌落呈黄色,边缘整齐,光滑湿润。电子显微镜下观察菌体呈短杆状,存在球杆形态转化,无鞭毛、不形成芽孢(图 2)。革兰氏染色阳性,氧化酶甲基红试验均呈阴性,淀粉水解和吲哚试验呈阳性,能利用葡萄糖和乳糖。将菌株 MC-10 16S rDNA 序列上传到 GenBank 数据库中获得登录号为:KJ619485,并与 GenBank 中序列进行相似度比对,在 RDP 数据库中进行 BLAST,应用 MEGA 4.0 软件作系统发育树(图 3),结合生理生化鉴定结果确定其为节杆菌属(*Arthrobacter*)菌株。菌株 MC-10 保存于中国菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏,保藏号为 CGMCC8489。

2.3 影响降解菌 MC-10 降解效果的因素分析

2.3.1 培养时间对 MC-10 降解效果的影响:将降解菌 MC-10 以 5% 接种量接种到二氯喹啉酸无机盐培养基中,前 48 h 为生长的延滞期,细菌数量增长缓慢,对二氯喹啉酸降解量较小;但细菌仍然很活跃,大量分泌各种酶类为之后的生长做准备,所以这个时期的二氯喹啉酸降解速率较小。第三天开始细菌生长进入对数期,细菌代谢旺盛,大量繁殖,对二氯喹啉酸的降解速率也大幅提升。随着细菌数量的增长,培养基中二氯喹啉酸的含量逐渐减少,不足以维持细菌大量繁殖的需要,细菌的生长量略有下降,直至培养基中二氯喹啉酸被降解完(图 4)。

