

# 农药污染土壤的微生物修复研究进展

李顺鹏 蒋建东

(南京农业大学农业部农业环境微生物工程重点开放实验室 南京 210095)

**摘 要** 本文介绍了土壤中农药污染的现状与危害,总结了土壤农药污染的微生物修复的历史背景、研究现状,重点介绍了降解农药的微生物与农药污染土壤微生物修复的研究进展,并总结了国内外微生物修复的产业化现状,对土壤农药污染微生物修复进行了预测和展望,指出了需要进一步研究的领域。

**关键词** 微生物修复; 农药污染; 土壤; 研究进展

**中图分类号** Q939.96

化学农药作为保障农业丰收的重要手段,在农业生产中发挥着非常重要的作用。然而,由于人们长期的不科学用药,剧毒、高残留、难降解农药的大量使用,我们面临着不断增加的土壤、地下水和大气农药污染的环境问题<sup>[1~3]</sup>。国家质检总局公布的最新数据显示,目前我国农药年产量已达40万t,居世界第2位(全世界12亿磅,1997年)。我国农业防治约需农药25万t,而农药的利用率只有10%~20%,其余进入农作物、土壤。2000年太湖流域农田土壤中15种多氯联苯同系物检出率为100%,六六六、DDT超标率为28%和24%,上海市郊区农田中的DDT含量严重超标,南京市菜地土壤中六六六和DDT的检出率为100%。据统计,我国被污染的土壤面积已达到1300万~1600万hm<sup>2</sup>,经济损失达10亿元之巨。夏威夷耕地土壤中同样也发现禁用了15年的七氯和七氯环氧化物严重超标<sup>[4]</sup>。由此可见,世界各地土壤中的农药污染问题已经到了非常严重的地步。

2001年联合国环境规划署(UNEP)通过的《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》列出了12种优先控制持久性有机污染物(POPs),其中农药占了9种(艾氏剂、六氯代苯、氯丹、灭蚁灵、狄氏剂、毒杀芬、DDT、异狄氏剂、七氯);另外,20种被列为潜在持久性有机污染物中农药也占据了大部分<sup>[5]</sup>。这些农药等持久性有机污染物质具有典型的憎水亲脂特性,易吸附于土壤颗粒,在环境中长期存在。土壤农药污染直接导致农产品中农药超标,产品品质下降。据2000年国家质检总局数据,全国47.5%的蔬菜农药残留超标,因农残超标被退回的出口农产品金额达74亿美元。另一方面,土壤中农药

污染严重威胁到人和动物的健康,将通过食物链在脂肪中积累,导致免疫系统、荷尔蒙、生殖系统疾病和诱发癌症<sup>[6]</sup>。我国每年因农药残留急性毒性就造成80多人的死亡和800多人中毒事件。农药残留导致的间接的生态环境破坏的损失更加无法估量。

鉴于农药残留的持久性、农药施用的普遍性和农药污染的严重性,土壤农药污染的修复成为必须解决的重大问题,引起了众多科研工作者的关注。

## 1 农药污染的微生物修复背景

农药污染的修复一般有物理、化学和生物修复等方法,但通过像焚烧、填埋等物理-化学方法处理被认为是逻辑上不可行、昂贵或是环境不友好的方式<sup>[7]</sup>。尽管矿化环境异生物质(xenobiotic compounds)的微生物占总体微生物的比例并不很大,然而对于像土壤和地下水污染的原位修复,应用生物学的方法是非常具有潜力和竞争力的<sup>[8]</sup>。

早在20世纪50年代,Cornell大学任教的Martin Alexander与他的学生就针对《寂静的春天》出版后人们对环境中农药污染和残毒问题的关注而展开了农药在土壤中可降解性的研究,为后来生物技术在环境保护中的应用打下了坚实的基础。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<sup>[9]</sup>。1991年3月,第一届原位生物修复(in situ bioremediation)国际会议在美国圣地亚哥召开,出版了“in situ bioremediation”和

“on-site bioreclamation”两本论文集,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。

