

# 农药残留降解方法研究进展

陈少华, 罗建军, 林庆胜, 胡美英\* (华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东广州510642)

**摘要** 农药的使用对农业的发展发挥着重大作用, 但同时也造成严重的农产品污染和环境污染。对农药残留降解方法进行了综述, 重点介绍了超声波技术、吸附、洗涤和辐照等物理方法, 水解、氧化分解和光化学降解等化学方法, 微生物、降解酶和工程菌等生物方法对农药残留的降解作用。

**关键词** 农药残留; 降解; 研究进展

中图分类号 S481+.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)01-00343-03

## Advancements on Methods of Pesticide Residues Degradation

CHEN Shao-hua et al (Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

**Abstract** This study aims to summarize the methods of degrading pesticide residues and respectively introduces the physical methods such as ultrasonic wave, adsorption, clearing and irradiation; chemical methods such as hydrolysis, oxygenolysis and photochemical degradation; and biological methods such as microorganisms, catabolic enzymes and engineering bacteria because pesticides have caused serious pollution on agricultural products and environment although they have played an important role in the development of agriculture.

**Key words** Pesticide residues; Degradation; Research progress

农药残留长期的积聚, 造成农产品污染和环境污染, 直接或间接地损害人体健康<sup>[1]</sup>。近年来随着人们生活水平的提高, 人们对食品安全问题及环境生态日益重视, 如何降解农产品和环境中的农药残留已成为世界各国的研究热点。目前国内外农药残留降解方法主要有超声波技术、吸附、洗涤和电离辐射等物理方法, 水解、氧化分解和光化学降解等化学方法, 微生物、降解酶和工程菌等生物降解方法, 相关研究取得了相当大的进展。笔者综述了环境和农产品农药残留降解的研究现状和进展, 旨在为开发农药残留控制新技术提供参考。

## 1 物理方法

**1.1 超声波法** 超声降解法主要应用于农药废水处理, 其原理是在超声波的作用下液体产生空化作用从而降解废水中的农药分子<sup>[2-5]</sup>, 目前技术比较成熟, 国外已开始实践应用于农药废水处理。如很多含氯有机物在温和的超声波条件下即可发生分解或转化<sup>[6]</sup>。用声强75 W/cm<sup>2</sup>、频率20 kHz的超声降解pH 6.0、浓度82 μmol/L的对硫磷溶液, 经30~120 min 超声辐照, 硫磷可被完全降解<sup>[7]</sup>; 20 kHz, 75 W 超声波辐射30 min, 82 μmol/L 马拉磷溶液pH 值从6 下降到4, 2 h 内全部降解, 产物均为无机小分子<sup>[8]</sup>。超声降解氧乐果农药废水时, 30 min 内氧乐果降解率在96%以上, 且在20~70 ℃时, 温度对氧乐果降解率影响不大<sup>[9]</sup>。

**1.2 吸附法** 吸附法降解农药是一个物理过程, 主要是通过一些具有吸附性的物质或生物吸附减少农产品和环境中的残留农药, 如添加15%活性炭, 吸附1 min, 使用厚度为4 mm 硅藻土助滤, 可以使果汁中的甲胺磷残留量达到很低的水平。树脂对农药残留也有吸附作用, 如XAD-16 型树脂对甲胺磷吸附量可达99 ng/g<sup>[10]</sup>。不少细菌和真菌由于细胞壁可吸附农药, 从而降低农药残留的研究也屡见报道, 如二农和林丹的生物吸附过程是一个热力学过程而不是化学过程。经热处理的米根霉菌(*Roryzae*) 可去除极低浓度的林丹, 其吸

附机制是氢离子作为配位体把带负电荷的林丹分子和同样带负电荷的真菌细胞壁进行物理连接<sup>[11]</sup>。短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) 可吸附农药1, 2, 3, 4-四氯二苯p-二氧苄和一些聚氯二苯呋, 而且死亡菌体的吸附能力似乎更大<sup>[12]</sup>。

