



## Identification of bacterial strains tolerant to pesticides from agricultural soils

## Identificación de cepas bacterianas tolerantes a pesticidas aisladas de suelos agrícolas

Eyra Liliana Ortiz-Pérez, Virgilio Bocanegra-García, Alberto Mendoza-Herrera, María Antonia Cruz-Hernández\*

Laboratorio Interacción Ambiente Microorganismo, Centro de Biotecnología Genómica - Instituto Politécnico Nacional, Boulevard del Maestro s/n Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, Cd. Reynosa, C.P. 88710, Tamaulipas, Mexico.

\*Corresponding author

E-mail address: [tonitacruz@gmail.com](mailto:tonitacruz@gmail.com) (M. A. Cruz-Hernández)

Article history:

Received: 14 December 2018 / Received in revised form: 20 May 2019 / Accepted: 31 May 2019 / Published online: 1 July 2019.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.57>

### ABSTRACT

Several microorganisms are able to degrade pollutants such as pesticides due to their metabolic potential. In this study, bacteria were isolated and identified from agricultural soils, which were able to tolerate and use pesticides as sole carbon and energy source. Five of the most commonly used chemical pesticides (dimethylamines, tri-isopropanolamines, glyphosate salts, atrazine and carbofuran) were evaluated at different concentrations using two culture media; TY (Tryptona / Yeast Extract) and Bushnell Haas (FLUKA). From the TY medium, 13 isolates with a tolerance to 0.05, 1.0, 5.0 and 10% pesticide were isolated. Isolates with a maximum tolerance of 1% for glyphosate and dimethylamine salts were identified as *Bacillus*, *Microbacterium* and *Bordetella*. Strains with maximum tolerance to 5% and 10% salts of tri-isopropanolamines, atrazine and carbofuran belong to the genera *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas* and *Achromobacter*. On the other hand, 9 isolates were obtained in Bushnell Haas medium, which showed a minimum tolerance of 0.05% and a maximum of 0.5% for glyphosate, 2.5% tolerance for dimethylamine salts, and 5% tolerance for atrazine and carbofuran. These isolates belong to five different genera; *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Achromobacter* and *Enterobacter*.

**Keywords:** contamination, biodegradation, pesticides, glyphosate, herbicides, agricultural residues.

## RESUMEN

Diversos microorganismos han sido reportados por su eficacia en la biodegradación de contaminantes como plaguicidas gracias a sus características metabólicas. En este estudio, se aislaron e identificaron bacterias de suelos agrícolas las cuales mostraron ser capaces de tolerar pesticidas y utilizarlos como única fuente de carbono y energía. Se evaluaron cinco pesticidas más comúnmente utilizados (sales dimetilaminas, tri-isopropanolaminas y de glifosato, atrazina y carbofuran) a diferentes concentraciones utilizando dos medios de cultivo: TY (Tryptona / Extracto de Levadura) y Bushnell Haas (FLUKA). Del medio TY se obtuvieron 13 aislados los cuales toleraron 0.05%, 1, 5 y 10% v/v de la concentración de los pesticidas en el medio de cultivo. Los aislados que toleraron 1% v/v de glifosato y sales dimetilaminas fueron identificados como *Bacillus*, *Microbacterium* y *Bordetella*, mientras que los que toleraron 5 y 10% v/v de sales tri-isopropanolaminas, atrazina y carbofuran en el medio de cultivo corresponden a los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas* y *Achromobacter*. Por otro lado, al utilizar el medio Bushnell Haas se obtuvieron 9 aislamientos que toleraron concentraciones de 0.05% y 0.5% v/v para el glifosato, 2.5% v/v para sales dimetilaminas, 5% v/v para atrazina y carbofuran. Estos corresponden a los géneros *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Achromobacter* y *Enterobacter*.