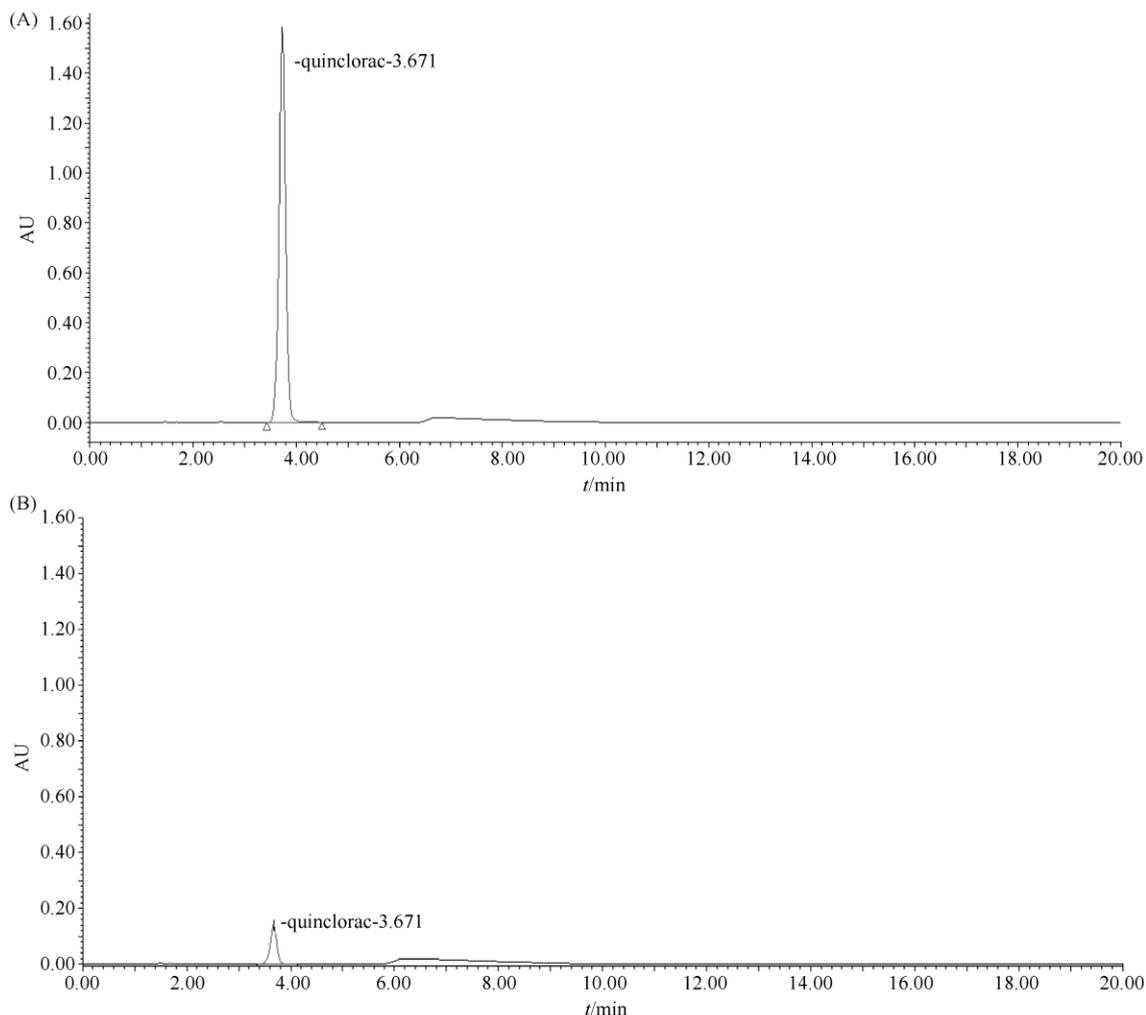


图 1. 培养基中二氯喹啉酸液相色谱分析图

Figure 1. HPLC chromatograms of quinclorac in medium. A: HPLC chromatograms of quinclorac in the beginning; B: HPLC chromatograms of quinclorac after degraded 7 days by strain MC-10.



图 2. 降解菌 MC-10 透射电镜照片 (40000 ×)

Figure 2. TEM images of the strain MC-10 (40000 ×).

2.3.2 温度对降解菌 MC-10 降解效果的影响: 由图 5 可知, 降解菌 MC-10 在 25 – 35℃ 之间对二氯喹啉酸均有较好的降解效果, 4 d 降解率均能达到 75% 以上, 说明该菌的有较好的环境适应能力, 具有

移植到田间自然环境中的良好潜质; 从图 5 中还可以看出该菌对二氯喹啉酸的最佳降解温度为 30℃, 4 d 降解率超过 90%。

2.3.3 pH 对降解菌 MC-10 降解效果的影响: 由图 6 可以看出, 该菌在 pH 4 – 9 范围内均能生存, 在 pH 6 – 7 时降解效果最好, 4 d 降解率可达 80%; 随着 pH 增高或减小降解率也逐渐降低, 但 pH 减小对菌株降解效果的影响要小于 pH 升高对菌株降解效果的影响, 说明该菌适宜在中性或微酸性的环境中生长。出现这种现象的原因可能是因为二氯喹啉酸分子在酸性环境下以分子形式存在易穿过细胞膜, 在碱性环境下则以离子形式存在, 不易吸收利用。

