

微生物降解农药的研究进展

刘建亲, 花日茂* (安徽农业大学资源与环境学院, 安徽合肥 230036)

摘要 利用微生物降解土壤中残留的农药是一种非常有效的方法。从降解农药的微生物种类、降解机理、影响因素等方面对微生物降解农药的研究进行了综述, 并且对今后微生物降解农药的应用前景和研究趋势进行了展望。

关键词 农药; 微生物; 降解

中图分类号 X592 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)24-10663-02

Research Progress of Pesticides Degradation by Microorganism

LIU Jian-qin et al (School of Resources and Environment, Anhui Agriculture University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract The degradation of pesticides in soil by microorganism was an effective method. The types of microorganism which degraded pesticides, the mechanism of degradation, the influencing factors and so on were introduced. The application and research prospect of microorganism were put forward.

Key words Pesticides; Microorganism; Degradation

我国是个农业大国, 农药尤其是化学农药的使用, 依然是目前保证粮食作物增产的有效手段。化学农药主要是人工合成的生物外源性物质。很多农药本身对人类及其他生物具有毒性, 而且很多类型是不易被生物降解的顽固性化合物。在使用农药防治病虫害的同时, 常产生粮食、蔬菜、瓜果等农产品中农药残留超标问题, 给非靶生物带来伤害。农药中毒事件及职业性中毒病例逐年增加^[1-2]。同时, 农药厂排出的污水和施入农田的农药等也对环境造成污染, 破坏了生态平衡, 影响了农业的可持续发展, 威胁着人类的身心健康。农药不合理的大量使用, 给人类及生态环境造成越来越严重的后果。农药污染问题已成为全球关注的热点。因此, 加强农药的降解研究、解决农药对环境、食物的污染问题, 是人类当前迫切需要解决的课题。

生物修复(Bioremediation)是指利用微生物或其他生物将存在于土壤、地下水和海洋中的有毒、有害污染物降解为二氧化碳和水或转化为无害物质的系统, 与物理化学方法相比, 被公认为是一种有效、安全、廉价和无二次污染的方法^[3]。1991年3月, 第1届原位生物修复国际会议在美国圣地亚哥召开, 出版了in situ Bioremediation 和on site Bioremediation 2本论文集。这标志着以生物修复为核心的环境生物技术进入了一个全新的发展时期。生物修复的两大主体是微生物和植物, 而微生物以其代谢方式丰富多样、底物范围广等优点成为生物修复技术中的主力军^[4]。另外, 少部分利用植物作为环境污染控制的生物。

1 降解农药的微生物种类

农药的微生物降解研究从最早的有机氯农药 DDT 开始, 已有几十年的历史。世界各国的科研工作者分离筛选了大量的降解性微生物^[5]。国内的科研工作者也在这方面做了大量工作^[6]。我国有关农药生物修复的研究主要集中在有机磷化合物的降解方面。而国外近年来因大量使用除草剂, 环境污染问题也随之产生。因此, 可降解除草剂的微生物分离和利用成为国外近期研究的热点。目前已报道的能

降解农药的微生物包含细菌、真菌、放线菌、藻类等, 大多数来自于土壤微生物类群(表1)^[7]。细菌由于生化上的多种适用能力以及易诱发突变等特性而占主要地位。其中, 假单胞菌属菌株是最活跃的菌株, 对多种农药等化合物有分解作用, 其模式菌株 putida KI2440 全基因组序列测序已经完成^[4]。

2 微生物降解农药的机理

目前, 对于微生物降解农药的研究主要集中于细菌。细菌降解农药的本质是酶促反应^[8-9], 即化合物通过一定的方式进入细菌体内, 然后在各种酶的作用下, 经过一系列的生理生化反应, 最终将农药完全降解或分解成分子量较小的无毒或毒性较小的化合物的过程。常见的降解酶类主要有: 水解酶类, 包括磷酸酶、对硫磷水解酶、酯酶、硫基酰胺酶、裂解酶等; 氧化还原酶类, 包括过氧化物酶和多酚氧化酶(酪氨酸酶、漆酶)。由于降解酶往往比产生该类酶的微生物菌体更能忍受异常环境条件, 酶的降解效率远高于微生物本身, 特别是对低浓度的农药。此外, 酶的固定化技术可以使酶更加稳定。降解酶的性质及其制剂化或固定化技术已是研究的重点之一。对降解酶的制剂化及其在土壤中的应用技术也有一定的研究^[10]。