**Palabras clave:** contaminación, biodegradación, plaguicidas, glifosato, herbicidas, residuos agrícolas

## 1. INTRODUCCIÓN

Los pesticidas han sido usados durante décadas para el control de plagas y malezas en la agricultura alrededor del mundo. Sin embargo, la aplicación indiscriminada ha contribuido a los problemas de contaminación de suelo, agua y aire (Alfonso *et al.*, 2017). La aplicación del Glifosato se ha incrementado de 51.3 millones de kilogramos en 1995 a 747 millones de kilogramos en el 2014 derivado de la aprobación de los cultivos genéticamente modificados resistentes a herbicidas (Benbrook, 2016). La aplicación de Atrazina (2 cloro-4-(etilamina)-6-(isopropil amina)-s-triazina), ha aumentado a más de 3 millones de kilogramos en Estados Unidos mientras que en Europa está estrictamente prohibido (July, 2011). Las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos, el tiempo y la frecuencia de aplicación influyen en su biodisponibilidad y los residuos acumulados en el suelo. Debido a esta situación, algunos microorganismos han adquirido la capacidad de adaptarse a estos contaminantes y utilizarlos como fuente de carbono, nitrógeno, fósforo y sulfuro para su crecimiento y generación de energía (Ramakrishnan *et*

*al.*, 2019). Los fenotipos bacterianos como tolerancia o resistencia a pesticidas no están claramente definidos, sin embargo, es una cualidad que se podría tomar a favor de nuevas técnicas como es la biorremediación. Por lo anterior, el objetivo de nuestro trabajo fue aislar cepas bacterianas tolerantes a los pesticidas comúnmente utilizados en la zona Noreste de Tamaulipas.

## **2. MATERIALES Y METODOS**

El muestreo se llevó a cabo en zonas agrícolas de Rio Bravo Tamaulipas, en la primera de ellas se cultiva principalmente algodón, en la segunda se cultiva sorgo y la tercera se cultiva maíz para un total de tres muestras de diferente lugar. El método de recolección utilizado fue el de zig-zag trazando cinco puntos diferentes, tomándose un kilogramo de muestra de cada punto. Una vez obtenidas las muestras éstas fueron homogenizadas para obtener una muestra única.

### **2.1 Aislamiento**

Se resuspendió 1 g de suelo en 10 mL de solución salina (0.85% NaCl<sub>2</sub>), el cual se dejó reposar durante toda la noche para hidratar la muestra y activar bacterias en esporulación. Posteriormente, se tomaron 500 µl del sobrenadante y se adicionaron al medio líquido, para este caso se utilizaron los medios TY (Tryptona 5 g/L, Extracto de Levadura 3 g/L) y Bushnell Haas (FLUKA) los cuales fueron ajustados con diferentes concentraciones de pesticidas comerciales Banvel® 12-24 (sales dimetilaminas y tri-isopropanolaminas), Intertrazina (atrazina), Interfuran 350® (carbofuran) y Glifogan 480 (glifosato) al 10%, 5%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.12% y 0.05% respectivamente en ambos medios de cultivo (Obviedo y Diaz, 2017). Una vez inoculados, los matraces se incubaron a 30°C a 200 rpm hasta observar crecimiento. Posterior a esto se sembraron en medio TY sin pesticida para conocer la diversidad de los aislamientos y posteriormente purificados cada uno de ellos por estría cruzada.

### **2.2 Extracción de DNA genómico y amplificación del gen 16S rRNA**

Se utilizó el estuche comercial Wizard® Genomic, Promega para extraer el DNA de los aislados, esto de acuerdo a las condiciones del fabricante. La cuantificación del DNA se realizó en el equipo Nanodrop 2000 marca Thermo Scientific. Se corroboró la integridad del DNA mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Posteriormente, el gen 16S rRNA fue amplificado empleando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa usando los oligonucleótidos universales 27f (5'-GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG- 3') y 1495r (5'-CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA- 3') reportados por Grifoni *et al.*, 1995.

### **2.3 Purificación y secuenciación de los productos de PCR**

Los productos de PCR fueron purificados para la secuenciación, para ello se mezclaron 2 µl de producto de PCR y 1 µl de ExoSAP-IT (Cleveland, EUA) en un tubo de PCR. Posteriormente, se colocaron en el Termociclador utilizando un ciclo de temperatura a 37°C / 15 minutos y otro de 80°C / 15 minutos. Una vez finalizado este paso se tomó 1 µl de producto utilizando el primer 27f para realizar la reacción de secuenciación empleando el estuche comercial Byg-Dye Terminator (Applied Biosystems) de acuerdo a instrucciones establecidas por el fabricante. Finalmente, las muestras se purificaron mediante X-terminator para lo que fue necesario mezclar 25 µl de buffer SAM, 5 µl de X-terminator y 5 µl de la reacción de secuenciación anteriormente generada, incubándose a 25°C durante 30 minutos a 650 rpm. Por último, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 2 minutos, se tomaron 20 µl del sobrenadante y se transfirieron a un tubo nuevo. La secuenciación de los productos de amplificación se llevó a cabo por el método de Sanger en el equipo Applied Biosystems (ABI) modelo 3130.