2.3.4 最初接种量对降解菌 MC-10 降解效果的影响: 从图 7 可以看出随接种量的增加降解率逐渐增

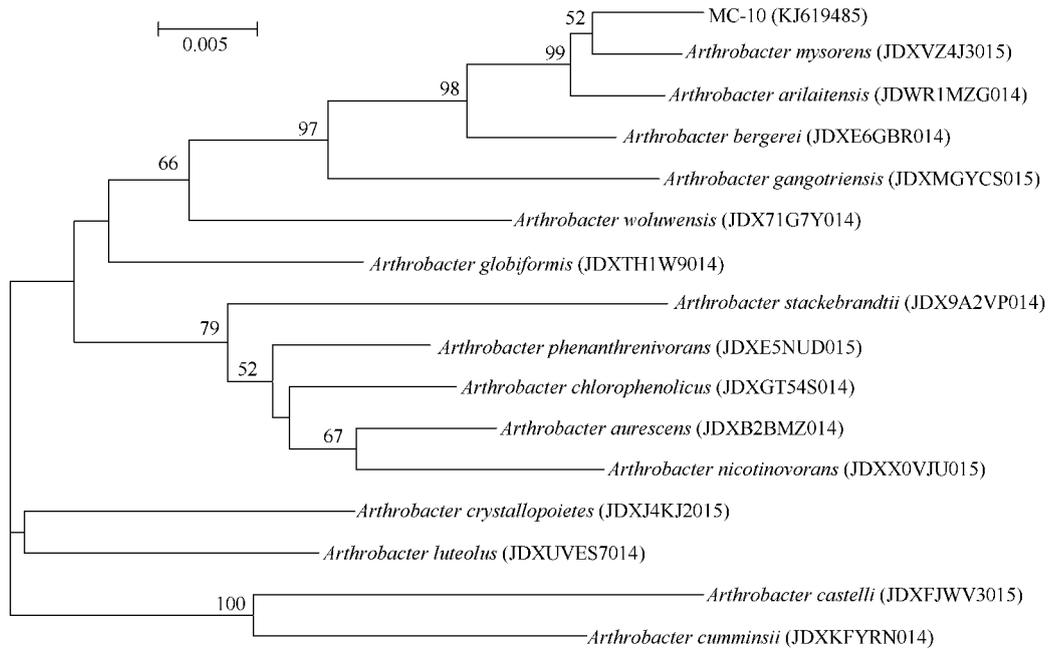


图 3. 以 16S rDNA 序列为基础的降解菌 MC-10 系统发育树

Figure 3. Phylogenetic tree of the strain MC-10 based on 16S rDNA sequence

The phylogenetic tree was constructed using the MEGA program with the neighbor-joining algorithm. In the parentheses are GenBank accession number. Number at each node is the percentage of nodes in 1 000 bootstrap replications. Bar, 0.5% sequence divergence.

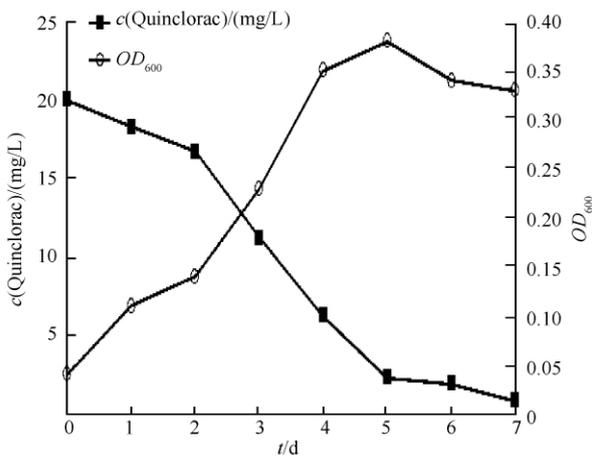


图 4. 培养时间对菌株 MC-10 生长量 (OD_{600}) 和降解效果的影响

Figure 4. Effect of incubating time on the growth (OD_{600}) and the degradation rate of the strain MC-10.

大, 菌株的生长量则随接种量的增加先升高后降低, 是因为 1% 和 3% 接种量的处理经过 4 d 培养, 菌量基数较小尚处于对数生长期, 因而对二氯喹啉酸的降解量也偏小。接种量为 5%、7%、10% 处理组对二氯喹啉酸的降解率差别不明显是因为菌株经过 4 d 的培养都到达平稳期, 经过了对二氯喹啉酸大量消耗的对数期; 而 10% 接种量处理组的生长量则略

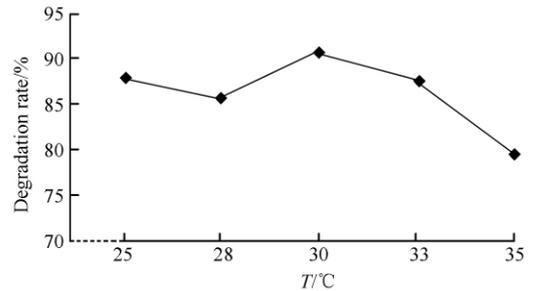


图 5. 温度对菌株 MC-10 降解效果的影响图

Figure 5. Effect of temperature on the degradation rate of the strain MC-10.

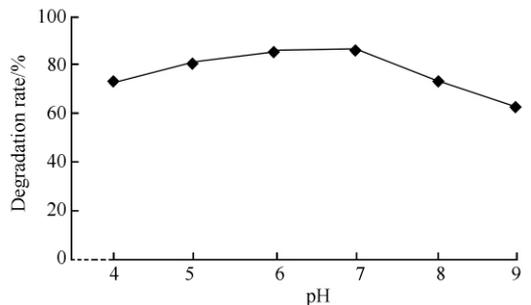


图 6. pH 值对降解菌 MC-10 降解效果的影响图

Figure 6. Effect of pH on the degradation rate of the strain MC-10.