2.1 微生物在农药转化中的作用^[11]

2.1.1 矿化作用。有许多化学农药是天然化合物的类似物, 可以作为微生物的营养源而被微生物分解利用, 生成无机物、二氧化碳和水。矿化作用是最理想的降解方式。这是因为农药被完全降解成无毒的无机物。石利利等研究了假单胞菌 DLL-1 在水溶液介质中降解甲基对硫磷的性能及降解机理后指出, DLL-1 菌可以将甲基对硫磷完全降解为 NO_2^- 和 NO_3^- ^[12]。

2.1.2 共代谢作用。有些合成的化合物不能被微生物降解, 但若有另一种可供碳源和能源的辅助基质存在时, 它们则可被部分降解, 这个作用称为共代谢作用。这一作用最初是由 Foster 等提出的^[10]。门多萨假单胞菌 DR-8 菌株降解甲单脒产物为 2,4-二甲基苯胺和 NH_3 , 而 DR-8 菌株不能以甲单脒为碳源、能源而生长, 只能在添加其他有机营养基质作为碳源的情况下才能降解甲单脒, 且降解产物未完全矿化, 属于共代谢作用类型^[11]。关于共代谢的机理, 目前还存在争论。由于共代谢作用而推动的顽固性人工合成化合物的降

基金项目 国家 863 项目(2007AA102403); 安徽省十一五科技攻关项目(08010302166)。

作者简介 刘建亲(1983-), 男, 安徽广德人, 硕士研究生, 研究方向: 农药残留与环境毒理学。* 通讯作者。

收稿日期 2008-06-10

解一般进行得较慢,而且降解程度有限,参与共代谢作用的微生物不能从中获得碳源和能源,但是自然界中广泛存在大量的具有共代谢功能的微生物,它们可以降解多种类型的化合物。共代谢作用在农药的微生物降解过程中发挥着主要的作用^[1, 13]。

2.2 微生物降解农药的生化反应 微生物降解农药的主要生化反应有4种^[14-15]。氧化反应。氧化是微生物降解农药的重要酶促反应,有多种形式。氧化反应包括:羟化反应(芳香族羟化、脂肪族羟化、N羟化);环氧化;N氧化;S氧化;氧化性脱烷基、脱卤、脱胺基、B氧化、脱羧基、醚键开裂。还原反应。某些农药在厌氧条件下发生还原作用,包括硝基

还原、还原性脱卤、醌类还原等,如在厌氧条件下氟乐灵中硝基被还原为胺基。水解反应。一些酯、酰胺和硫酸酯类农药都有可被微生物水解的酯键,如对硫磷、苯胺类除草剂等。

缩合和共轭形成。缩合包括将有毒分子或一部分与另一有机化合物相结合,使农药或其衍生物失去活性。

微生物降解农药时,其体内并不只是进行单一的反应,多数情况下是多个反应协同作用来完成对农药的降解过程。如,好氧条件下卤代芳烃的生物降解,其卤素取代基的去除主要通过2个途径发生:在降解初期通过还原、水解或氧化去除卤素;产生芳香结构产物后通过自发水解脱卤或消去卤化烃^[2]。

