

# 阿特拉津及其降解菌的使用对土壤微生物群落的影响\*

胡江 代先祝 李顺鹏\*\*

(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实验室, 南京 210095)

**【摘要】** 比较了阿特拉津及降解菌株 BTAH1 的使用对土壤微生物的影响. 结果表明, 在实验周期内阿特拉津对土壤微生物的代谢作用有较明显的刺激作用, 与空白土壤(未施用阿特拉津和降解菌)相比, 对照土壤(施用 50 mg·kg<sup>-1</sup> 阿特拉津)呼吸强度显著增加, 且土壤中的阿特拉津浓度对土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度的影响显著. 降解菌 BTAH1 可在 1 周内降解土壤中 98% 以上的阿特拉津, 从而使土壤呼吸强度有所下降, 土壤中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的浓度基本与空白土壤持平, 对微生物量 C 和微生物量 N 影响不显著; 放线菌和真菌数量也基本与空白持平, 细菌数量较高. 对土壤细菌的 16S rDNA 文库的 ARDRA 分析发现, 阿特拉津及其降解菌的使用对土壤细菌群落结构有一定程度的影响, 阿特拉津的使用会降低细菌群落的多样性, 而降解菌的使用会恢复土壤细菌的多样性.

**关键词** 阿特拉津 生物降解 土壤微生物 群落结构 ARDRA

文章编号 1001-9332(2005)08-1518-05 中图分类号 X172 文献标识码 A

**Effects of atrazine and its degrader *Exiguobacterium* sp. BTAH1 on soil microbial community.** HU Jiang, DAI Xianzhu, LI Shurpeng (*Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment of Agriculture Ministry, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2005, 16(8):1518~1522.

The study showed that the application of atrazine stimulated soil microorganisms obviously. In comparing with control (without atrazine), the respiration intensity of soil applied with 50 mg atrazine·kg<sup>-1</sup> soil increased greatly, the concentrations of soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N changed significantly, and the individuals of soil microbes, especially bacteria and fungi, also increased greatly. The application of strain BTAH1 could degrade 98% of applied atrazine within one week, and led to the decrease of soil respiration intensity. Under BTAH1 application, the individuals of actinomyces and fungi decreased, while those of bacteria did not, and the concentrations of soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N came back to the level of the control. ARDRA analysis on the 16s rDNA library of soil bacteria suggested that the application of atrazine could decrease the biodiversity of soil microorganisms, while applying BTAH1 could recover the biodiversity.

**Key words** Atrazine, Biodegradation, Soil microorganisms, Community structure, ARDRA.

## 1 引言

阿特拉津是一种在全世界范围内广泛使用的三嗪类除草剂, 它使用量大, 半衰期长, 可溶性较好, 很容易造成土壤和水体污染, 对后茬作物产生药害. 曾经大量使用阿特拉津的国家已在地表水和地下水中发现阿特拉津的残留, 美国、欧共体和日本等均把它列入内分泌干扰剂化合物名单. 美国 EPA 规定饮用水中的阿特拉津不可超过 3 μg·L<sup>-1</sup>, 欧共体规定为 0.1 μg·L<sup>-1</sup>, 我国则在 1998 年制定阿特拉津在 I、II 类地表水中的标准为 3 μg·L<sup>-1</sup>. 近 10 年来, 阿特拉津生物降解及原位修复得到详尽研究, 并获得较理想的应用效果<sup>[3, 11, 12, 16]</sup>, 有关降解菌在环境中的行为及其对环境的影响也越来越受到关注. 微生物分子生态学技术的发展使得我们可以通过检测生物

自然种群 DNA 序列多态性, 更好地揭示生物与环境之间的生态学意义<sup>[13, 20, 24]</sup>. ARDRA (amplified ribosomal DNA restriction analysis) 方法是以碱基的排列顺序为依据, 更具有精确性, 而且土壤 16S rRNA 基因文库越大, 反映土壤微生物的结构越全面. 本文分离得到 1 株革兰氏阳性阿特拉津降解菌, 在此基础上, 对阿特拉津及该降解菌对土壤微生物的影响做了比较和研究.

## 2 材料与方法

### 2.1 供试土壤

采集南京东郊菜园土, 过 5 mm 筛, 按 1 kg 量分装, 保湿

\* 国家“863”计划项目(2003AA241150)和江苏省科技攻关资助项目(BE2002345, BE2003343).

\*\* 通讯联系人.