有下降是因为菌落基数过大而提前进入衰退期, 所

以该菌的最佳接种量应在 5% - 7% 之间。

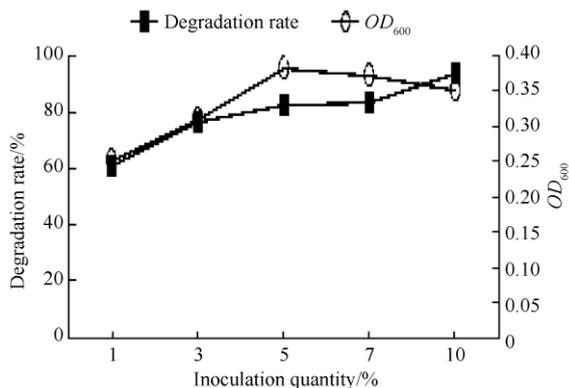


图 7. 接种量对降解菌 MC-10 生长量 (OD_{600}) 和降解效果的影响

Figure 7. Effect of inoculation quantity on the growth (OD_{600}) and the degradation rate of the strain of MC-10.

2.3.5 二氯喹啉酸初始浓度对降解菌 MC-10 降解效果的影响:从图 8 可以看出降解菌 MC-10 在二氯喹啉酸初始浓度为 10 mg/L - 100 mg/L 之间时均能较好的生长,当初始浓度在 10 mg/L - 50 mg/L 之间时培养 4 d,降解率达到 80%;当二氯喹啉酸初始浓度超过 80 mg/L 时降解率逐渐降低,但也能达到

60% 以上。造成降解效率降低的原因,可能是二氯喹啉酸浓度过大开始对菌株产生毒害,也可能是二氯喹啉酸在水中溶解度较低,降解菌对未溶解的二氯喹啉酸利用效果较差,具体原因有待于进一步的分析研究。

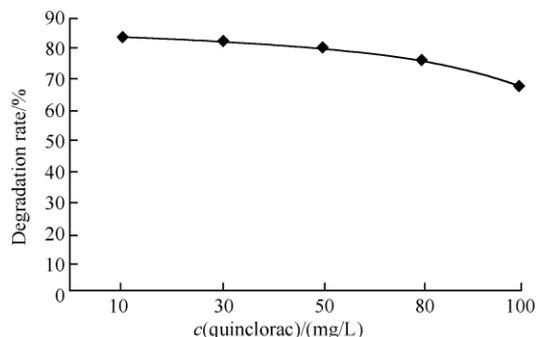


图 8. 二氯喹啉酸初始浓度对降解菌 MC-10 降解效果的影响

Figure 8. Effect of quinclorac concentration on the degradation rate of the strain MC-10.

2.4 菌株 MC-10 降解土壤中二氯喹啉酸检测结果
土壤中二氯喹啉酸最初沉积量为 10 mg/L,在经过降解菌 MC-10 7 d 降解,土壤中残余二氯喹啉酸含量为 1.76 mg/L (如图 9-A),对照组土