**1.3 洗涤法** 对水溶性农药, 农产品经清水浸泡后农药残留量将大大减少; 对亲脂性农药用清水洗涤降解率低, 加入一定量的洗涤剂, 可增加农药在水中的溶出量, 从而使降解效果更佳。不同表面清洗剂处理多环芳烃污染土壤, 可大大减少土壤中污染物的残留量<sup>[13]</sup>。用0.1%液体洗涤剂处理南瓜和黄瓜, 南瓜的狄氏剂和七氯农药残留降解率8%~52%, 黄瓜的狄氏剂和七氯农药残留降解率为19%~67%<sup>[14]</sup>。

**1.4 辐照法** 电离辐照处理技术属冷处理技术, 不添加任何化学药剂, 无任何残留物, 是一种物理去除方法, 同时可起到杀菌效果, 且节约能源。如经<sup>60</sup>Co-射线对不同农产品进行辐射, 照射量为15~20 kGy 时, 溴氰菊酯去除率达85%; 照射量为5~10 kGy 时, 甲基对硫磷去除率达30%<sup>[15]</sup>。

## 2 化学方法

**2.1 水解** 大多数农药的稳定性与溶液的pH 值有关。如绝大多数有机磷农药偏酸性, 在碱性水溶液中极不稳定, 在水解酶作用下易水解。如氰戊菊酯在碱性溶液中降解快, 在酸性及中性溶液中降解较慢; 三唑磷农药在碱性条件下的水解速率明显大于中性及酸性条件, 而高温(70 ℃) 条件下的水解速率远大于室温(25 ℃)<sup>[16]</sup>。矾、硝等碱性物质及其他植物源活性物质如皂素等也可用于促进残留农药的水解<sup>[17]</sup>。

**2.2 氧化分解** 臭氧具有强氧化性, 可与蔬菜、水果中残留的有机磷或氨基甲酸酯类农药发生反应, 生成相应的酸、醇、胺或其氧化物等水溶性物质, 可用水清洗加以去除, 反应后多余的臭氧分解为氧气, 用臭氧降解农产品农药残留是安全可行的。臭氧处理苹果表面和苹果汁中的谷硫磷、盐酸抗螨脒和克菌丹, 降解率为29%~42%<sup>[18]</sup>。用浓度为3 ng/L 的臭氧水降解苹果上的代森锰锌, 作用30 min 后, 残留量仅为3%<sup>[19]</sup>。长15.0 cm、直径2.5 cm、湿度为5%的氟乐灵土壤柱在浓度为0.6%、流速为200 ml/min 的臭氧中, 处理30 min 后, 可降解70%~97%的农药<sup>[20]</sup>。

基金项目 广东省自然科学基金项目(05006634); 国家自然科学基金项目(30871660)。

作者简介 陈少华(1984-), 男, 广西浦北人, 硕士研究生, 研究方向: 天然源农药。\* 通讯作者, 教授, E-mail: hmy@scau.edu.cn。

收稿日期 2008-10-16

双氧水是另一类常用的农药残留氧化分解剂之一,其突出的优点就是反应活性强,生成 $H_2O$ 和 $O_2$ ,不产生二次污染,降解物无毒,对农产品和环境比较安全,过量使用也不会引发污染问题,被称为“最清洁”的化学品,是目前解决农药残留的重要途径,常被应用于残留农药的降解,尤其是对有机磷农药降解作用更加明显,较不加双氧水的处理降解率可提高5~13倍<sup>[21]</sup>。

**2.3 光化学降解** 光化学降解也称光催化降解,主要原理是通过催化剂作用,有机分子中某一个化学键的键能小于其吸收的光子能量后,反应物分子便进入激发态。激发态分子通过化学反应,消耗能量返回基态引起分子的化学键断裂,生成相应的自由基或离子,如 $RO_2$ 、 $\cdot RO_2$ 、 $OH$ ,极高反应活性的自由基将有机物氧化分解。如玫瑰红、二苯甲酮对氰戊菊脂具有光敏作用<sup>[22]</sup>,甲基蓝、玫瑰红、核黄素能加快特草定的光化学降解<sup>[23]</sup>。乙拌磷、丙胺磷、氯唑磷和溴丙磷等有机磷农药光化学降解的产物和动力学方程已经明确<sup>[24-25]</sup>。