微生物代谢方式丰富多样,底物范围广,从复杂的有机大分子如纤维素、木质素甚至包括人造的高聚化合物尼龙到简单无机小分子如  $H_2$  和  $CO_2$ 。作为生态系统的重要成员,微生物必将在污染物的去除中发挥重要的作用,成为生物修复中的主力军。

## 2 降解农药的微生物及其研究

### 2.1 降解农药的微生物

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<sup>[10]</sup>,国内的研究工作者也在这方面做了大量工作<sup>[11,12]</sup>,南京农业大学分离鉴定了多株高效降解菌株<sup>[13~15]</sup>,建立了目前我国农药微生物降解最大的菌株种质资源库。

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)。细菌由于其生化上的多种适用能力以及容易诱发突变等特性从而占了主要的地位,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 *P. putida* KT2440 全基因组序列测序已经完成。

### 2.2 农药微生物降解的代谢途径与降解基因

许多顽固性农药的好氧/厌氧生物降解途径已经被阐明,其中芳香环簇类农药的代谢中包含了许多羟基化开环的过程,单加氧酶将一个氧原子加入底物形成羟基或双加氧酶将两个氧原子加入底物形成两个羟基团导致开环作用<sup>[26]</sup>,这一步骤在农药的矿化反应中起着非常重要的作用。然而,在有些情况下,农药的代谢是从支链的降解开始的。美国 Minnesota 大学的生物降解与生物催化数据库(Biodegradation and Biocatalyst Database)收集了农药等化合物的 139 条代谢途径、910 个反应、577 种酶、328 个微生物条目、247 条生物转化规律、50 个有机功能群、76 个萘的 1,2-双加氧酶反应和 109 个甲苯双加氧酶反应,其中包含了许多农药的微生物降解代谢途径和酶类,像对硫磷、阿特拉津、2,4-D、BHC、4-硝基酚、四氢呋喃、S-三嗪、DDT、2,4,5-T 等农药的代谢途径和降解机制已经被详细列出<sup>[27]</sup>。在研究了相关代谢途径的基础上,科研工作者在降解性基因方面也作了大量的研究工作,对一些降解性基因进行了定位,克隆了一些降解性相关基因(表 2)。并对降解性基因进行高效表达<sup>[37]</sup>,研究降解酶的酶学特性<sup>[38]</sup>,构建多功能高效降解菌株<sup>[39]</sup>,这些研究一直受到了科研工作者的关注。

### 2.3 农药微生物修复的影响因素

农药本身的物理性质,尤其是内部化学键、浓度、水溶性、分子极性、生物可利用性、化合物的吸附性<sup>[40]</sup>、降解代谢的基因池存在与否<sup>[41]</sup>和环境因子(温度、盐度、pH、氧化还原电位、营养可利用程度)等是影响农药等顽固性化合物生物降解和修复的主要因素。微生物对环境污染物的修复能否最终实现不仅仅依赖于其降解能力本身,而且依赖于污染物的生物可利用性以及细菌与土著微生物之间的竞争能力等其他因素。化合物存在的界面尤其重要,因为其不仅影响农药的吸附性,而且能影响不同的微生物类群形成和基因的水平转移性<sup>[42]</sup>。因此,污染物的生物可利用性成为成功生物修复的重要障碍之一,增加污染物的溶解性和生物可利用性是生物学方法进行成功修复的必要条件<sup>[43]</sup>。近几年来,科研工作者开始研究细菌的趋化性(chemotaxis)和调控污染环境中降解基因的水平转移来增强细菌的生物修复效果。