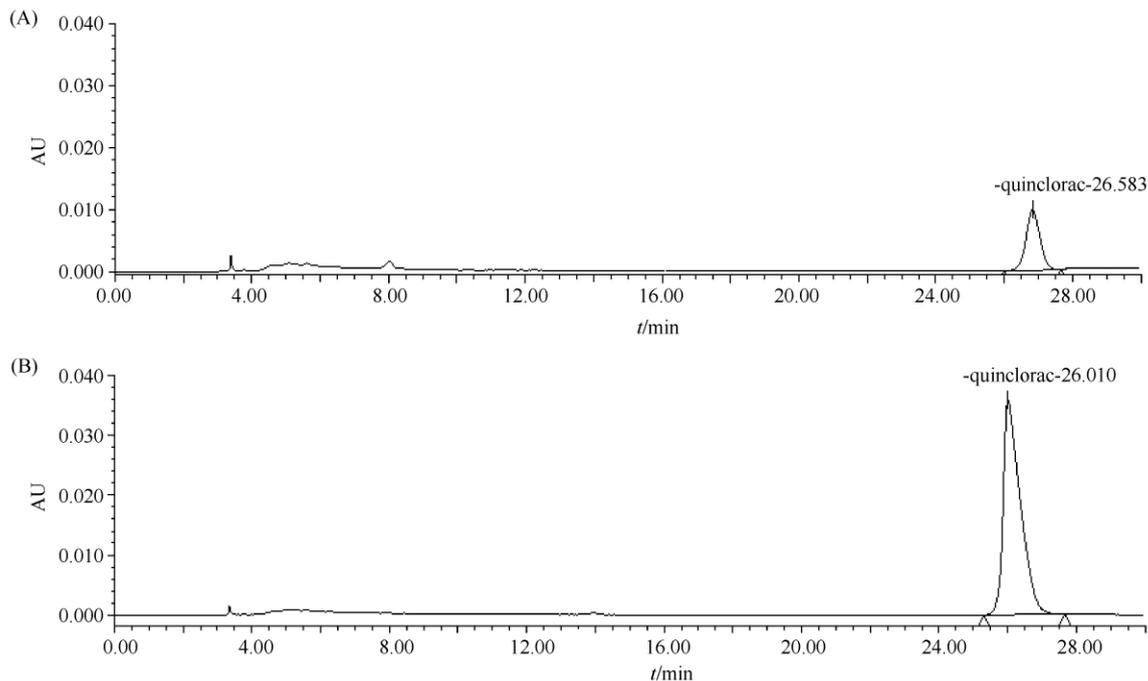


图 9. 降解菌 MC-10 对土壤中二氯喹啉酸降解效果液相色谱分析对比图

Figure 9. Comparative of HPLC chromatogram between soil treated by the stain MC-10 and CK. A: HPLC chromatograms of quinclorac in the soil after degraded by strain MC-10; B: HPLC chromatograms of CK.

壤中残余二氯喹啉酸含量为 8.94 mg/L (如图 9-B), 7 d 降解率为 71.8%, 说明降解菌能够有效地降解土壤中残留二氯喹啉酸, 具备移植到田间的潜质。

3 结论

二氯喹啉酸作为广泛使用的稻田除草剂, 具有良好防治效果, 减轻田间工作量, 但由于其在土壤中降解缓慢易给下茬作物造成药害。为从根本上解决土壤中二氯喹啉酸残留问题, 本研究从长期施用二氯喹啉酸的稻田土壤中分离到了一株二氯喹啉酸高效降解菌, 经鉴定为节杆菌属菌并命名为 MC-10。该降解菌最佳降解温度为 30℃、最佳降解 PH 为 7、最佳接种量为 5%, 二氯喹啉酸初始浓度在 10 - 100 mg/L 间均有良好的降解效果。将降解菌 MC-10 接种到 10 mg/kg 二氯喹啉酸毒土中, 温室内培养 7 d 二氯喹啉酸降解率可达 70%, 降解菌 MC-10 在土壤中对二氯喹啉酸同样具有降解效果。

4 讨论

目前, 针对二氯喹啉酸残留治理措施主要有田间施用生石灰中和二氯喹啉酸或活性炭吸附土壤中残留二氯喹啉酸^[4,17]; 喷施赤霉素、芸苔素内酯、植保素等化学药剂缓解受害烟株症状^[18-19]; 深耕覆土、增施有机肥等栽培措施改良土壤环境以减轻药害。这些措施虽然在一定程度上能缓解药害, 但是不能从根本上解决二氯喹啉酸在土壤中的残留问题。为从根本上解决二氯喹啉酸在土壤中的残留问题国内学者从土壤中分离到了数株二氯喹啉酸高效降解菌, 如菌株 LS、菌株 WZ1、菌株 J3、菌株 HN36 等^[10-14] 少数几株菌, 有关节杆菌属二氯喹啉酸降解菌的报道尚属首次。二氯喹啉酸降解菌 MC-10 较上述几株降解菌具有较好的环境适应性, 对低浓度下二氯喹啉酸同样具有良好的降解效果, 具有较好的开发利用前景。

虽然降解菌 MC-10 在实验室环境下对水和土壤中的二氯喹啉酸具有较好的降解效果, 但田间实际环境更为复杂, MC-10 能否在田间有效地降解土壤中残留的二氯喹啉酸, 减轻药害对下茬作物的影

响还有待于进一步的试验研究。根据 MC-10 的生理生化特性, 开发易于运输和施用的菌剂或菌肥用于土壤中残留二氯喹啉酸的治理是下一步研究工作的重点。目前, 有关降解菌降解二氯喹啉酸作用机理的研究还很少, 根据降解过程中的主要产物和最终产物推测反应过程, 探索降解过程中起关键作用的酶和基因, 将会更好地帮助我们治理二氯喹啉酸残留污染问题。