### 3 生物降解

生物降解是指通过生物(包括各种微生物、植物和动物)的作用将大分子分解成小分子化合物的过程。化学农药的生物降解主要是通过微生物、降解酶、工程菌来进行。采用生物降解残留农药是治理农药污染的新途径。近年来对异生物质生物降解的深入研究为生物修复不良环境提供了可能<sup>[26]</sup>。

**3.1 微生物降解** 微生物降解农药的作用机理,主要是通过其分泌酶的代谢来完成,本质都是酶促降解,主要途径有氧化、还原、水解、环裂解、缩合、脱卤、脱羧、甲基化等。降解农药残留的微生物种类主要有细菌、真菌、放线菌、藻类等。*Pseudomonas sp.*和*Alcaligenes sp.*是降解2,4-D的主要土壤微生物<sup>[27]</sup>。杂色革盖菌(*Cariolus versicolor*)、毛韧革菌(*Stereum hirsutum*) 在42 d后对敌草隆、莠去津和特丁津的降解率在86%以上<sup>[28]</sup>。DaSilva等在Nature报道了来自*Xanthomonas axonopodis* pv. Gtri str 306的甲基对硫磷降解酶的信号肽结构序列以后<sup>[29]</sup>,更加掀起了人们对农药残留降解菌的研究热潮。微生物固定化技术是农药微生物降解迈向实践应用的重要环节,它是通过采用化学或物理的手段将游离细胞或酶定位于限定的空间区域内,使其保持活性并可重复利用,目前常用的固定化载体是海藻酸钠、海藻酸钙等,如用海藻酸钠固定产碱杆菌、阴沟肠杆菌,可将DDT还原为DDD,并将DDT的分解产物DDM氧化分解,从而达到完全降解DDT的目的;用海藻酸钙凝胶将产碱菌属(*Alcaligenes sp.* YF11)菌中提取的降解酶进行固定化,并制成了固定化酶反应器,为降解酶投入实际生物修复应用奠定了基础<sup>[30]</sup>。

**3.2 降解酶** 共生或单一微生物对农药的降解作用都是在酶参与下完成的,降解酶往往比产生这类酶的微生物菌体更能忍受异常环境条件,而且酶的降解效果远胜于微生物本身,尤其是在残留农药浓度低的情况下。如有机磷农药降解酶比产生这类酶的微生物菌体更能忍受异常环境条件,如来源于假单胞菌的降解酶在10%无机盐、1%有机溶剂、50℃下都能保持高活性,而该酶的产生菌在同样的条件下却不能生长<sup>[31]</sup>。到目前为止,从微生物中分离提取的农药降解酶多

为有机磷农药降解酶,其中最大的种类为水解酶,如对硫磷水解酶、有机磷酸脱水酶(*organophosphorus acid anhydrase*, OPAA)、B5水解酶、磷酸三酯酶、乙基对硫磷水解酶(*organophosphate hydrolase*, OPH)等。Milby等首次从以荧光假单胞菌为主的混合菌中成功分离提纯了对硫磷降解酶<sup>[32]</sup>。Munnecke从混合菌(*Fluorescent, Pseudomonas, Brevibacterium, Azotomonas, Xanthomonas*)提取了对硫磷水解酶,22℃水解对硫磷的速率比化学水解(0.1 ml/L NaOH, 40℃)快2450倍,对其他7种有机磷酸酯类杀虫剂(甲基对硫磷、二嗪农、毒死蜱、三唑磷、杀螟松、杀螟腈、对氧磷)的水解比化学水解快40~100倍,且该酶不为农药及农药制剂中的溶剂所抑制<sup>[33-34]</sup>。Horne等用香豆磷和蝇毒磷作为磷源,分离到菌株*P. montelli* C11,从中鉴定出另一种酶*hydrolysis of coroxon* (HbcA),该酶对有机磷酸酯和硫酯有广泛的底物专一性,是一种新型的磷酸三酯酶<sup>[35]</sup>。Richard等构建了与纤维素结合区融合的OPH,利用融合蛋白一步纯化并固定于纤维素类基质上的特性,将酶方便使用<sup>[36]</sup>。近年来对其他农药降解酶的研究报道逐渐增加,如杀灭菊酯降解细菌酶等<sup>[37]</sup>。