## **2.4 Análisis de las secuencias**

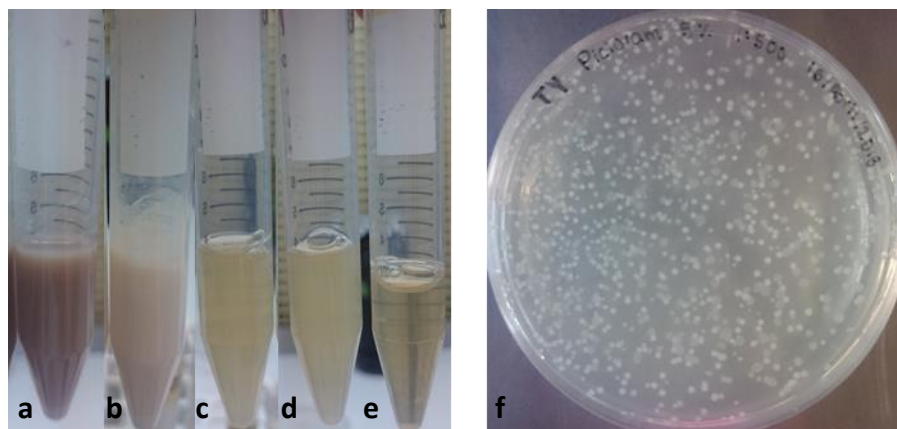
Las secuencias obtenidas oscilaron entre 780 y 800 pb. Se visualizó el electroferograma de cada una de ellas utilizando el programa ChromasPro para finalmente realizar el alineamiento. Las secuencias se guardaron en formato FASTA y se alinearon mediante la herramienta BLAST de la base de datos NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) mostrando los organismos relacionados y seleccionando aquellos con máxima identidad (99%) y cobertura (97-100%).

## **3. RESULTADOS**

### **3.1 Aislamiento**

Las muestras con crecimiento en medio líquido TY y Bushnell Haas se sembraron en medio sólido TY para conocer la diversidad de los aislamientos como se muestra en la Figura 1.

En total se aislaron 13 cepas morfológicamente diferentes en el medio TY y 9 cepas diferentes en el medio Bushnell Haas, las cuales fueron purificadas para la extracción de DNA. Las cepas purificadas crecidas en medio líquido fueron conservadas en glicerol.



**Fig. 1.** Crecimiento de bacterias en medio TY adicionado con los pesticidas: a) Carbofuran; b) Atrazina; c) Sales tri-isopropanolaminas; d) Glifosato; e) Sales dimetilaminas; f) Siembra en placa de medio TY para observar los aislamientos.

### 3.2 Extracción de DNA genómico y amplificación del gen 16s rRNA

Se logró obtener el DNA de los 22 aislados puros, los cuales se ajustaron a una concentración de 50 ng/μl y se utilizaron para la amplificación del gen 16s rRNA con un tamaño aproximado de 1500 pb.

### 3.3 Identificación de los géneros aislados

Se identificaron diversos géneros bacterianos en los medios de cultivo utilizados a diferentes concentraciones de pesticidas, en la Tabla 1 se enlistan los géneros aislados en medio TY y en la Tabla 2 los géneros aislados en medio Bushnell Hass adicionado con los pesticidas como fuente de carbono.

Como se puede observar las especies del género *Bacillus* fueron aisladas en su mayoría de medios de cultivo adicionados con sales dimetilaminas al 1%, para el caso de *Pseudomonas* se aislaron de medios de cultivo con sales tri-isopropanolaminas al 5% y *Achromobacter* fue aislada de medios de cultivo con atrazina y carbofuran al 10%.