表1 常见农药的降解微生物

Table 1 Degraded microorganism of common pesticides

序号 No.	农药 Pesticide	降解微生物 Degraded microorganism
1	甲胺磷	芽孢杆菌、曲霉、青霉、假单胞杆菌、瓶型酵母
2	阿特拉津(AT)	烟曲霉、焦曲霉、葡枝根霉、串珠镰刀菌、粉红色镰刀菌、尖孢镰刀菌、斜卧镰刀菌、微紫青霉、皱褶青霉、平滑青霉、白腐真菌、菌根真菌、假单胞菌、红球菌、诺卡氏菌
3	灭幼脲3号	青霉、芽枝霉、毛霉、曲霉
4	敌杀死	产碱杆菌
5	2,4-D	假单胞菌、无色杆菌、节杆菌、棒状杆菌、黄杆菌、生孢食纤维菌属、链霉菌属、曲霉菌、诺卡氏菌、
6	DDT	无色杆菌、气杆菌、芽孢杆菌、梭状芽孢杆菌、埃希氏菌、假单胞菌、变形杆菌、链球菌、无色杆菌、黄单胞菌、欧文氏菌、巴斯德梭菌、根癌土壤杆菌、产气气杆菌、镰孢霉菌、诺卡氏菌、绿色木霉等
7	六六六	白腐真菌、梭状芽孢杆菌、埃希氏菌、大肠杆菌、生孢梭菌等
8	对硫磷	大肠杆菌、芽孢杆菌、假单胞菌、黄杆菌、产碱菌、短杆菌、固氮极毛杆菌
9	甲基对硫磷	假单胞菌、产碱菌、芽孢杆菌、黄杆菌、短杆菌、木霉菌、链格孢菌
10	水胺硫磷	黄杆菌
11	马拉硫磷	假单胞菌、节细菌、黄杆菌、极瘤细菌、木霉菌
12	毒死蜱	黄杆菌、固氮极毛杆菌、红球菌
13	七氯	芽孢杆菌、镰孢霉菌、小单孢菌、诺卡氏菌、曲霉菌、根霉菌、链球菌
14	敌百虫	曲霉菌、镰孢霉菌
15	敌敌畏	假单胞菌
16	狄氏剂	芽孢杆菌、假单胞菌
17	艾氏剂	镰孢霉菌、青霉菌
18	乐果	假单胞菌
19	2,4,5-T	无色杆菌、枝动杆菌

3 微生物降解农药的影响因素

了解影响农药微生物降解的因素,将有利于利用可降解农药的微生物资源,因时因地制宜,创造有利条件,充分发挥降解菌的降解效能。影响农药微生物降解的因素主要有3个。被降解农药的种类和浓度。任何一种微生物都有其特定的降解谱。到目前为止,还没有发现可以降解所有农药的微生物。一般而言,农药生物修复的难易程度与农药的化学结构密切相关。结构简单的农药较易降解,结构复杂的则较难降解;分子量小的农药比分子量大的农药较易降解;难溶于水的农药比易溶于水的农药难降解。有研究表明,降解菌对拟除虫菊酯和一硫代磷酸酯杀虫剂的降解速率的差异主要是由各化合物的疏水性参数引起的。农药浓度对微生物降解农药的影响也很大。太高浓度的农药往往对降解菌有抑制作用,而太低的农药浓度则难以提供微生物足够的营养而使生物降解无法进行^[15]。微生物群体的活性。特定的农药只能由特定的微生物降解。同时,微生物的空间分布、群体密度与其他微生物的相互作用等均决定了微生物的降解效率^[6]。环境因子。环境因子对农药生物修复的影

响是巨大的。这些因子包括温度、湿度、酸碱度、养分含量、金属浓度等。这些因子的影响有时甚至决定了农药生物修复的成功与否^[16]。

4 微生物降解农药的应用前景和研究趋势

农药污染的微生物修复近年来受到国内外专家学者的普遍关注。鉴于土壤污染的严重危害及资源的有限性,世界各国都重视土壤修复技术的研究。荷兰、日本、德国、美国先后投入大量的资金用于土壤污染的恢复研究和应用。德国在1995年用于净化土壤的投资约60亿美元,美国20世纪90年代用于土壤修复的投资额超过百亿美元。在我国,环境问题已被提到重要的议程,首先在法律政策方面逐渐缩小与发达国家的差距。国家环保总局(SEPA)从1998年起就开始致力于有关环境保护法律法规的制定,针对环境污染制定污染预防和削减手册^[17]。在技术层面,我国的环境生物修复技术还处于起步阶段,与发达国家还存在一定的差距。目前,在其他污染物如石油污染的生物降解等领域的实际操作已取得突破性进展^[18],可作为农药污染生物修复的借鉴。分