2004-09-17 收稿, 2005-02-02 接受.

培养 7 d 后,用于后续实验,基本理化性质见表 1.

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soil

pH	全 C Total C (g·kg <sup>-1</sup> )	全 N Total N (g·kg <sup>-1</sup> )	速效 P Available P (μg·g <sup>-1</sup> )	速效 K Available K (μg·g <sup>-1</sup> )
7.84	15.02	1.46	40.12	54.60

## 2.2 供试菌株

微小杆菌属 (*Exiguobacterium* sp.) 菌株 BTAH1, 由本实验室分离保藏.

## 2.3 除草剂阿特拉津和降解菌的施用

将供试土壤分为 4 组, 每组 4 个重复, 每重复用土 1 kg: (1) 空白组 (BL): 不施用除草剂和降解菌, 但施用与菌液同体积的 1/10 LB 培养基; (2) 对照组 (CK): 施用除草剂阿特拉津, 并施用与菌液同体积的 1/10 LB 培养基; (3) 处理组 (TR): 施用除草剂阿特拉津和降解菌, 降解菌浓度为 10<sup>8</sup> CFU·g<sup>-1</sup> 土; (4) 灭活菌液组 (ST): 施用阿特拉津和与降解菌同体积的高温灭活发酵液. 实验时, 向相应土壤先添加 50 mg·kg<sup>-1</sup> 的阿特拉津, 混匀, 保湿, 15 °C 培养 1 周后, 施用相应培养基和发酵液. 在相同条件下培养 3 周后, 取样测定各项指标.

## 2.4 测定方法

土壤中阿特拉津浓度用 HPLC 进行测定<sup>[9]</sup>; 土壤主要微生物类群采用平板计数法计数<sup>[4]</sup>; 土壤微生物生物量用氯仿熏蒸提取法测定<sup>[1,17]</sup>; 土壤呼吸强度用密闭静置培养法<sup>[7]</sup>测定; 土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 采用 KCl 浸提-蒸馏法<sup>[7]</sup>测定; 土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 采用酚二磺酸比色法<sup>[7]</sup>测定.

## 2.5 土壤 16S rDNA 文库的建立及 ARDRA 分析

从 4 组土壤的 4 个重复中分别取土 10 g, 混匀后从中取 10 g 土提取总 DNA<sup>[23]</sup>, 纯化后, 各土样的总 DNA 用 16S rDNA 通用引物<sup>[2,19]</sup>进行 PCR 扩增. PCR 扩增产物纯化回收后, 与 pMD 18-T Vector (TaKaRa Biotechnology (Dalian) Co. Ltd.) 进行酶连, 转化大肠杆菌 *E. coli* DH5α 高效感受态细胞, 涂布于含氨苄青霉素和 X-gal 的 LB 平板. 分别随机挑取各土样 16S rDNA 基因克隆的白斑转化子 200 个, 采用菌体直接扩增方式, 用 pMD 18-T Vector 通用引物扩增 1.5 kb 外源插入片段. 扩增产物用 Hha I 和 Rsa I 进行酶切, 酶切结果用 Quantity One 软件进行分析, 并结合人工对比分析酶切类型, 对土壤细菌遗传多样性进行统计分析.

## 3 结果与分析

### 3.1 土壤中阿特拉津的降解

从图 1 可以看出, 对照土壤 (CK) 中阿特拉津的降解十分缓慢, 在施用除草剂 28 d 后, 仍然维持在 45.6 mg·kg<sup>-1</sup>, 降解率为 8.8%; 添加了降解菌 BTAH1 的土壤 (TR) 中的绝大部分阿特拉津被降解, 阿特拉津浓度降低到 0.71 mg·kg<sup>-1</sup>, 降解率为

98.58%, 而添加灭活菌液的土壤 (ST) 中阿特拉津的降解速度仍然缓慢, 28 d 后的浓度为 49.8 mg·kg<sup>-1</sup>, 基本没有被降解, 说明土壤中阿特拉津的降解是由外源添加的降解菌完成的.

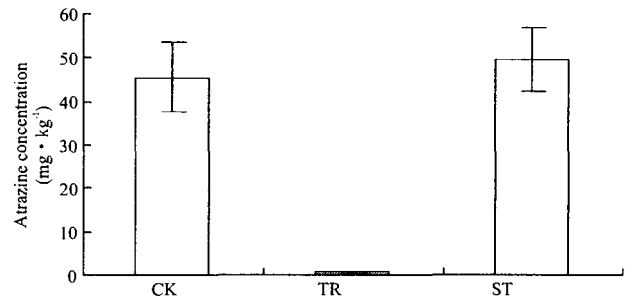


图 1 供试土壤中阿特拉津的降解

Fig. 1 Degradation of atrazine in the tested soils.