表1 分离的降解农药的微生物<sup>[16-25]</sup>

Table 1 Examples of pure cultures of microorganisms that degrade various pesticides

| 农药                     | 微生物                                                        | 过程          |
|------------------------|------------------------------------------------------------|-------------|
| Acifluorfen            | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                             | 芳香环硝基还原     |
| 甲草胺                    | <i>Pseudomonas</i> sp.                                     | 谷胱甘肽介导的脱氯   |
| Aldicarb               | <i>Achromobacter</i> sp.                                   | 水解          |
| 阿特拉津                   | <i>Pseudomonas</i> sp.                                     | 脱氯          |
| 阿特拉津 <sup>†</sup>      | <i>Rhodococcus</i> sp.                                     | N-脱烷基       |
| 呋喃丹                    | <i>Achromobacter</i> sp.                                   | 水解          |
| 2-(1-甲基-正丙基)-4,6-二硝基苯酚 | <i>Clostridium</i> sp.                                     | 硝基还原        |
| 2,4-D                  | <i>Pseudomonas</i> sp.                                     | 脱氯          |
| DDT                    | <i>Proteus vulgaris</i>                                    | 脱氯          |
| 伏草隆                    | <i>Rhizopus japonicus</i>                                  | N-脱甲基       |
| 林丹                     | <i>Clostridium</i> sp.                                     | 还原脱氯        |
| 利谷隆                    | <i>Bacillus sphaericus</i>                                 | acylamidase |
| 甲基对硫磷                  | <i>Plesiomonas</i> sp.                                     | 水解          |
| 对硫磷                    | <i>Bacillus</i> sp.                                        | 水解和硝基还原     |
| Pendimethaline         | <i>Fusarium oxysporum</i> ,<br><i>Paecilomyces varioti</i> | N-脱烷基 硝基还原  |
| 敌稗                     | <i>F. oxysporum</i> ,<br><i>Pseudomonas</i> sp.            | 酰胺酶         |
| 氟乐灵                    | <i>Candida</i> sp.                                         | N-脱烷基       |

表 2 部分农药的微生物降解代谢途径、中间产物与降解相关基因

Table 2 Pathway and intermediates of some pesticides degraded by microbes and degrading related genes

| 农 药    | 降解性微生物(分离者) | 代谢途径和代谢中间产物                                                   | 相关降解基因克隆与定位       |
|--------|-------------|---------------------------------------------------------------|-------------------|
| 有机磷类   | 对硫磷         | <i>P. diminuta</i> GM(Sedar)                                  | 二乙基硫代磷酸、对硝基酚      |
|        |             | <i>Flavobacterium</i> sp. ATTCC27551(Mulbry <sup>[28]</sup> ) | 对硝基酚              |
|        | 甲基对硫磷       | <i>Flavobacterium</i> sp.(Chaudhry <sup>[29]</sup> )          | 对硝基酚              |
|        |             | <i>P. pudita</i> * (Rani <sup>[30]</sup> )                    | 1,2,4-三羟基苯        |
|        |             | <i>Plesiomonas</i> sp.M6(Cui <sup>[23]</sup> )                |                   |
| 有机氯    | α-HCH       | <i>Sphingomonas paucimobilis</i> B90A                         |                   |
|        | β-HCH       | <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (Singh)                    | 四氯环己烷、四氯环己醇       |
|        |             | <i>S. paucimobilis</i> UT26 (Nagata)                          | 2,5-二氯对苯二酚        |
|        | DDT         | <i>Synechococcus</i> sp                                       | DDD               |
|        |             | <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                  | DDE               |
| 拟除虫菊酯类 | Permethrin  | <i>P. fluorescens</i> (SM-1), <i>Achromobacter</i> . sp(SM-2) | 3-苯氧基苯甲酸          |
|        |             | 和 <i>B.cereus</i> (SM-3) (Maloney <sup>[32]</sup> )           | 和 trans-DCVA      |
| 氨基甲酸酯  | 西维因         | <i>Pseudomonas</i> spp. 及 <i>Rhodococcus</i> sp.              | 龙胆酸途径利用 1-萘酚      |
|        |             | <i>Arthrobacter</i> sp. RC100*(Masahito <sup>[33]</sup> )     |                   |
| 除草剂    | 阿特拉津        | <i>R. corallinus</i> (Cook 和 Hunter)                          | 从 CEAT 上脱氯和氨基     |
|        |             | <i>R. corallinus</i> NRRLB-15444R(Walter <sup>[34]</sup> )    | MCEAT 和 CIAT 脱氯活性 |
|        |             | <i>Rhodococcus</i> sp. TE1 (Shao)                             | 脱烷基               |
|        |             | <i>Pseudomonas</i> sp. ADP* (De Souza <sup>[35]</sup> )       | 先脱氯再脱烷基           |
|        |             | <i>Rhodococcus</i> sp. BTAH1* (Hu)                            | 先脱氯再脱烷基           |
|        | 2, 4-D      | <i>A. eutrophus</i> JMP134                                    |                   |
|        |             | <i>P. cepacia</i> CSV90* (Manzoor <sup>[36]</sup> )           | 2-甲基-4-氯苯氧乙酸      |
|        | 草甘磷         | <i>P. pseudomauei</i> (Penalzoa-vazquez)                      |                   |
|        | 草丁膦         | <i>Streptomyces hugroscopicus</i>                             |                   |
|        |             |                                                               |                   |

