

土壤农药残留微生物降解研究进展

李玉梅¹, 王根林², 于洪久¹, 孙 彬¹, 边道林¹

(1. 黑龙江省农科院农村能源研究所, 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农科院土肥所, 哈尔滨 150086)

摘 要: 农药在人类防治农作物病虫害、草害等方面发挥了举足轻重的作用, 但随之而来的农药残留问题对环境和人类健康也带来了严重的危害。为解决这一问题, 人们进行了大量的科学研究, 其中利用微生物降解农药残留已引起人们的广泛关注。现综述了土壤农药残留及微生物降解技术的发展与新技术应用。

关键词: 农药残留; 微生物降解

中图分类号: S 154.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)04-0072-03

自 1939 年瑞士科学家米勒 (Paul. Miller) 发明了 DDT 杀虫剂以来, 农药的应用取得了很大的进展。至今世界农药的年产量超过 200 万 t 以上, 每年农药的生产与销售量都处于上升趋势, 化学农药的品种也越来越多^[1]。已研制的农药品种达 1 200 多种, 其中 500 多个品种已投入使用, 农药已成为现代农业不可缺少的生产资料。首先, 农药的使用保证了农业的增产增收。据估计, 如果不使用化学农药, 世界粮食产量的一半会被各种病虫害和杂草所吞噬; 其次, 农药有效地防治了林业、牧业病虫害, 保证自然林和人工林的健康发展, 尤其是保证了经济林的增产增收; 另外, 农药对农业产品 (蔬菜、瓜果等) 和种子的保存也起了重要作用。然而大量

使用农药也给环境和生态系统带来了负面影响, 主要表现在: 农药在杀死害虫的同时, 对害虫的“天敌”及传粉的益虫益鸟也有伤害作用, 因而破坏了自然界的生态平衡; 由于长期使用同一类型农药, 使害虫产生了抗药性, 导致农药量越来越大, 成本越来越高; 农药在土壤、水体中残留、扩散, 使土壤资源、水资源环境遭受污染; 由于农药在农副产品中残留, 最终进入食物链而影响人类的生存与发展。

以有机磷类农药为例。有机磷类农药是目前应用最广泛的一类农药, 一直在国内外大量生产并大面积使用^[2]。和其它种类的农药一样, 有机磷农药真正用于毒杀病虫害的量通常仅占施用总量的 10%~20% 左右, 其余大部分农药都直接进入环境, 污染土壤、水体和空气。低剂量的有机磷农药对人和动物可产生慢性中毒, 会诱发多发性神经病、中风等; 急性中毒可引起肌肉痉挛、瞳孔收缩、呼吸困难, 甚至引发死亡。农业生产中过量使用有机磷农药会导致蔬菜、瓜果及动物性食品上农药残留增加, 人若长期使用此类食品, 对身体极为有害。在一项针对持久性有机污染物在农田生态系统中的环境

第一作者简介: 李玉梅 (1971-), 女, 助理研究员, 东北农业大学在读博士, 现从事植物营养学研究。

通讯作者: 王根林 (1971-), 男, 高级农艺师, 从事土壤肥料的研究与开发。

基金项目: 黑龙江省农科院青年基金项目 (200604002)。

收稿日期: 2006-12-20

- [9] Favery B, Lecomte P, Gil N, et al. RPE, a plant gene involved in early developmental steps of nematode feeding cells[J]. The EmboJournal, 1998, 17, 6799-6811.
- [10] Goggin F, Shah G, Williamson VM, et al. Instability of Mi-mediated nematode resistance in transgenic tomato Plants[J]. Molecular Breeding, 2004, 13, 357-364.
- [11] Hwang CF, Bhakta AV, Truesdell GM, et al. Evidence for a Role of the N Terminus and Leucine-Rich Repeat Region of the Mi Gene Product in Regulation of Localized Cell Death[J]. Plant Cell, 2000, 12, 1319-1330.
- [12] Jung C, Cai DG, Kleine M. Engineering nematode resistance in crop species[J]. Trends in plant Science, 1998, 3(7), 266-271.
- [13] Lilley CJ, Urwin PE, Johnston KA, et al. Preferential expression of a plant cystatin at nematode feeding sites confers resistance to Meloidogyne incognita and Globodera pallida[J]. Plant Biotechnology, 2004, 2, 3-12.
- [14] Opperman CH, Taylor CG, Conkling MA. Root-knot nematode-directed