(下转第10667页)

光催化氧化去除COD_G的效果与UV/Fenton反应体系中的光氧化处理效果相当,因为Fenton试剂是亚铁离子和H₂O₂的组合,H₂O₂是强氧化剂,而Fe²⁺是催化剂,它能催化分解H₂O₂产生的自由基(·OH)等强氧化剂,因此UV/Fenton的光氧化反应也有较好的处理效果。

表2 垃圾渗滤液降解的 $-\ln(C_t/C_0)-t$ 的回归分析结果

Table 2 $-\ln(C_t/C_0)-t$ regression analysis of the landfill leachate degradation

处理方法 Treatment method	动力学方程 Kinetics equation	反应速率 常数 K min Reaction rate constant	相关系数 R Correlation coefficient	T _{半衰期} min T _{half-life}
O ₃	$C_t = C_0 e^{-0.0045t}$	0.004 5	0.98	154.0
UV/O ₃	$C_t = C_0 e^{-0.0068t}$	0.006 8	0.98	102.0
UV/TiO ₂	$C_t = C_0 e^{-0.0164t}$	0.016 4	0.99	42.3
UV/TiO ₂ /O ₃	$C_t = C_0 e^{-0.0201t}$	0.020 1	0.99	34.5
UV/Fenton	$C_t = C_0 e^{-0.0131t}$	0.013 1	0.99	52.9

3 结论

(1) 负载TiO₂光催化氧化技术用于垃圾填埋场渗滤液的深度处理是可行的,可氧化一般生物处理难于降解的有机污染物。

(2) 光催化氧化降解垃圾渗滤液的影响因素为反应时间、溶液的初始浓度、溶液初始pH值等。动力学研究结果表

(上接第10664页)

子生物学的发展、农药降解菌酶固化技术也为农药污染生物修复的实际应用提供了可能。在各种消除农药污染的措施中,微生物修复虽然受农药种类、环境条件等因素的制约,但因其高效、安全、成本低、无二次污染等最具有发展前景。随着研究的进一步深入,对农药微生物修复技术规律的逐渐掌握,农药生物修复将会有更加广阔的发展空间,在农药环境污染的治理中发挥更大的作用。

在今后一段时间内,微生物修复技术研究可在以下领域进一步展开:环境微生物种资源资源和基因资源的收集与保护;高分子有机污染物降解过程中的共代谢机理;代谢工程与生物修复相结合,解决难降解污染物的生物降解问题;研究微生物在生态系统中组成的相互关系;污染环境中的降解性微生物分子生态研究;增强微生物降解性能的其他属性研究;土壤宏基因文库中降解性功能基因的筛选;通过遗传工程,构建高效降解的微生物菌株;生物降解潜力的指标与生物修复水平的评价;生物修复与理化方法结合的综合技术的研究;①污染物的资源化及生物修复的产业化等^[4]。这些问题的解决,必将推动农药微生物降解的研究进入更高领域,促进农药残留降解菌剂的广泛应用,解决好环境中的农药污染问题。

参考文献

[1] 王保军,刘志培,杨慧芳.甲单脒农药的微生物降解代谢研究[J].环境科学学报,1998,18(3):298-302.

明,COD_G的去除率对COD_G的浓度为一级反应,反应速率方程为: $C_t = C_0 e^{-0.0238t}$ (ng/L)(初始COD_G为472.7 ng/L)。

(3) 综合O₃、UV/O₃、UV/TiO₂、UV/TiO₂/O₃和UV/Fenton 5种方法处理生化液的试验结果可知,5种方法去除COD_G的反应速率常数K为K_{UV/TiO₂/O₃} > K_{UV/TiO₂} > K_{UV/Fenton} > K_{UV/O₃} > K_{O₃},处理效果最好的是UV/TiO₂/O₃,其次是UV/TiO₂,这说明TiO₂膜具有很好的光催化氧化效果,O₃对光催化氧化反应具有协同作用。