\*矿化或以唯一 C、N 源利用。

### 3 农药污染土壤的微生物修复研究

充分研究降解性微生物的生物学特性为将微生物应用于污染物的实际修复提供了理论指导。经过多年的努力,微生物修复已在许多农药污染土壤的消除实践中取得了成功<sup>[44~47]</sup>(表3)。

农药污染土壤的微生物修复研究呈现两个方面的研究重点。一方面,在许多研究中,通过添加营养元素等外在条件刺激土著降解性微生物的作用来达到修复效果。Fulthorpe等<sup>[48]</sup>从巴基斯坦土壤中分离的微生物都能矿化2,4-D,并发现添加硝酸盐、钾离子和磷酸盐能增加降解率。加拿大的Stauffer Management 公司数年来发展了一些农药污染土壤的生物修复技术<sup>[49]</sup>,他们在特定环境中通过激发降解性土著微生物群落的功能达到修复目的,并且在美国专利局获得了3项专利。

另一方面,许多研究证实了通过接种外源降解

性微生物可以达到很好的生物修复效果。Nassser (1994)从污染了氯乙异丙嗪的土壤中分离到混合微生物培养物,接种到土壤中可将0.14 mol的氯乙异丙嗪在25天内完全降解,使其矿化速度提高了20倍。Shapir等人报道,在受除草剂阿特拉津污染的土壤中投加*Pseudomonas* sp. ADP进行生物强化,可使阿特拉津达到90%~100%的降解。Struthers等分离到*A. radiobacter* J14a,并将其接种到只具有少量野生降解菌的阿特拉津污染土壤中,发现阿特拉津的矿化速度提高了2~5倍;而将其接种到含大量阿特拉津降解菌的土壤中则缩短了降解的延滞时间。1993~1995年,Spadaro<sup>[50]</sup>在波兰的ODOT进行了土壤中2,4-D的生物修复田间试验,在厌氧环境下加入厌氧消化污泥,经过7个月的处理,土壤中2,4-D从1100 mg/kg降低到18 mg/kg,并在大规模试验中证实了生物修复的可行性。

表3 农药污染土壤微生物修复的小规模田间试验

Table 3 Summary of small scale field experiments on bioremediation of pesticide contaminated soil