- expression of a plant root-specific gene[J]. Science, 1994, 263, 221-223.
- [15] Opperman, CH, Acedo, GN, Saravitz, DM, et al. Bioengineering resistance to sedentary endoparasitic nematodes. In Advances in Molecular Plant Nematology, F. Lamberti, C. de Giorgi, and D. M. Bird, eds (New York, Plenum Press), 1994, 221-232.
- [16] Ramsay K, Wang ZH, Jones MGK. Using laser capture microdissection to study gene expression in early stages of giant cells induced by root-knot nematodes[J]. Molecular Plant Pathology, 2004, 5(6), 587-592.
- [17] Urwin PE, Atkinson HJ, Waller DA, et al. Engineered oryzacystatin-I expressed in transgenic hairy roots confers resistance to Globodera pallida[J]. Plant J., 1995, 8, 121-131.
- [18] Williamson VM, Richard S, Hussey RS. Nematode Pathogenesis and Resistance in Plants[J]. Plant Cell, 1996, 8, 1735-1745.
- [19] Williamson, VM. Plant nematode resistance genes[J]. Current Opinion in Plant Biology, 1999, 12, 327-331.

行为与生态效应的研究中,发现在某省甘蔗地 20~40m 的地下水中仍有甲拌磷等农药检出。

1 农药的种类

目前农业生产中应用的农药主要有四大类^[3]:一是有机氯类农药,该类农药是含氯的有机化合物,大部分是含一个或几个苯环的氯素衍生物。主要品种有 DDT(二氯二苯基三氯乙烷)和六六六(六氯环己烷),其次是艾氏剂、狄氏剂和异狄氏剂、氯丹七氯等。有剧毒,化学性质稳定,在环境中残留时间长,易溶于脂肪中并在脂肪中蓄积。二是有机磷类农药,主要是含磷的有机化合物,大部分是磷酸酯类和酰胺类化合物。品种有对硫磷(1605)、甲基对硫磷、敌敌畏、二甲硫吸磷、乐果、敌百虫、马拉硫磷等。剧毒,易分解。三是氨基甲酸酯类农药,该类农药均具有苯基-N-烷基氨基甲酸酯的结构,主要产品有西维因、特米克等。它们与有机磷农药一样,具有抗胆碱酯酶作用,中毒症状也相同,但中毒机理有别。四是除草剂,常用的除草剂有 2,4-D(2,4 二氯苯氧基醋酸)和 2,4,5-T(2,4,5-三氯苯氧基醋酸)及其脂类,它们能灭除许多阔叶草,但对许多狭叶草无害。

2 农药在土壤中的残留

各种农业措施如浸种、拌种、毒谷等种子处理,保护地栽培、田间机械喷撒、航化等作业方式均可使 50%左右的农药直接落入土壤;喷洒在植物体上的部分农药,经风吹雨淋也进入土体;一部分吸附在空气飘尘上的农药微粒,随气流扩散、降雨最终也进入土壤。进入土壤的农药,受各种化学、物理、生物作用,开始发生迁移、转化及降解,存在于土壤还未能被降解的农药称为残留农药。不同类型的农药在土壤中残留时间不同,一般来说,有机氯农药残留 5~8a;除草剂类残留 1a 左右。农药在土壤中残留时间越长,对土壤污染越严重,通过食物链对人类的影响也越大^[4]。

3 农药在土壤中的降解

进入土壤的化学农药,一部分被土壤胶体吸附,一部分随土壤水扩散迁移,还有一部分因挥发进入大气。土壤对农药的吸附是有限的、暂时的,只是在一定条件下对农药的缓冲解毒作用,而没有使化学农药得到真正的降解。农药随水迁移的结果可使化学农药进入江、河、湖、海,造成水体污染,严重者可造成人、畜中毒。而以气体形式挥发进入大气的农药微粒,随降雨又可返回土体。因此,解决农药残留问题的本质是在土体中将其进行充分降解、转化,使分子结构中分解 C-C 键和 C-H 键发生断裂,药效消失,减少危害。

农药在土壤中的降解包括光化学降解、化学降解和微生物降解。其中光化学降解的前提是土壤表面必须接受足够的太阳辐射能和紫外线光谱等能流才可引起农药的化学分解作用。化学降解包括水解和氧化。而

农药残留降解最主要的方式是微生物降解。土壤中的微生物能够通过各种生物化学作用参与分解土壤中的有机农药。主要生物化学作用有:脱氯作用、氧化还原作用、脱烷基作用、水解作用、环裂解作用等。