### 3.2 阿特拉津、降解菌 BTAH1 及其灭活发酵液的使用对土壤微生物和氮形态的影响

从表 2 可以看出, 空白土壤 (BL) 的呼吸强度与其它 3 种土壤差异显著, 处理土壤 (TR) 的呼吸强度也显著低于对照土壤 (CK) 和施用灭活菌液的土壤 (ST); 从微生物 C 来看, BL 与 CK 和 TR 有显著差异, 4 种土壤的微生物 N 量无显著差异. 于建磊等<sup>[22]</sup>研究表明, 除草剂乙草胺对土壤微生物的呼吸作用有明显的抑制作用; 叶央芳等<sup>[21]</sup>证明水田除草剂苯噻草胺对土壤呼吸强度有抑制作用; 而很多有毒有害化合物对土壤呼吸强度都有明显的抑制作用<sup>[5,6]</sup>. 阿特拉津没有抑制土壤的呼吸强度, 反而使其增加, 可能与其对微生物低毒有关<sup>[15]</sup>. 由于处理土壤 (TR) 阿特拉津浓度被大幅降低, 土壤的呼吸强度也大幅降低, 但微生物量 C 的降低不十分明显, 略高于使用灭活菌液的土壤, 表明降解菌本身对土壤微生物可能也有一定程度的影响. 对 4 种土壤的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量进行比较发现, BL 与 TR 无显著差异, 但与 CK 和 ST 差异显著, 表明阿特拉津的浓度对土壤氮形态有很大影响, 可能与其分子

表 2 阿特拉津、降解菌 BTAH1 及其灭活发酵液的使用对土壤呼吸强度、微生物量 C 和微生物量 N 及土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的影响

Table 2 Influence of application of atrazine, strain BTAH1, and sterilized fermented broth on soil respiratory intensity, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N

处理 Treatments	呼吸强度 Respiratory intensity (mg·100g <sup>-1</sup> )	微生物 C Microbial biomass C (μg·g <sup>-1</sup> )	微生物 N Microbial biomass N (μg·g <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg·kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg·kg <sup>-1</sup> )
BL	1.91 ± 0.06 <sup>c</sup>	155 ± 31 <sup>b</sup>	25.3 ± 4.3 <sup>a</sup>	75.4 ± 6.8 <sup>a</sup>	995 ± 57 <sup>a</sup>
CK	3.33 ± 0.09 <sup>a</sup>	236 ± 28 <sup>a</sup>	31.6 ± 3.1 <sup>a</sup>	49.7 ± 4.4 <sup>b</sup>	370 ± 34 <sup>c</sup>
TR	2.63 ± 0.24 <sup>b</sup>	234 ± 13 <sup>a</sup>	27.6 ± 4.4 <sup>a</sup>	71.1 ± 10.4 <sup>a</sup>	1013 ± 33 <sup>a</sup>
ST	3.44 ± 0.06 <sup>a</sup>	192 ± 24 <sup>ab</sup>	25.5 ± 5.7 <sup>a</sup>	46.2 ± 6.3 <sup>b</sup>	684 ± 61 <sup>b</sup>

同一列不同字母表示差异显著 Different letters in a column meant significant difference.

结构中氮元素含量很高、影响参与氮代谢的微生物有关. 尽管 ST 中阿特拉津的浓度与 CK 非常相似, 但其某些土壤指标与 CK 有很大差异, 表明 ST 中虽然不含有活的降解菌, 但其中的一些成分可能对土壤微生物也有一定程度的影响.