**3.3 工程菌** 近年来随着分子生物学及基因工程的发展,农药降解酶基因工程的研究也取得了一定的进展。Pohlentz等报道了氨基甲酸苯酯类除草剂的降解酶及其酶基因,并测定了酶基因序列<sup>[38]</sup>。Eaton等将从三聚氰酸二酰胺( $(CN)_3(NH)_2OH$ )转化成 $NH_2C(O)-N(C(O)NH_2)$ 的*Pseudomonas A*克隆了相应的3种酶基因<sup>[39-40]</sup>。Catherine等构建的带有有机磷水解酶基因的工程大肠杆菌,能够快速降解有机磷农药<sup>[41]</sup>。从*Flavobacterium sp.* ATCC27551、*Pseudomonas diminuta* MG中分离获得了对硫磷水解酶*opd*基因和*adpB*基因,构建高效工程菌,利用工程菌降解酶处理农产品对硫磷残留,降解效能高达90%<sup>[42-43]</sup>。Liu等把含有甲基对硫磷水解酶编码基因*mpd*和假单胞菌*P. putida* DLL1的同源调节基因DNA片断克隆到广泛宿主pBBR1MCS2上,将得到的重组质粒pBBR-*mpd*导入味丹降解菌CDS1,构建出基因工程菌CDS-pBBR-*mpd*,该菌种对甲基对硫磷的降解能力较*P. putida* DLL1提高了6.75倍<sup>[44]</sup>。Lan等通过在载体pETDuel中同时表达有机磷水解酶OPH基因*opd*和酯酶Bl基因*b1*,构建了一株能够同时降解有机磷农药、氨基甲酸酯类农药以及拟除虫菊酯类农药的基因工程菌<sup>[45]</sup>。

### 4 结语

当前农药残留降解的研究已进入分子水平,物理、化学和生物方法是相互结合的。总体来看,物理、化学的方法比较成熟、稳定且经济方便,但对于低浓度残留农药的降解去除效果不够彻底。生物降解方面则面临着寻找确定新型降解生物,产品的稳定性和成本往往难以满足生产实践要求,但研究进展很快,尤其是随着生物技术的日新月异,大批农药降解酶已得到分离纯化并进行了较深入的生理生化研究,为其大规模廉价生产奠定了基础。农药降解酶基因的克隆与表达可以构建降解谱广、彻底的工程菌,为微生物降解农药开辟新途径,也可将降解酶基因转入易于繁殖的宿主中获得高表达,提高酶产率,同时使人们认清农药微生物降解的生化机制。利用基因工程手段克隆农药降解酶基因,并提高