参考文献

- [1] Overview of 2008 pesticides market and outlook of 2009 pesticides market. *Agricultural Research and Application*, 2008, 12 (5) : 38-39. (in Chinese)
2008 年我国农药市场概况及 2009 年农药市场展望. 农业研究与应用, 2008, 12 (5) : 38-39.
- [2] Norsworthy JK, Bangarwa SK, Scott RC, Still J, Griffith GM. Use of propanil and quinclorac tank mixtures for broadleaf weed control on rice (*Oryza sativa*) levees. *Crop Protection*, 2010, 29: 255-259.
- [3] Zhang Q, Guo W, Song C, Guan Z, Wang J, Mu S, Wang G, Li Y. Degradation dynamics of quinclorac and its influencing factors in four soils. *Chinese Tobacco Science*, 2013, 34 (6) : 83-88. (in Chinese)
张倩, 郭伟, 宋超, 管志坤, 王金亮, 牟山, 王刚, 李义强. 二氯喹啉酸在不同土壤中的降解规律及其影响因子. 中国烟草科学, 2013, 34 (6) : 83-88.
- [4] Chen Z, Deng J, Wang S, Wang J, Zhan Z. Detoxication of some chemicals for deformity of tobacco by quinclorac. *Ecology and Environmental Sciences*, 2007, 16 (2) : 453-456. (in Chinese)
陈泽鹏, 邓建朝, 万树青, 王静, 詹振寿. 二氯喹啉酸致烟草畸形生长的解毒剂筛选与解毒效果. 生态环境, 2007, 16 (2) : 453-456.
- [5] Chen Z, Wang J, Wan S, Deng J. Degradation dynamic of quinclorac in soil of growing tobacco. *Agrochemicals*, 2007, 46 (7) : 479-481. (in Chinese)
陈泽鹏, 王静, 万树青, 邓建朝. 烟区土壤残留二氯喹啉酸的消解动态. 农药, 2007, 46 (7) : 479-481.
- [6] Sterling TM. Mechanism of herbicide absorption across plant membranes and accumulation plant cells. *Weed Science*, 1994, 42: 263-276.
- [7] Hill BD, Moyer JR, Inaba DJ, Doram R. Effect of moisture on quinclorac dissipation in lethbridge soil.

- Canadian Journal of Plant Science*, 1998, 78 (4) : 697-702.
- [8] 李晶新. 二氯喹啉酸对烤烟生理特性影响的研究. 河南农业大学硕士学位论文, 2010.
- [9] 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. *Applied Environmental Microbiology*, 2000, 66 (7) : 2773-2782.
- [10] Lu Z, Li Z, Sang L, Min H. Characterization of a strain capable of degrading a herbicide mixture of quinclorac and bensulfuronmethyl. *Pedosphere*, 2008, 18 (5) : 554-563.
- [11] Lu Z, Wu S, Ruan A. Phylogenetic and degradation characteration of *Buerkholderia cepecia* WZI degrading quinclorac. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contamin.*, 2003, 38 (6) : 771-782.
- [12] Lu Z, Min H, Ye Y. Influences of quinclorac on culturable microorganisms and soil respiration in flooded paddy soil. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2003, 16 : 314-322.
- [13] Dong J, Luo K, Bo L, Zhou X, Zeng A, Fan J. Isolation, identification and characterization of an *Alcaligenes* strain capable of degrading quinclorac. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2013, 15 (3) : 316-322. (in Chinese)
董俊宇, 罗坤, 柏连阳, 周小毛, 曾爱平, 范俊. 二氯喹啉酸降解菌的分离鉴定及降解特性分析. 农药学学报, 2013, 15 (3) : 316-322.
- [14] Xu S, Zhou J, Huang N, Liu H, Feng H, Han J, Wu K. On the way of isolating, identifying and characterization of quinclorac-degrading bacterium HN36. *Journal of Safety and Environment*, 2012, 12 (4) : 45-48. (in Chinese)
徐淑霞, 周杰, 黄宁, 刘华山, 冯航标, 韩锦峰, 吴坤. 二氯喹啉酸降解菌 HN36 的分离、鉴定及降解特性研究. 安全与环境学报, 2012, 04 : 45-48.
- [15] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001 : 370-410.
- [16] Hong Y, Song Y, Jia W. Determination of quinclorac residues in water and soil with SPE-HPLC. *Modern preventive Medicine*, 2012, 39 (23) : 6256-6258. (in Chinese)
洪月玲, 宋燕燕, 贾伟华. 固相萃取-高效液相色谱法测定水和土壤中二氯喹啉酸残留. 现代预防医学, 2012, 39 (23) : 6256-6258.
- [17] Wang Y, Crosby D. The degradation of a novel herbicide quinclorac in water field. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1992, 12 (3) : 261-267.
- [18] Liu H, Li J, Han J, Xu S, Zuo T, Yuan S. Protection effects of SNP on tobacco seedlings of active oxygen and the system of activities of protective enzymes under quinclorac stress. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2010, 25 (2) : 156-158. (in Chinese)
刘华山, 李晶新, 韩锦峰, 徐淑霞, 左涛, 袁仕豪. 二氯喹啉酸胁迫下 SNP 对烟苗活性氧及保护酶系统的修复效应. 华北农学报, 2010, 25 (2) : 156-158.
- [19] Liu H, Wang X, Han J, Zhang Z, Yuan S, Yi J. Effects of exogenous calcium of physiological characters of flue-cured tobacco under quinclorac stress. *Acta Tabacaria Sinica*, 2012, 18 (2) : 12-16. (in Chinese)
刘华山, 王晓军, 韩锦峰, 张志勇, 袁仕豪, 易建华. 外源钙对二氯喹啉酸胁迫下烟叶生理特性影响. 中国烟草学报, 2012, 18 (2) : 12-16.