**Tabla 1.** Géneros bacterianos aislados en el medio de cultivo rico TY a diferentes concentraciones de los pesticidas.

Aislado	Glifosato	Sales dimetilaminas	Sales tri-isopropanolaminas	Atrazina	Carbofuran
	1%	1 %	5%	10%	10%
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	-	-
<i>Bordetella sp.</i>	+	+	-	-	-
<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	-
<i>Bacillus sp</i>	-	+	-	-	-
<i>Microbacterium sp.</i>	-	+	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	-
<i>Pseudomonas resinovorans</i>	-	-	+	-	-
<i>Pseudomonas agglomerans</i>	-	-	+	-	-
<i>Stenotrophomonas pavanii</i>	-	-	-	+	-
<i>Achromobacter sp.</i>	-	-	-	+	+
<i>Enterobacter hormaechei</i>	-	-	-	-	+

**Tabla 2.** Géneros bacterianos aislados en medio Bushnell Haas a diferentes concentraciones de los pesticidas.

Aislado	Glifosato	Sales dimetilaminas	Sales tri-isopropanolaminas	Atrazina	Carbofuran
		0.5 %	2.5%	5%	5%
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	*	+	-	-	-
<i>Pseudomonas hibiscicola</i>	*	+	-	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	*	+	-	-	-
<i>Brevundimonas sp</i>	*	-	+	-	-
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	*	-	+	-	-
<i>Achromobacter sp</i>	*	-	-	+	-
<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	*	-	-	-	+
<i>Achromobacter mucicolens</i>	*	-	-	-	+

\*Sin crecimiento después de 24 h

Las especies del género *Pseudomonas* fueron aisladas en su mayoría en medios de cultivo adicionados con sales dimetilaminas al 0.5%, *Brevundimonas sp* y *Pseudomonas pseudoalcaligenes* se aislaron de medios de cultivo con sales triisopropanolaminas al 5%, *Achromobacter* fue aislada de medios de cultivo con atrazina al 5% mientras que *Enterobacter* y *Achromobacter* en carbofuran al 5%.

#### 4. DISCUSIÓN

En el presente estudio se aislaron bacterias con capacidad de tolerar concentraciones 1, 5 y 10% de los pesticidas en un medio rico (TY) y en un medio mínimo (Bushnell hass). Dichos géneros ya han sido reportados como microorganismos como degradadores de algunos compuestos tóxicos, tal es el caso del género *Achromobacter* (Xia *et al.*, 2017), *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Enterobacter sp* (Tan *et al.*, 2013), estos, se han encontrado en suelo, agua y flujo de residuos contaminados con glifosato siendo capaces de utilizar dicho contaminante como fuente de carbono (Zhan *et al.*, 2018; Ermakova *et al.*, 2017). De los géneros aislados en este trabajo, solamente los géneros identificados como *B. subtilis*, *Bordetella sp.* y *B. megaterium* mostraron tolerancia al 1% de este herbicida, sin embargo, no hubo crecimiento en el medio mínimo adicionado con este herbicida al 0.5% como única fuente de carbono.

Otro de los herbicidas más utilizados alrededor del mundo es el 3,6-dicloro-2-metoxibenzoico también conocido como sales dimetilaminas o dicamba. Éste, ha sido utilizado alrededor del mundo por su alta eficacia en la eliminación de más de 200 especies de maleza. El aumento en el uso de este herbicida ha suscitado preocupaciones con respecto a su mecanismo de disipación y degradación en el ambiente. Las cepas reportadas como degradadores de este contaminante son principalmente *S. maltophilia*, *Sphingomonas sp*, *Sphingobium* y *Moorella thermoacetica* (Yao *et al.*, 2016). En concordancia con lo reportado, en este estudio se aislaron tres cepas: *P. pseudoalcaligenes*, *P. hibiscicola* y *S. maltophilia* capaces de crecer en medio mínimo Bushnell Haas con 0.5% de dicamba como única fuente de carbono. Cabe mencionar que también se aislaron cepas del género *Bacillus sp.*, *Bordetella sp.*, y *Microbacterium sp.*, capaces de tolerar el contaminante al 1% en medio TY.