参考文献

[1] 席北斗,刘鸿亮.钛酸四丁酯水解制备TiO₂半导体光催化剂研究[J].环境科学学报,2001,21(2):144-147.
 [2] 尹晓敏,程永清.纳米TiO₂光催化剂在废水处理中的应用研究[J].纳米材料与应用,2006,2(3):10-14.
 [3] 贺飞,唐怀军,赵文宽,等.纳米TiO₂光催化剂负载技术研究[J].环境污染治理技术与设备,2001,2(2):47-58.
 [4] 银董红,邓吨英,陈恩伟,等.溶胶-凝胶法制备TiO₂薄膜的研究进展[J].工业催化,2004,12(1):1-6.
 [5] 弓晓峰,樊华,孔新红.紫外光氧化法处理垃圾渗滤液的研究[J].环境保护,2003(3):15-17.
 [6] 弓晓峰,简敏菲,刘春英.玻璃纤维布负载TiO₂膜光催化氧化垃圾渗滤液[J].重庆环境科学,2003,25(11):56-57,76.
 [7] 刘春英,弓晓峰.玻璃负载TiO₂膜光催化降解垃圾渗滤液的研究[J].生态科学,2006,25(4):363-366.
 [8] 廖建萍,于珊.微波密封消解COD速测仪的应用及探讨[J].中国公共卫生,2001,17(5):444-445.
 [9] PRASHANT V K. Photochemistry on nonreactive and reactive(semiconductor) surfaces[J]. Chem Rev, 1993, 93:267-300.

[2] 陈坚.环境生物技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999:279-319.
 [3] ALEXANDER M. Biodegradation of chemical of environmental concern[J]. Science, 1981, 211:132-138.
 [4] 李顺鹏,蒋建东.农药污染土壤的微生物修复研究进展[J].土壤,2004,36(6):577-583.
 [5] CHEN W, MURCHANDAN A. The use of live biocatalysts for pesticide detoxification[J]. Trends in Biotechnology, 1998, 16(2):71-76.
 [6] 尤民生,刘新.农药污染的生物降解与生物修复[J].生态学杂志,2004,23(1):73-77.
 [7] 郑金来,李君文,晁福寰.常见农药降解微生物研究进展及展望[J].环境科学研究,2001,14(2):62-64.
 [8] SABAT J, GRIFCOL M, VIN M, et al. Isolation and characterization of a 2-naphthylphenanthrene utilizing bacterium: Identification of ring cleavage metabolites[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52:704-712.
 [9] 阮少江,刘洁,王银善,等.微生物酶催化甲胺磷降解机理初探[J].武汉大学学报,自然科学版,2000,46(4):471-474.
 [10] 朱福兴,王沫,李建洪.降解农药的微生物[J].微生物学通报,2004,31(5):120-123.
 [11] 王伟东,牛俊玲,崔宗均.农药的微生物降解综述[J].黑龙江八一农垦大学学报,2005,17(2):18-22.
 [12] 石利利,林玉锁,徐亦钢,等.DLL-1菌对甲基对硫磷农药的降解作用及其降解机理[J].农村生态环境,2002,18(3):26-29.
 [13] 沈东升,徐向阳,冯孝善.微生物共代谢在氯代有机物生物降解中的作用[J].环境科学,1994,15(4):84-87.
 [14] 权桂芝.土壤的农药污染及修复技术[J].天津农业科学,2007,13(1):35-38.
 [15] 朱南文,胡茂林,高延耀.甲胺磷对土壤微生物活性的影响[J].农业环境保护,1999,18(1):4-7.
 [16] 方玲.降解有机氯农药的微生物菌株分离筛选及其应用效果[J].应用生态学报,2000,11(2):249-252.
 [17] 郭萍,蒋细良,田云龙,等.农业立体污染与生物修复技术进展[J].现代化工,2006,26(4):19-23.
 [18] 丁克强,骆永明.生物修复石油污染土壤[J].土壤,2001,34(4):179-184.