### 3.3 除草剂和降解菌的使用对土壤中主要微生物类群的数量影响

对土壤中主要微生物类群的计数表明(表 3), 空白土壤中 3 个主要类群数量都低于其它 3 个处理, 尤其是细菌和真菌的数量差异极其显著. 空白土壤中的细菌数量为  $0.7 \times 10^7$  CFU·g<sup>-1</sup>土, 而对照土壤中的细菌数量为  $1.4 \times 10^7$  CFU·g<sup>-1</sup>土, 相差一倍; 而真菌相差接近 2 个数量级, 空白土壤中为  $0.5 \times 10^3$  CFU·g<sup>-1</sup>土, 对照土壤中为  $11.1 \times 10^3$  CFU·g<sup>-1</sup>土. 该结果与空白土壤的呼吸强度、微生物量 C 和微生物量 N 较低是一致的, 同时也表明较高浓度的阿特拉津对土壤微生物有很强烈的刺激作用, 使某些微生物数量迅速增加. 而降解菌的使用对这一效应有所缓解, 除了细菌数量外, 其它两种微生物类群的数量都有所回落, 尤其是真菌数量回落明显, 说明阿特拉津浓度对真菌的刺激非常显著. 但该土壤中细菌的数量并没有因为阿特拉津浓度的降低而有所回落, 而是维持在较高数量上, 这可能是因为该降解菌本身对土著细菌也存在刺激作用, 这与接种降解菌的土壤中微生物量 C 和 N 指标较高一致. 在使用灭活菌液的土壤中, 由于阿特拉津没有被及时降解, 3 个主要微生物类群的数量都维持在较高水平, 呼吸强度也很高, 但微生物量 C 和 N 偏低, 具体原因不是十

分清楚. 吕镇梅等<sup>[10]</sup>研究表明, 除草剂二氯喹啉酸在短期内会促进好氧细菌和真菌的数量, 但是对于细菌的影响会在 33 d 后消失, 而仍对放线菌有一定抑制作用, 这也说明不同除草剂对土壤微生物的影响不同.

表 3 不同处理土壤中主要微生物类群的数量

Table 3 Quantity of major microbiology groups in tested soils

处理 Treat- ments	细菌 Bacteria ( $\times 10^7$ CFU·g <sup>-1</sup> )	放线菌 Actinomycetes ( $\times 10^5$ CFU·g <sup>-1</sup> )	真菌 Fungi ( $\times 10^3$ CFU·g <sup>-1</sup> )
BL	0.7	4.0	0.5
CK	1.4	8.3	11.1
TR	1.6	5.0	6.6
ST	1.7	7.3	12.7

### 3.4 四种土壤 16S rDNA 文库的 RFLP 分析

为了进一步研究除草剂阿特拉津及降解菌对土壤微生物的影响, 我们建立了 4 种土壤的 16S rDNA 文库, 对每种土壤 16S rDNA 文库中的 200 个克隆进行 PCR 扩增获得其外源插入片段. 用 Hha I 和 Rsa I 对 16S rDNA 片段进行酶切分析(图 2), 去除掉部分分辨不清条带, 共得到了 710 个克隆 16S rDNA 的 Hha I 和 Rsa I 的酶切图谱(空白 166 个, 对照 175 个, 处理 187 个, 灭活 182 个). 对各个克隆的 Hha I -Rsa I 酶切图谱进行比较统计, 鉴定获得了 234 种 RFLP 类型(其中 89 种为所有土壤共有的, 其余 145 种分别为各土壤特有)(表 4). Moyer 等<sup>[10]</sup>研究表明, 用 Hha I 和 Rsa I 两种 4 碱基限制性内切酶对 16S rDNA 的酶切图谱界定系统发育类型, 代表的微生物之间的 16S rDNA 平均同源率为 95.6%. 我们的酶切结果表明, 土壤经过不同处理

表 4 四种土壤 16S rDNA 克隆 Hha I -Rsa I 酶切类型数

Table 4 Numbers of Hha I -Rsa I RFLP phylotypes in 16S rDNA clone libraries from tested soils