| 实验设计               | 农药污染物                     | 实验时间   | 结果/去除率                       |
|--------------------|---------------------------|--------|------------------------------|
| 白腐真菌降解             | DDT                       | 30d    | 69%降解, 3%矿化                  |
| 白腐真菌降解             | 灭蚊灵, 艾氏剂, 七氯, 林丹, 狄氏剂, 氯丹 | 21d    | 氯丹: 9%~15%矿化 林丹: 23%矿化       |
| 泥炭吸附加堆制            | 马拉硫磷, 克菌丹, 林丹, 二嗪农        | -      | 98%去除                        |
| 细菌过滤               | 2,4-D, DDT                | 168h   | 2,4-D: 99%去除; DDT: 58%~99%去除 |
| 实验室细菌过滤            | 蝇毒磷                       | 7~10d  | 从1200 mg/L 降低到 0.02~0.1 mg/L |
| 田间规模细菌过滤降解         | 蝇毒磷                       | 30d    | 从2000 mg/L 降低到 8~10 mg/L     |
| 农药废水的生物膜/生物膜激活碳柱处理 | 有机磷农药(三嗪等)                | 4m     | 88%~99%去除(西玛津不能去除)           |
| 五种不同的废水            | 2,4-D, 林丹, 七氯             | 8m     | 73% 的2,4-D, 80%的林丹和62%的七氯    |
| 氧化/厌氧循环DARAMEND™技术 | BHC                       | 405d   | 41%~96%                      |
| 污染地下水修复            | 氯苯, 氯酚, BTXE, 六氯环己烷       | 4w     | 高效脱氯                         |
| 厌氧还原脱氯             | 六氯苯                       | 37d    | 79%转化成1,3,5-三氯苯              |
| 外源投加降解性微生物         | 有机磷、菊酯、有机氮、有机氯农药          | 3~30d  | 80%以上                        |
| 厌氧降解(补加营养)         | 毒杀芬                       | 14~21d | 58%~95%还原                    |

国内的一些单位也进行了大量的生物修复研究<sup>[51]</sup>。福建农业大学将分离出的有机氯农药(六六六、DDT)降解菌株制成复合菌剂,应用于盆栽试验和田间小区试验,所得到的降解效应类似于纯培养试验,对有机氯的降解率达到了50%~60%。裘娟萍等人通过循环富集法筛得多效唑高效降解菌群,能彻底降解多效唑产生CO<sub>2</sub>,并建立了受多效唑污染土壤的再生修复技术,35天土壤中多效唑的降解效果达86.2%<sup>[52]</sup>。张卫等从试验土壤中分离到1株高效降解阿维菌素的菌株,土壤接种该优势菌后有助于加快阿维菌素的降解<sup>[53]</sup>。虞云龙等研究表明根围土壤丰富的微生物对丁草胺的降解具有显著的促进作用。根围土壤中丁草胺的降解是非根围土壤的1.63~2.34倍,接种处理后这种促进作用得到进一步加强,其降解速率是非根围土壤的1.68~2.83倍<sup>[54]</sup>。

#### 4 农药污染土壤的微生物修复的产业化

国外在生物修复的产业化领域已经具有相当的规模。美国生物修复产业的营业额已经达到了几百亿美元,并形成了一些专业性的公司:如美国BCI公司(Bioremediation Consulting Inc.)、WIK Associates Inc.、美国工程服务生物修复公司(Engineering Services and Bio-remediation Company)等。但这些生物修复产业主要是针对石油烃、持久性有机污染物,而关于农药污染的大规模生物修复仍未形成产业。

在国内,生物修复是个刚刚兴起的产业,正处

于起步阶段,然而却取得了快速的发展。南京农业大学在土壤农药残留的微生物修复方面进行了大量的工作,从1991年开始对各种农药残留降解菌株进行了生物学特性和工业化发酵生产工艺等各项技术参数研究,形成了农药污染微生物修复成熟的技术体系和产品,进行了累计几千次田间小试试验和数十次中试规模试验,并将技术产品应用于水稻、韭菜、小青菜、芦笋、冬枣等农产品和各种性质的农田土壤的农药污染原位修复,其农药降解率在80%以上,修复效果显著。

#### 5 农药污染土壤的微生物修复的前景与展望

在各种消除农药污染的措施中,微生物修复虽然受农药的种类、环境条件等因素的限制,但因其高效、安全、成本低、无二次污染等而最具有发展前景,这方面的研究将持续快速发展,并推动应用的步伐。总之,随着研究的进一步深入,随着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非常广阔的发展空间,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将在以下几个领域进一步展开: 白腐真菌的应用研究; 环境微生物种质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的组成中相互关系(信息交流); 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（如趋化性）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； 污染环境的生物全细胞检测； 生物修复与理化方法结合的综合技术的研究； 污染物的资源化及生物修复的产业化等。