El ácido amino-3,5,6-tricloropiridina-2-carboxílico (sales tri isopropanolaminas) es un herbicida sistémico utilizado para controlar la maleza herbácea y las plantas leñosas con capacidad auxínica capaz de actuar sobre los mecanismos que regulan el crecimiento de las plantas, éste tiene la característica de unirse fuertemente a las partículas del suelo y no se degrada rápidamente en el ambiente, lo que le permite ser muy móvil y persistente, en el suelo su vida media varía de 20 a 300 días con un tiempo promedio de 90 días. Este herbicida no se descompone en el agua por lo que su vida media oscila entre 2 a 3 días y en la aplicación en el campo no se volatiliza fácilmente (Tu *et al.*, 2001). No existen reportes ligados al aislamiento de cepas tolerantes a este herbicida, por lo que es importante resaltar las cepas que se pudieron identificar tolerantes a un 5% del contaminante en medio TY como *P. resinovorans*, *P. agglomerans* y las que lo utilizaron como fuente de carbono a una concentración de 2.5% en medio Bushnell

Haas como lo son *Brevundimonas* sp. y *P. pseudoalcaligenes*.

Otro de los herbicidas estudiados es la atrazina, herbicida que ha sido utilizado por más de 30 países alrededor del mundo desde los años 50. Debido a su gran demanda se ha iniciado la búsqueda de microorganismos que ayuden a la biodegradación de este compuesto, algunos de los encontrados han sido *Shewanella* sp. (Ye *et al.*, 2016), *B. subtilis* (Wang *et al.*, 2014) y *Citrococcus* sp (Yang *et al.*, 2018) por mencionar algunas. En nuestros ensayos no detectamos la presencia de estos géneros, sin embargo, se logró aislar *S. pavanii* y *Achromobacter* sp., con capacidad de tolerancia hasta de un 10% de atrazina en medio TY y *Achromobacter* sp., en medio Bushnell Haas con 5% de contaminante. El carbofuran es un plaguicida (insecticida / nematicida) ampliamente utilizado para el control de plagas en cultivos como la papa, arroz, maíz, fresa, tabaco. La alta toxicidad de éste y de sus metabolitos tanto para humanos como para animales lo han convertido en un verdadero riesgo para la salud (Hmimou *et al.*, 2014). Para éste plaguicida también se han reportado algunos microorganismos con capacidad de degradación, entre algunos de los más importantes se pueden mencionar *Bacillus* sp. (Hamada *et al.*, 2015), *A. baumannii* (Abou-Shanab *et al.*, 2012), *Burkholderia* sp.(Castellanos-rozo *et al.*, 2016), *Rhizobium* sp.(Hashimoto *et al.*, 2002), *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp.(Hayatsu *et al.*, 1999), entre otras. Sin embargo, los aislamientos obtenidos del suelo contaminado analizado solamente se aisló el género *Achromobacter* sp. y *Enterobacter hormachei* en medio TY adicionado con 10% de contaminante. Mientras que en el medio Bushnell Haas se aislaron *Enterobacter xiangfangensis* y *Achromobacter mucicolens*.

Los resultados indican un elevado nivel de tolerancia de los géneros aislados, además que algunos de ellos tuvieron la capacidad de crecer en medio sin fuente de carbono lo que nos indica su posible capacidad para utilizar los plaguicidas como fuente alterna. Por lo cual es necesario realizar estudios encaminados a evaluar la capacidad de degradación de los pesticidas con algunos de estos géneros sobre todo los que toleraron un porcentaje de 5 y 10% de contaminante como *Pseudomonas* sp, *Stenotrophomonas* sp, *Achromobacter* sp y *Enterobacter* sp. así como los géneros capaces de utilizar los contaminantes como fuente de carbono en porcentajes como 2.5 y 5%, como *Brevundimonas* sp, *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp y *Enterobacter* sp.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento otorgado al Proyecto Multidisciplinario SIP20170052 / SIP20180052 y al Dr. Alberto Mendoza Herrera (in memoriam), fundador de la línea de investigación en el Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.