参数 Parameters	BL	CK	TR	ST
克隆数 Total clone numbers	166	175	187	182
Hha I -Rsa I 酶切类型数 All Hha I -Rsa I digested types	136	118	132	115
特有的 Hha I -Rsa I 酶切类型数 <sup>a</sup> Special Hha I -Rsa I digested types	47	29	43	26
特有的 Hha I -Rsa I 酶切类型占总类型数比例 Ratio of special Hha I -Rsa I digested types to all digested types(%)	34.56	24.58	32.58	22.61
特有的 Hha I -Rsa I 酶切类型包含的克隆数 Clone number of special Hha I -Rsa I digested types	65	46	70	47
特有的 Hha I -Rsa I 酶切类型包含的克隆占总克隆数的比例 Ratio of clone number of special Hha I -Rsa I digested types to all digested types(%)	39.15	26.29	37.43	25.82
共有的 Hha I -Rsa I 酶切类型数 <sup>b</sup> Common Hha I -Rsa I digested types	89	89	89	89
共有的 Hha I -Rsa I 酶切类型占总类型数的比例 Ratio of common Hha I -Rsa I digested types to all digested types(%)	65.44	75.42	67.42	77.39
共有的 Hha I -Rsa I 酶切类型包含的克隆数 Clone number of common Hha I -Rsa I digested types	101	129	117	135
共有的 Hha I -Rsa I 酶切类型包含的克隆占总克隆数的比例 Ratio of clone number of common Hha I -Rsa I digested types to total clone number(%)	60.85	73.71	62.57	74.18
稀有 Hha I -Rsa I 酶切类型数 <sup>c</sup> Rare Hha I -Rsa I digested types	116	97	106	92
稀有 Hha I -Rsa I 酶切类型占总类型的比例 Ratio of rare Hha I -Rsa I digested types to all digested types(%)	85.29	82.20	80.30	80.00

a) 特有酶切类型是指在一个文库或几个文库中发现而并没有在所有文库中发现 Special digested type indicated a digested type being found only in one or several libraries; b) 共有酶切类型是指所有文库中都存在的酶切类型 Common digested type indicated a digested type being found in all of the four libraries; c) 稀有酶切类型是指在文库中只有一个克隆的酶切类型 Rare digested type indicated a digested type having only one clone in a library.

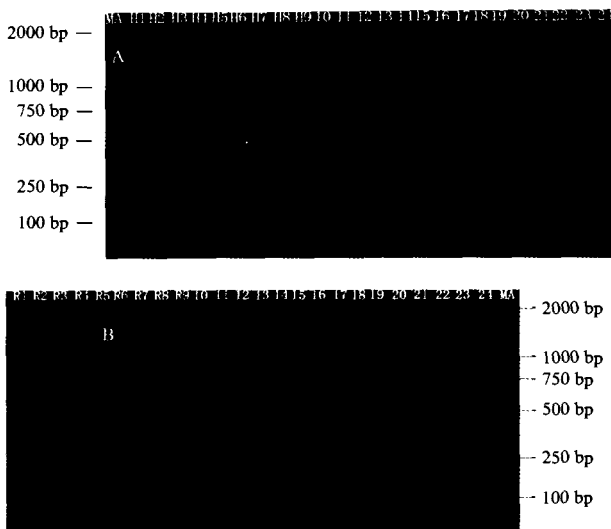


图2 土壤 16S rDNA 文库部分克隆的 Hha I 和 Rsa I 的 RFLP 图谱  
Fig. 2 RFLP profile of some clone digested by Hha I and Rsa I.  
A: Hha I 酶切 Digested by Hha I; B: Rsa I 酶切 Digested by Rsa I.

后,微生物群落结构会发生明显分化,虽然共有的酶切类型仍占绝大多数,但其中某些共有酶切类型的克隆数发生了很大变化,且某些特有酶切类型的克隆数也较多.从酶切类型来看,空白土壤的酶切类型要多于其它几种土壤,其稀有酶切类型比例占到了 85.29%,表明空白土壤具有更高的多样性.另外,比对过程中我们的文库中稀有酶切类型的比例都较高,这可能跟库容量较小有关,增大库容量可以更好地说明微生物群落结构的变化特征.

### 3.5 阿特拉津及降解菌的使用对土壤微生物多样性的影响

从表 5 可以看出,空白土壤的丰富度为 26.41,但对照土壤和灭活菌液处理土壤的丰富度则只有 22.67 和 21.92,处理土壤则为 25.04,表明细菌类群的遗传多样性降低,这应该与土壤中较高浓度的阿特拉津的刺激有关.其它多样性指数也显示,阿特拉津对土壤细菌的多样性有较大影响,对照和灭活土壤的多样性小于空白和处理土壤,表明降解菌的投加可以使土壤微生物群落多样性得以恢复.但这一过程需要多长时间、重新建立的平衡体系与原体系有多大差异,还需要进一步研究.降解菌和灭活发酵液对细菌群落结构也有明显影响,但是这种影响究竟是由阿特拉津的影响所造成的后续结果,还是降解菌本身或者发酵液的影响,还需进一步研究.另外,不同降解菌对土壤微生物的影响究竟如何,也是一个值得关注的问题.很多研究证明,降解菌的投加对于消除阿特拉津污染很有帮助<sup>[3,16,11,12]</sup>,Wackett 等<sup>[18]</sup>用重组的表达氯水解酶的大肠杆菌清除了土