其表达量,构建高效工程菌的可行性已得到证实,为高效表达农药降解酶基因、批量廉价生产农药降解酶提供了技术保证,为降解环境中、农产品表面农药残留污染奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 李本昌. 农药残留量实用检测方法手册 第一卷 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 15-30.
- [2] JENNIFER D, SCHRAMMINEZ H. Ultrasonic irradiation of dichlorvos: decomposition mechanism[J]. *Water Research*, 2001, 35(3): 665-674.
- [3] INEZ H, ULRKE P T. Ultrasonic irradiation of carburean: decomposition kinetics and reactor characterization[J]. *Water Research*, 2001, 35(6): 1445-1452.
- [4] GUANGMING Z, INEZ H. Ultrasonic degradation of trichloroacetone, chloropicrin and bromobenzene: design factors and matrix effects[J]. *Advances in Environmental Research*, 2000, 4(3): 219-224.
- [5] SRIDEM G, JAMES C W, THOMAS J. Sonochemical degradation of aromatic organic pollutants[J]. *Waste Management*, 2002, 22(3): 261-366.
- [6] LORIMER J P, MASON J J, CUTHBERT J C. Effect of ultrasound on the degradation of aqueous native dextran[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1995, 2(1): 55-56.
- [7] CRISTINA S, MAGNUS E, H, KAN C, et al. Determination of organophosphate esters in air samples by dynamic sorption assisted solvent extraction coupled online with large volume injection gas chromatography utilizing a programmed temperature vaporizer[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003(1/2): 103-110.
- [8] ROHINA F, IIN F K, SHAIKAT S F, et al. Sonochemical degradation of organophosphorus pesticide in dilute aqueous solutions[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2003, 15(5): 710-714.
- [9] KOTRONAROU A. Decomposition of parathion in aqueous solution by Ultrasonic Irradiation Environ[J]. *Sci Technol*, 1992, 7: 1460-1462.
- [10] 李艳, 张有林, 王宏. 农药残留降解方法研究[J]. *食品研究与开发*, 2004, 25(6): 1-33.
- [11] YOUNG E, BANKS C J. The removal of lindane from aqueous solution using a fungal biosorbent: the influence of pH, temperature, biomass concentration and culture age[J]. *Environ Technol*, 1998, 19: 619-625.
- [12] HONG H B, HWANG S H, CHANG Y H. Biosorption of 1,2,3-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and polychlorinated dibenzofurans by *Bacillus pumilus* [J]. *Water Res*, 2000, 34: 349-353.
- [13] CHANG A C, PAGE A L. Fate of waste water constituents in soil and ground water: Trace organics [C]// STUART P G, TASANO T. *Integration with reclaimed municipal waste water. A Guidance Manual*. Lewis Publishers Inc, 1985: 15-20.
- [14] YOSHIDA S, MURATA H, IMADA M. Distribution of pesticide residues in vegetables and fruits and removal by washing[J]. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 1992, 66(6): 1007-1014.
- [15] 陈梅红, 张艳, 程淑华. 电离辐射降解农药残留研究[J]. *宁夏农业科技*, 1999(2): 44-45.
- [16] 肖乾芬, 王晓栋, 魏忠波, 等. 三唑磷农药水解动力学研究[J]. *农药*, 2005, 44(8): 356-358.
- [17] 刘乾开, 朱国念. 氰戊菊酯在水中的降解[J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 1993, 19(3): 293-297.
- [18] ONG K C, CASH J N, ZABIK M J, et al. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce[J]. *Food Chemistry*, 1996, 55(2): 153-160.
- [19] HUANG E S, JERRY N C, MATTHEW J Z. Post-harvest treatments for reduction of narcozeb in flash apples[J]. *Agric Food Chem*, 2001, 4: 3127-3132.
- [20] ANTHONY C HERPONT, CATHLEEN J HAPEMAN, ALBA TORRENIS. Ozone treatments of soil contaminated with aniline and triallin[J]. *Chemosphere*, 2003, 50: 1025-1034.
- [21] 方剑锋, 曾鑫年, 熊忠华, 等. 过氧化氢降解有机磷农药的研究I-降解性能及影响因素[J]. *华南农业大学学报*, 2004, 25(1): 44-47.
- [22] HOLMES R L, RUZOL O, FULLMER D G, et al. Pyrethroid photodecomposition: permethrin[J]. *Agric Food Chem*, 1978, 26: 590-595.
- [23] ACHER A J. Photosensitized decomposition of herbicide in aqueous solutions[J]. *Agric Food Chem*, 1981, 29: 707-711.
- [24] BURROWS H D, CANE L M, SANTABALLA J A, et al. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2002, 67(2): 71-108.
- [25] C CLE Z, PAIRICK M, BERNARD L. Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions[J]. *Water Res*, 2004, 38(9): 2305-2314.
- [26] PARALES R E, BRUCE N C, SCHMID A, et al. Biodegradation, biotransformation and biocatalysis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 4699-4709.
- [27] LAPHIN H M, GREAVES M P, SLATER H. Degradation of methyl parathion by a mixed bacterial culture and a *Bacillus* sp. Isolated from different soils[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 49: 429-433.