## REFERENCIAS

- Abou-Shanab R., Khalafallah M. A., Emam N. F., Aly M. A., Abou-Sdera S. A. & Matter I. A. 2012. Characterization and identification of carbofuran-utilizing bacteria isolated from agricultural soil. *Chemistry and Ecology*. 28(2): 193 -203.
- Lorenzo-Flores A., Giacomán V. G., Ponce C. M. C. & Ghozeisi H. 2017. Adsorption of organophosphorus pesticides in tropical soils: The case of karst landscape of northwestern Yucatan. *Chemosphere*. 166: 292–299.
- Benbrook C. M. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*. 28(3):1-15.
- Castellanos-Rozo J., Galvis J. & Carreño A. 2016. Biodegradación de carbofuran y carbaril por *Sphingomonas sp.*, S8-M3-13. 36(1): 45-52.
- Ermakova I. T., Shushkova T. V., Sviridov A. V., Zelenkova N. F., Vinokurova N. G., Baskunov B. P. & Leontievsky A. A. 2017. Organophosphonates utilization by soil strains of *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter sp.* *Archives of Microbiology*. 199(5): 665–675.
- Grifoni A., Bazzicalupo M., Di Serio C., Fancelli S. & Fani R. 1995. Identification of *Azospirillum* strains by restriction fragment length polymorphism of the 16S rDNA and of the histidine operon. *FEMS Microbiology Letters*. 127:85–91.
- Hamada M., Matar A. & Bashir A. 2015. Carbaryl degradation by bacterial isolates from a soil ecosystem of the Gaza strip. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46(4): 1087–1091.
- Hashimoto M., Fukui M., Hayano K. & Hayatsu M. 2002. Nucleotide sequence and genetic structure of a novel carbaryl hydrolase gene (*cehA*) from *Rhizobium sp.* strain AC100. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(3):1220–1227.
- Hayatsu M., Hirano M. & Nagata T. 1999. Involvement of two plasmids in the degradation of carbaryl by *Arthrobacter sp.* strain RC100. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(3):1015–1019.
- Hmimou A., Maslouhi A., Tamoh K. & Candela L. 2014. Experimental monitoring and numerical study of pesticide (carbofuran) transfer in an agricultural soil at a field site. *Comptes Rendus Geoscience*. 346: 255–261.
- Oviedo Z. & Diaz L. 2017. Atrazine-tolerant native microorganisms isolated from agricultural soils in the department of Cordoba, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 9:60-66

Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N. & Megharaj M. 2019. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance?. *Science of the Total Environment*. 654:177–189.

Tan L., Hu Q., Xiong X., Su X., Huang Y., Jiang Z., Zhou Q., Zhao S. & Zeng W. 2013. Isolation and characterization of a novel 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid-degrading *Enterobacter* sp. strain SE08. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 96:198–204.

Tu M., Hurd C. & Randall J. M. 2001. *Weed Control Methods Handbook : Tools & Techniques for Use in Natural Areas*. EUA. [https://www.researchgate.net/publication/42584094\\_Weed\\_Control\\_Methods\\_Handbook\\_Tools\\_Techniques\\_for\\_Use\\_in\\_Natural\\_Areas](https://www.researchgate.net/publication/42584094_Weed_Control_Methods_Handbook_Tools_Techniques_for_Use_in_Natural_Areas), (consultado Diciembre 12, 2018).

Wang J., Zhu L., Wang Q., Wang J. & Xie H. 2014. Isolation and characterization of atrazine mineralizing *Bacillus subtilis* strain HB-6. *PLoS ONE*. 9(9):1–9.

Xia Z. Y., Zhang L., Zhao Y., Yan X., Li S. P., Gu T. & Jiang J. D. 2017. Biodegradation of the Herbicide 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid by a New Isolated Strain of *Achromobacter* sp. LZ35. *Current Microbiology*. 74(2):193–202.

Yang X., Wei H., Zhu C. & Geng B. 2018. Biodegradation of atrazine by the novel *Citricoccus* sp. strain TT3. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147: 144–150.

Yao L., Yu L., Zhang J., Xie X., Tao Q., Yan X., Hong Q., Qiu J., He J. & Ding, D. 2016. A Tetrahydrofolate-Dependent Methyltransferase Catalyzing the Demethylation of Dicamba in *Sphingomonas* sp. Strain Ndbn-20. *Applied and Environmental Microbiology*. 82(18): 5621–5630.

Ye J. Y., Zhang J. B., Gao J. G., Li H. T., Liang D. & Liu R. M. 2016. Isolation and characterization of atrazine-degrading strain *Shewanella* sp. YJY4 from cornfield soil. *Letters in Applied Microbiology*. 63:45–52.

Zhan H., Feng Y., Fan X. & Chen S. 2018. Recent advances in glyphosate biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102(12):5033–5043.