表 5 不同处理土壤 16S rDNA 克隆 Hha I -Rsa I 酶切类型的多样性指数

Table 5 Diversity indices based on Hha I -Rsa I RFLP phylotypes in 16S rDNA clone libraries from the tested soils

处理 Treat- ments	多样性参数 Diversity index			
	丰富度 Richness	香农-威纳指数(H) Shannon-Weiner index	均匀度(E) Evenness	辛普森指数(D) Simpson's diversity index
BL	26.41	6.932	0.978	0.990
CK	22.67	6.017	0.874	0.985
TR	25.04	6.743	0.957	0.987
ST	21.92	6.440	0.940	0.984

壤中 1000 磅的阿特拉津,认为这是一个消除异源物质污染的有效方法.Goux 等<sup>[3]</sup>研究表明,使用降解菌 9 个月后,降解菌对土壤微生物的影响减小,但不同降解菌对土著微生物影响不同.虽然我们投加的降解菌在短期内对土壤微生物有较大影响,尤其是对细菌的数量和群落结构,但这种差异很可能是生物群落受到阿特拉津刺激后产生的变化,随着降解菌的投加和阿特拉津的消除,微生物群落处于自身调整的状态而独具特性.但是 Segers 等<sup>[14]</sup>研究表明除草剂阿特拉津和毒草胺的长期使用会导致土壤群落结构的演替,甲烷营养型细菌类群多样性降低,虽然这些变化不会减低群落的功能(甲烷氧化),但投加降解菌对这一演替过程是否有影响还需要进一步探讨.

### 参考文献

- Brookes PC, Andrea L, Pruden G. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem*, 12 (6):837~842
- Edwards U, Rogall T, Blocker HE. 1989. Isolation and direct complete determination of entire genes. *Nucleic Acids Res*, 17: 7843~7853
- Goux S, Shapir N, Fantroussi S, et al. 2003. Long-term maintenance of rapid atrazine degradation in soils inoculated with atrazine degraders. *Water Air Soil Pollut Focus*, 3:131~142
- Li F-D(李阜棣), Yu Z-N(喻子牛), He S-J(何绍江). 1996. Experimental Techniques in Agricultural Microbiology. Beijing: China Agriculture Press. 69~71(in Chinese)
- Liu H-J(刘惠君), Zheng W(郑 巍), Liu W-P(刘伟屏). 2001. Effects of pesticide imidacloprid and its metabolites on soil respiration. *Environ Sci(环境科学)*, 22(4):74~76(in Chinese)
- Long J(龙 健), Huang C-Y(黄昌勇), Teng Y(滕 应), et al. 2003. Microbial eco-characteristics of reclaimed mining wasteland in red soil area of southern China I. Effects on soil microbial activity. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, 14(11):1925~1928(in Chinese)
- Lu L-K(鲁如坤), ed. 2000. Soil Agriculture Chemical Analysis Method. Beijing: China Agriculture Press. 283~287(in Chinese)
- Lü Z-M(吕镇梅), Min H(闵 航), Ye Y-F(叶央芳). 2004. Effect of herbicide quinclorac on microbial populations in a paddy soil. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, 15(4):605~609(in Chinese)
- Mandelbaum RT, Allan DL, Wackett LP. 1995. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Appl Environ Microbiol*, 61:1451~1457.
- Moyer CL, Tiedje JM, Dobbs FC, et al. 1996. A computer-simulat-