- [28] BENNING G D, FRILLOUX M, WALKER A. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with lignolytic potential[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 212: 59-63.
- [29] DASILVA A C R, FERRO J A, REINACH F C, et al. Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities[J]. *Nature*, 2002, 417: 459-463.
- [30] 虞云龙, 史锋, 樊德方, 等. 一种固定化酶对氰戊菊酯的降解特性[J]. *农药学报*, 1999, 1(1): 74-77.
- [31] MUNNECKE D M. Enzymatic detoxification of waste organophosphate pesticides[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 1980, 48(1): 105-111.
- [32] MILBRY W W, KEARNEY P C. Degradation of pesticides by microorganisms and the potential for genetic manipulation[J]. *Gen Protection*, 1991, 10: 334-346.
- [33] MUNNECKE D M. Enzymatic detoxification of waste organophosphate pesticides[J]. *Agric Food Chem*, 1980, 28: 105-114.
- [34] MUNNECKE D M. Enzymatic hydrolysis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1976, 32: 7-13.
- [35] HORNEI, HARCOURT R L, SUTHERLAND T D, et al. Isolation of a *Pseudomonas montali* strain with a novel phosphotriesterase[J]. *Microbiology Letters*, 2002, 206: 51-55.
- [36] RICHARD D R, ASHOK M, WILFRED C. Expression, immobilization and enzymatic characterization of cellulose binding domain organophosphorus hydrolase in a packed column[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2000, 69(6): 591-596.
- [37] MALONEY S E, MALEAND A, SMITH A R W. Purification and preliminary characterization of permethrinase from a pyrethroid-transforming strain of *Bacillus cereus*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59: 2007-2013.
- [38] POHLENZ H D, BOIDL W, SCHUTKEI, et al. Purification and properties of an *Arthrobacter oxydans* p52 carbanate hydrolase specific for the herbicide phosmet-pham and nucleotide sequence of the corresponding gene[J]. *Bacteriol*, 1992, 174: 6600-6607.
- [39] EATON R W, KANS J S. Cloning and analysis of s-triazine catabolic genes from *Pseudomonas* sp. strain NR RLB 12227[J]. *Bacteriol*, 1991, 173: 1215-1222.
- [40] EATON R W, KANS J S. Cloning and comparison of the DNA encoding amidase aminohydrolase and cyanuric acid aminohydrolase from three s-triazine-degrading bacterial strains[J]. *Bacteriol*, 1991, 173: 1363-1366.
- [41] CATHERINE M H C, ASHOK M, WILFRED C. Bacterial cell surface display of organophosphorus hydrolase for selective screening of improved hydrolysis of organophosphate nerve agents[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(4): 2026-2030.
- [42] TERNAN N G, MCGRATH J W, MC MILLAN G, et al. Review: organophosphates: occurrence, synthesis and biodegradation by microorganisms[J]. *Wild Microbiol Biotechnol*, 1998, 14(5): 635-647.
- [43] SOGORB M A, MILANOVA E. Enzyme involved in the detoxification of organophosphorus, carbanate and pyrethroid insecticide through hydrolysis[J]. *Toxicology Letters*, 2002, 128: 215-228.
- [44] HU Z, HONG Q, XU J H, et al. Construction of a genetically engineered microorganism for degrading organophosphate and carbanate pesticides[J]. *International Biodegradation & Biodegradation*, 2006, 58(2): 65-69.
- [45] LAN W S, GU J D, ZHANG J L, et al. Coexpression of two detoxifying pesticide-degrading enzymes in a genetically engineered bacterium[J]. *International Biodegradation*, 2006, 58: 70-76.

(上接第335页)

- [7] ROD CULLEN W, PHILIP WHEATER C, PETER J. Durleavy. Establishment of species-rich vegetation on reclaimed limestone quarry faces in Derbyshire[J]. *UK Biological Conservation*, 1998, 84(1): 25-33.
- [8] ANTHONY BRADSHAW. Restoration of mined lands: using natural processes[J]. *Ecological Engineering*, 1997, 8: 255-269.
- [9] KHAIER C, MARIIN A, MILLET J. Spontaneous vegetation dynamic and

restoration prospects for limestone quarries in Lebanon[J]. *Applied Vegetation Science*, 2003, 6(2): 199-204.

- [10] CLEMENT A S, WERNER C, MAGUAS C, et al. Restoration of a limestone quarry: effect of soil amendments on the establishment of native Mediterranean sclerophyllous shrubs[J]. *Restoration Ecology*, 2004, 12(1): 20-28.
- [11] Liisa tyrvinen, Antti niittinen. Property prices and urban forest Amenities[J]. *Journal of Environmental Economics and Management*, 2000, 39(2): 205-223.