4 微生物降解农药的发展

微生物是农药转化的重要因素之一。早在 20 世纪 80 年代,Michigan 州立大学的 Jamestiedje 实验室,就首次从污染的河泥中分离出了具有脱氯功能的厌氧微生物^[5]。迄今为止,各国研究人员已从土壤、污泥、污水、天然水体、垃圾场和厩肥中分离到降解不同农药的活性微生物。研究表明:活性微生物主要以转化和矿化两种方式,通过胞内或胞外酶直接作用于周围环境中的农药。近年来,随着分子生物技术研究的深入发展,微生物的降解作用亦得到了长足的发展。

4.1 农药微生物降解的分离、筛选

农药降解微生物的分离、筛选是根据微生物对环境因子的耐受范围具有可塑性,对营养物可利用性比较广泛的特性,在选择性培养基中加入某些特殊碳源为营养物质,使样品中少数能分解利用此类物质的微生物大量繁殖,并将其分离出来的方法。国内外学者已成功分离出了多种不同农药的降解菌株。Sangodkar, Dnickel, Farson 等分离鉴定了降解不同污染物的微生物菌株;王银善等分离到一株黄杆菌 *Flavobacterium* sp. P3-2,可降解对硫磷、杀螟松、水胺硫磷、甲基对硫磷,性能稳定^[6];杨小蓉等从经常施用氧乐果的蔬菜地土壤中分离得到一株降解氧乐果的高效菌^[7];方玲采用以有机氯农药作为唯一碳源的 Tmonomer 培养基分离筛选后,得到降解 666(BHC)的主要菌株分别属于芽孢菌属、无色杆菌属和假单胞菌属,以及降解 DDT 的菌株属于产碱杆菌属和无色杆菌属^[8];刘玉焕等对甲胺磷降解真菌进行了较全面的研究^[9]。这些农药降解菌株的分离筛选为解决我国的农药降解问题奠定了一定基础。

4.2 农药微生物降解的新技术和新方法

4.2.1 转基因技术的应用 20 世纪后半叶是分子生物学、分子遗传学等学科迅速发展的时期,各种不同的生物学技术不断涌现;同时在 21 世纪初,生物信息学、基因组学、蛋白质组学等新的学科也迅速兴起。这一切都为研究高效农药降解菌提供了必要的条件。因此,利用转基因技术进行目的性的人工组装“工程菌”成为有魅力的发展目标。同时,因为微生物降解农药的本质是酶促反应,所以,有人直接提取微生物合成的酶系来离体进行农药等有机化合物污染物的降解研究^[10]。从被有机磷农药污染的土壤中筛选出了能够降解多种有机磷农药的细菌,从中克隆出了有机磷降解酶的编码基因,并成功地利用毕赤酵母高效表达了有机磷降解酶,有机磷降解酶表达量达到 6g/L 以上,这是国内外目前报道的

有机磷降解酶最高的表达量^[11]。

4.2.2 多菌株复合系的构建及应用 与以往研究农药生物降解只偏重于用单一微生物菌株的纯培养^[12~14]相比,单一菌株的纯培养效果不如混合培养。因为单个微生物不具备生物降解所需的全部酶的遗传合成信息,而且它们在难降解化合物中驯化的时间不足以进化出完整的代谢途径,同时对许多纯培养的研究发现,在生物降解过程中会有毒性中间物质积累,因此彻底矿化通常需要一个或一个以上的营养菌群(如发酵—水解菌群、产硫菌群、产乙酸菌群及产甲烷菌群等)。一种微生物降解一部分,经过数种微生物的接力作用和协同作用,经过多步反应将有毒化合物完全矿化,微生物的群体作用更能抵抗生物降解中产生的有毒物质^[15]。利用菌种间协同关系构建的复合系不仅高效率分解木质纤维素,而且菌种组成长期稳定,不易被杂菌污染^[16],在此基础上赋予农药分解功能的复合系对多种农药具有强烈的分解能力,其作用机理有待进一步研究。另外,分子生态学技术的应用证明,目前人类能够分离纯化的微生物种类极其有限,甚至自然界中 99% 的微生物目前无法纯培养^[17],因而只有培育复合系才能包含这些重要而无法纯培养的微生物种类。