- ed restriction fragment length polymorphism analysis of bacterial small-subunit rRNA genes: Efficacy of selected tetrameric restriction enzymes for studies of microbial diversity in nature. *Appl Environ Microbiol*, **62**:2501~2507
- 11 Rousseaux S, Hartmann A, Lagacherie B, *et al.* 2003. Inoculation of an atrazine-degrading strain, *Chelatobacter heintzii* Cit1, in four different soils: Effects of different inoculum densities. *Chemosphere*, **51**:569~577
- 12 Runes HB, Jenkins JJ, Bottomley PJ. 2001. Atrazine degradation by bioaugmented sediment from constructed wetlands. *Appl Microbiol Biotechnol*, **57**:427~432
- 13 Said EL, Fantrouss L, Verschuere W. 1999. Effect of phenylurea herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16S rRNA gene fingerprints and community-level physiological profiles. *Appl Environ Microbiol*, **65**(3):982~988
- 14 Segers D, Verthé K, Reheul D, *et al.* 2003. Effect of long-term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil. *FEMS Microbiol Ecol*, **46**:139~146
- 15 Shanghai Institute of Plant Physiology(上海植物生理研究所). 1974. The Degradation of Herbicide. Shanghai: Shanghai People's Press. (in Chinese)
- 16 Topp E. 2001. A comparison of the three atrazine-degrading bacteria for soil bioremediation. *Biol Fert Soils*, **33**:529~534
- 17 Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem*, **19**(6):703~707
- 18 Wackett LP, Sadowsky MJ, Martinez B, *et al.* 2002. Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: From enzymes to field studies. *Appl Microbiol Biotechnol*, **58**:39~45.
- 19 Wilson KH, Blitchington RB, Green RC. 1990. Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, **28**:1942~1946
- 20 Yang Y, Yao J, Hu S. 2000. Effects of agricultural chemicals on DNA sequences diversity of soil microbial community: A study with RAPD marker. *Microbiol Ecol*, **39**:72~79
- 21 Ye Y-F(叶央芳), Min H(闵航), Zhou X-C(周湘弛). 2004. Effects of mefenacet of microbial respiration and enzyme activities in paddy soil. *Acta Pedol Sin*(土壤学报), **41**(1):93~96(in Chinese)
- 22 Yu J-L(于建垒), Song G-C(宋国春), Wan L-C(万鲁长), *et al.* 2000. Study on the effects of acetochlor on soil microbe. *Techn Equip Environ Pollut Contr*(环境污染治理技术与设备), **1**(5):61~65(in Chinese)
- 23 Zhang R-F(张瑞福), Cao H(曹慧), Cui Z-L(崔中利). 2003. Extraction and purification of soil microbial total DNA. *Acta Microbiol Sin*(微生物学报), **43**(2):276~282(in Chinese)
- 24 Zhong M(钟鸣), Zhou Q-X(周启星). 2002. Molecular ecological technology of microorganisms and its application to research on environmental pollution. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), **13**(2):247~251(in Chinese)

作者简介 胡江,女,1976年生,博士.主要从事环境微生物研究,发表论文4篇. Tel:025-84396246; E-mail:hujiang@njau.edu.cn

## 致读者·作者

《应用生态学报》系中国科学院沈阳应用生态研究所和中国生态学会主办的国内外公开发行的学术性期刊,科学出版社出版.国际标准刊号为ISSN1001-9332.专门刊载有关应用生态学(主要包括森林生态学、农业生态学、草地畜牧业生态学、渔业生态学、自然资源生态学、景观生态学、全球生态学、城市生态学、污染生态学、化学生态学、生态工程学和恢复生态学等)的具有创新性的综合性论文、研究报告和研究简报等.

本刊创刊于1990年,现为月刊,采用国际标准开本(210 mm×285 mm),192面,每期43万字.本刊系中国自然科学核心期刊,曾荣获全国优秀科技期刊和中国科学院优秀期刊称号.本刊整体质量和水平已达到相当高度,在国内外应用生态学界的影响日益扩大.《中国科学引文索引》、《中国生物学文摘》、美国《生物学文摘》(BA)、美国《化学文摘》(CA)、英国《生态学文摘》(EA)、日本《科学技术文献速报》(CBST)和俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)等数十种权威检索刊物均收录本刊的论文摘要(中英文).

据悉,您们正在从事有关生态与环境科学研究项目(如国家基础科学人才培养基金项目、国家杰出青年科学基金项目、国家自然科学基金重大和重点项目、国家攀登计划项目、国家“863”和“973”计划项目、国家重点科技攻关项目、“百人计划”项目、“长江学者计划”项目和国际合作研究项目等),并有望取得重大研究成果和产生一系列创新论文,本刊编辑同仁热切希望您及您的同行们充分利用这一科学园地,竭诚为您们提供优质跟踪服务,本刊将及时发表您们的创新成果论文(或以特刊、专刊及增刊等形式发表,或以专刊形式发表优秀英文创新论文).我们相信这一承诺一定能得到您们的积极响应,愿我们迎着新世纪的曙光,为应用生态学的发展协同奋进!

我们的目的:

读者——广泛订阅这一优秀期刊

作者——充分利用这一科学园地

编者——精心编制这一信息精品

《应用生态学报》编辑部