## 参考文献

- 1 单正军, 朱忠林, 华小梅. 我国农药环境污染及管理现状. 环境保护, 1997, 7: 40 ~ 43
- 2 国家环境保护总局. 我国农药污染现状、存在问题及建议. 环境保护, 2001, 6: 23 ~ 24
- 3 赵玲, 马永军. 有机氯农药残留对土壤环境的影响. 土壤, 2001, 33(6): 309 ~ 311
- 4 Arakaki AS, Williams L, Li Q. Field demonstration on the removal and disposal of heptachlor and heptachlor epoxide from soils of abandoned pineapple fields on Molokai, Hawaii. Correspondence from J.J. Nakatani, State of Hawaii Department of Agriculture, 1999
- 5 R - T & A. Bioremediation of persistent organic pollutants. Technologie a biotechnologie, 2002
- 6 Fatigoni C, Marcarelli M, Monarca S. Effects of synthetic pyrethroids on mammalian chromosomes. I. Sumicidin. Mutat. Res., 1982, 105 (1-2): 101 ~ 106
- 7 Sarokin D. The toxics release inventory. Environ. Sci. Technol., 1988, 22: 616 ~ 618
- 8 Zwillich D. A tentative comeback for bioremediation. Science, 2000, 289(29): 2266 ~ 2267
- 9 Alexander M. Biodegradation of chemical of environmental concern. science, 1981, 211: 132 ~ 138
- 10 Chen W, Mulchandani A. The use of live biocatalysts for pesticide detoxification. Trends in Biotechnology, 1998, 16(2): 71 ~ 76
- 11 杨小红, 李俊, 葛诚, 沈德龙. 微生物降解农药的研究新进展. 微生物学通报, 2003, 30(6): 93 ~ 96
- 12 尤民生, 刘新. 农药污染的生物降解与生物修复. 生态学杂志, 2004, 23 (1): 73 ~ 77
- 13 丁海涛, 李顺鹏, 沈标, 崔中利. 拟除虫菊酯类农药残留降解菌的筛选及其生理特性研究. 土壤学报, 2003, 40(1): 123 ~ 129
- 14 张瑞福, 朱卫, 崔中利, 李顺鹏. 辛硫磷降解菌 X-1 的分离鉴定及降解性状的初步研究. 环境科学学报, 2003, 23(3): 411 ~ 413
- 15 崔中利, 李顺鹏, 孙志兵. 两株联合降解甲基 1605 的分离及其特性研究. 应用与环境生物学报, 1999, 5(增刊): 117 ~ 119
- 16 Karns JS, Mulbry WW, Nelson JO, Kearney PC. Metabolism of carbofuran by a pure bacterial culture. Pestic. Biochem. Physiol., 1986, 25: 211 ~ 217
- 17 Behki RM, Kahn SU. Degradation of atrazine by *Pseudomonas* sp. N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolism. J. Agric. Food Chem., 1986, 34: 746 ~ 749
- 18 Behki RM, Topp E, Dick W, Germon P. Metabolism of the herbicide atrazine by *Rhodococcus* strains. Appl. Environ. Microbiol., 1993, 59: 1955 ~ 1959
- 19 Hammil TB, Crawford RL. Degradation of 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol(dinoseb) by *Clostridium bifermentans* KMR-1. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62: 1842 ~ 1846
- 20 Barker PS, Morrison FO, Whitaker RS. Conversion of DDT to DDD by *Proteus vulgaris* a bacterium isolated from the intestinal flora of a mouse. Nature (London), 1965, 205: 621 ~ 622
- 21 Wallnöfer PR, Safe S, Hutzinger O. Microbial demethylation and debutylation of four phenylurea herbicides. Pestic. Biochem. Physiol., 1973, 3: 253 ~ 258
- 22 Sethunathan N, Yoshida Y. Microbial degradation of insecticides in flooded soil and in anaerobic cultures. Residue. Rev., 1973, 47: 143 ~ 165
- 23 Cui Zhongli, Fu Guoping, Li Shunpeng. Isolation of Methyl Parathion Degradation strain M6 and Cloning of the Methyl parathion Hydrolase Gene. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 66(10): 4922 ~ 4925
- 24 Singh SB, Kulshreya G. Microbial degradation of pendimethalin. J. Environ. Sci. Health, 1991, 26: 309 ~ 421
- 25 Zeyer J, Kearney PC. Degradation of trifluralin in pure culture. Pestic. Biochem. Physiol., 1984, 20: 10 ~ 18
- 26 Fulthorpe RR, Rhodes AN, Tiedje JM. Pristine soils mineralize 3-chlorobenzoate and 2, 4-dichloro- phenoxyacetate via different microbial populations. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(4): 1159 ~ 1166
- 27 <http://umbbdd.ahc.umn.edu/> Biodegradation and Biocatalyst Database
- 28 Mulbry WW, Kearney PC. Degradation of pesticides by microorganisms and the potential for genetic manipulation.