4.2.3 固定化微生物技术在农药降解中的应用 细胞固定化是指应用物理或化学的手段将游离的细胞定位于限定的空间区域并使其保持活性,并可反复使用的一种技术。它是 20 世纪 60 年代由生物化学中的固定化酶技术发展出来的生物技术。自 20 世纪 70 年代后期,固定化微生物细胞的研究发展迅速,应用范围很广。其中,应用固定化微生物技术处理、降解污水中的农药成为一个新的研究领域。Yang 等用三醋酸纤维素酯和海藻酸钙的复合物包埋混合好氧菌处理含酚废水,显示了酶活性高、强度好以及操作稳定性好的特点^[18];闫艳春等将抗性库蚊酯酶基因转入大肠杆菌和蓝藻,研究了固定化细胞对有机磷、有机氯和菊酯类农药的降解,取得了较好的研究效果。

5 展望

农药的广泛使用,不可避免地造成农药或其代谢物在环境乃至食品中的残留。农药残留不仅对环境造成污染,而且直接影响到我国农副产品的出口。国外特别是发达国家利用名目繁多的安全卫生措施限制我国农产品入境,如美国对苹果及其制品农残检测项目达 102 种,既是为了保护本体健康,也是用技术壁垒保护本国农产品市场。无论是从保证我国人民的农产品食用安全,还是为我国加入 WTO 后提供农产品检测技术保障、发展外向型农业经济方面来看,必需大力加强农药残留分析技术、农药安全使用和农药污染修复技术的研究。

参考文献:

- [1] 曹志方,王银善. 甲胺磷农药的微生物降解[J]. 环境科学进展, 1994, (6), 32-35.
- [2] 张超,李冀新. 微生物降解有机磷农药残留机理及菌种筛选研究进展[J]. 农药科学与管理, 2006, 27(4), 29-33.
- [3] 戈峰. 病虫害危害损失及其防治效益的新观察. 中国昆虫学会 2000 年学术年会论文集[C]. 北京: 中国科学技术出版社, 2000, 614.
- [4] Raphi T. Mandelbaum, Deborah L. Allan, Lawrence P. Wackett. Isolate and Characterization of a Pseudomonas sp. That mineralizes the triazine Herbicide Atrazine[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61(2), 1451-1457.
- [5] 王银善, 庞学民. 农药甲胺磷的微生物降解[J]. 环境科学学报, 1985, 5(3), 315-321.
- [6] 杨小蓉, 宗浩. 一株降解氧乐果的高效菌的分离和鉴定[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(4), 392-394.
- [7] 方玲. 降解有机氯农药的微生物菌株分离筛选及应用效果[J]. 应用生态学报, 2000, 11(2), 249-252.
- [8] 刘玉焕, 钟英长. 甲胺磷降解真菌的研究[J]. 中国环境科学, 1999, 19(2), 172-175.
- [9] 和文祥, 蒋新. 酶修复土壤农药污染的研究进展[J]. 生态学杂志, 2001, 20(3), 47-51.
- [10] 虞云龙, 陈鹤鑫. 拟除虫菊酯类杀虫剂的酶促降解[J]. 环境科学, 1998, 19(3), 66-69.
- [11] 崔宗均, 李美丹, 朴哲, 等. 一组高效稳定纤维素分解菌 MCI 的筛选及功能[J]. 环境科学, 2002, 23(3), 36-39.
- [12] 崔中立, 李顺鹏. 化学农药的微生物降解及其机制[J]. 江苏环境科技, 1998, (3), 1-5.
- [13] Donna Chaw, Ulrica Stoles. Composting of cattle manure and hydrocarbon contaminated flare pitsoil[J]. Compost Science and Utilization, 2001, 9(4), 322-335.
- [14] Potter C. L., Glaser J. A., Chang L. W., et al. Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions[J]. Environmental Science and Technology, 1999, 33(10), 1717-1725.
- [15] Nowak B, Stone AT. Degradation of nitrilotris (ethylene-phosphoric acid) and related amino (pHs-phosphate) chelating agents in the presence of manganese and molecular oxygen[J]. Environ. Sci. Technol., 2000, 34(22), 4759-4765.
- [16] 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.
- [17] Levitz MS, Fish W. Redox interactions of Cr (VI) and substituted phenols. Kinetic investigation[J]. Environ. Sci. Technol., 1994, 28 (12), 2161-2169.
- [18] 闫艳春. 一种工程菌的高酶活及其固定化细胞对农药的降解[J]. 中国环境科学, 1999, 19(5), 461-465.