Screening, identification and characterization of a quinclorac-degrading *Arthrobacter* sp. MC-10

Shun Zhang^{1,5}, Guolian Huang², Jialai Xu³, Bin Li⁴, Hongguang Li²,
Dexin Chen^{5*}

¹Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100000, China

²Hunan Chenzhou Tobacco Company, Chenzhou 423000, Hunan Province, China

³Shandong Tobacco Research Institute, Ji'nan 250101, Shandong Province, China

⁴Sichuan Tobacco Company, Chengdu 610000, Sichuan Province, China

⁵Qingzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Qingdao 266001, Shandong Province, China

Abstract: [Objective] We screened and isolated bacterial strains from the perennial administration quinclorac paddy fields to degrade quinclorac. [Methods] Strain MC-10, which can degrade quinclorac efficiently, was screened by enrichment and selective medium. The strain was identified by morphological, physio-biochemical characteristics and 16S rDNA gene sequence analysis. [Results] MC-10 was identified as *Arthrobacter* sp. Under the optimal growth conditions with inoculum concentration of 5%, at 28 °C, pH 7 for 7 d, MC-10 degraded more than 90% of quinclorac. MC-10 can effectively degrade quinclorac when quinclorac initial concentration at 1 mg/L – 100 mg/L. And the strain MC-10 has a good ability to survive in the soil. More than 70% quinclorac in the soil can be degraded efficiently after 7 days of cultivation. [Conclusion] *Arthrobacter* sp. MC-10 could be a promising microorganism in dealing with quinclorac pollution.

Keywords: quinclorac, microbial remediation, *Arthrobacter* sp., phytotoxicity

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Tobacco Corporation of China (110200902065), by the Tobacco Corporation of Sichuan Province (201302005), by the Tobacco Corporation of Shandong Province (201001) and by the Tobacco Corporation of Hunan Province (12-14Aa03)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-532-66715507; E-mail: cdxycs@gmail.com

Received: 31 March 2014/ Revised: 2 April 2014

《微生物学报》对英文摘要的写作要求

2007年12月修订

1. 英文摘要的内容应与中文摘要一致,但比中文摘要更详尽。要求在文中给出 [Objective], [Methods], [Results], [Conclusion] 等 words。英文摘要完成后,务必请英文较好、且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的,即使学术上可以达到刊出的水平,本刊也将推迟发表。

2. 英文摘要的撰写要点:

- (1) 建议使用第一人称,以此可区分研究结果是引用文献的还是作者的。
- (2) 建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊尽量不用,这样可以免好多长句,以求简单清晰。
- (3) 摘要应当使用过去时态,语法正确,句子通顺。
- (4) 句子的开头处最好不要使用阿拉伯数字。
- (5) 不用缩写语,除非是人人皆知的,如:DNA、ATP等。
- (6) 不要使用任何汉字字符,包括标点、括号、温度、希腊字母等。