- Crop Protection, 1991,10: 334 ~ 346
- 29 Chaudhry GR, Ali AN, Wheeler WB. Isolation of a methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the *opd* gene from a *Flavobacterium* sp. Appl. Environ. Microbiol., 1988,54(2):288 ~ 293
- 30 Rani NL, Lalithakumari D. Degradation of methyl parathion by *Pseudomonas putida*. Can. J. Microbiol., 1994,40: 1000 ~ 1006
- 31 刘智, 洪青, 徐剑宏, 武俊, 张晓舟, 张小华, 马爱芝, 朱军, 李顺鹏. 甲基对硫磷水解酶基因的克隆与融合表达. 遗传学报, 2003, 30 (10): 40 ~ 46
- 32 Maloney SE, Maule A, Smith AR. Transformation of synthetic pyrethroid insecticides by a thermophilic *Bacillus* sp. Arch. Microbiol., 1992,158(4): 282 ~ 286
- 33 Masahito H, Motoko H, Tadahiro N. Involvement of two plasmids in the degradation of carbaryl by *Arthrobacter* sp. strain RC100. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65(3): 1015 ~ 1019
- 34 Mulbry WW, Karns JS. Parathion hydrolase specified by the *Flavobacterium opd* gene: relationship between the gene and protein. J. Bacteriol., 1989, 171(12): 6740 ~ 6746
- 35 Boundy-Mills KL, De Souza ML, Mandelbaum RT. The *atzB* gene of *Pseudomonas* sp. strain ADP encodes the second enzyme of a novel atrazine degradation pathway. Appl. Environ. Microbiol., 1997, 63 (3): 916 ~ 923
- 36 Manzoor AB, Masataka T, Kihachiro H. Identification and characterization of a new plasmid carrying genes for degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetate from *Pseudomonas cepacia* CSV90. Appl. Environ. Microbiol., 1994, 60 (1): 307 ~ 312
- 37 Dehmel U, Engesser KH, Timmis KN, Dwyer DF. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the gene encoding a novel dioxygenase involved in metabolism of carboxydiphenyl ethers in *Pseudomonas pseudoalcaligenes* POB310. Arch. Microbiol., 1995, 163 (1): 35 ~ 41
- 38 Cuneyt MS, David TG. Enzymatic hydrolysis of organophosphates: cloning and expression of a parathion hydrolase gene from *Pseudomonas diminuta*. Bio/Technology, 1985, 3: 567 ~ 571
- 39 崔中利, 张瑞福, 何健, 李顺鹏. 对硝基苯酚降解菌 P3 的分离、降解特性及基因工程菌的构建. 微生物学报, 2002, 42 (1): 19 ~ 26
- 40 Rieger PG, Meier HM, Gerle M, Vogt U, Groth T, Knackmuss HJ. Xenobiotics in the environment: present and future strategies to obviate the problem of biological persistence. J. Biotechnol., 2002, 94: 101 ~ 123
- 41 Fewson CA. Biodegradation of xenobiotic and other persistent compounds: the causes of recalcitrance. Tibtech, 1988,6:148 ~ 153
- 42 Krockel L, Focht DD. Constitution of chlorobenzene-utilizing recombinants by progenitive manifestation of a rare event. Appl. Environ. Microbiol., 1987,53:2470 ~ 2475
- 43 Luthy RG, Aiken GR, Brusseau ML, Cunningham SD, Gschwend PM, Pignatello JJ, Reinhard M, Traina SJ, Weber WJ, Westall JC. Sequestration of hydrophobic organic-contaminants by geosorbents. Environ. Sci. Technol., 1997,31:3341 ~ 3347
- 44 Mulbry W, Ahrens E, Karns J. Use of a field-scale biofilter for the degradation of the organophosphate insecticide coumaphos in cattle dip wastes. Pesticide Science, 1998,52: 268 ~ 274
- 45 Mulbry WW, Del Valle PL, Karns JS. Biodegradation of the organophosphate insecticide coumaphos in highly contaminated soils and in liquid wastes. Pesticide Science, 1996, 48: 149 ~ 155
- 46 Dott W, Steiof M, Zettler B. Biological degradation of chlorinated aromatics in a pilot-scale water treatment plant. In: Wickramanayake GB, Hinchee RE. eds. Bio-remediation and Phytoremediation: Chlorinated and Recalcitrant Compounds. Columbus, 1998
- 47 李顺鹏, 沈标, 魏社林, 季玉玲. 甲基对硫磷降解菌的生态效应及应用. 土壤学报, 1996, 33 (4): 380 ~ 384
- 48 Fulthorpe RR, Rhodes AN, Tiedje JM. Pristine soils mineralize 3-chlorobenzoate and 2,4-dichloro-phenoxyacetate via different microbial populations. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(4): 1159 ~ 1166
- 49 Gray NCC, Cline PR, Moser GP, Guiler HA, Gray AI, Gannon DJ. Full-scale bioremediation of chlorinated pesticides. In: Leeson A, Alleman BC. eds. Fifth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, 1999, 125 ~ 130
- 50 Spadaro JT, Webb EL, Schmid H, Degher A, Williamson KJ. Bioremediation of soil containing 2,4-D, 2,4,5-T, Dichloroprop, and Silvex. In: Wickramanayake GD, Hinchee RE. eds. Designing and Applying Treatment

- Technologies, Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds. The First International Conference on Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds, 1998, 183 ~ 188
- 51 Ding Keqiang, Luo Yongming, Sun Tieheng, Li Peijun. Bioremediation of soil contaminated with petroleum Uusing forced-aeration composting. *Pedosphere*, 2002, 12 (2): 145 ~ 150
- 52 裘娟萍. 耕地受多效唑农药污染后的再生修复技术. *土壤学报*, 2002, 39 (1): 45 ~ 51
- 53 张卫, 虞云龙, 吴加伦, 李少南, 樊德方. 阿维菌素在土壤中的降解和高效降解菌的筛选. *土壤学报*, 2004, 41 (4): 590 ~ 596
- 54 虞云龙, 潘学冬, 陈英旭. 降解菌HD接种和非接种根围土壤中丁草胺的降解动力学研究. *土壤学报*, 2002, 39 (4): 575 ~ 581

## MICROBIAL REMEDIATION OF PESTICIDE-CONTAMINATED SOIL

LI Shun-peng JIANG Jian-dong

( *Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Microbiological Engineering of  
Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095* )

**Abstract** This paper mainly introduces the status of pesticide pollution of soils and its harm, the past and presence of the researches on microbial remediation, and advancement in research and industrialization of microbial remediation of pesticide-contaminated soil. In the end of the paper, the prospects for bioremediation research is discussed and fields for further study are recommended.

**Key words** Microbial remediation, Pesticide pollution, Soil, Research advancement