

## 硫丹残留及其微生物降解研究进展

竺利红

(浙江省农科院植物保护与微生物研究所, 杭州 310021)

**摘要:** 硫丹是一种广泛应用的有机氯杀虫剂,其残留已造成了严重的环境污染,威胁着人类和动物的健康。简述了硫丹的毒性、应用概况及引起的残留现状,并分析了引起硫丹残留的主要原因。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。回顾了国内外利用微生物降解硫丹的研究进展,包括降解菌种类和作用机理。为使硫丹降解菌真正实现应用,指出了今后应加强高效降解菌的筛选、工程菌的构建、降解菌在污染土壤环境中的微生物生态学等方面的研究。

**关键词:** 硫丹;残留;微生物降解

中图分类号:X592,X172

文献标志码:A

论文编号:2011-0001

### Advance on Endosulfan Residue and its Microbial Degradation

Zhu Lihong

(Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

**Abstract:** Endosulfan, a chlorinated pesticide of the cyclodiene group, is used extensively for the protection of cotton, tea and sugarcane crops. Endosulfan residue has led to the contamination of soil and water environments. It is also a serious threat to human and animal health. The toxicity, application situation and residue of endosulfan were introduced briefly. The residue causes were analyzed too. The degradation of pesticides in soil by microorganism was an effective method. The types of microorganism which degraded endosulfan, the mechanism of degradation were summarized in this paper. To realize a practical application of endosulfan-degrading microorganisms on fields, isolation of highly efficient degrading microorganisms, construction of genetically engineered microorganisms, environmental microbial ecosystem of degrading microorganisms should be enhanced.

**Key words:** endosulfan; residue; microbial degradation

### 0 引言

硫丹是一种高效广谱有机氯杀虫剂,应用于各种农作物已有30年的时间<sup>[1]</sup>。工业硫丹是由 $\alpha$ -硫丹和 $\beta$ -硫丹按照7:3的比例混合而成。由于它对棉铃虫等农作物害虫具有良好的杀虫效果,且难以用其他农药代替,因此被广泛应用。硫丹具有高毒性、持久性、生物累积性和迁移性,目前已造成了土壤和水资源的大面积污染,严重威胁着人类和动物的健康。持久性有机污染物质审查委员会(POPRC)2009年会议中建议在下次会议将硫丹列入斯德哥尔摩公约附录持久性有机污染物(POP)物质名单。出于对环保和健康的考

虑,国内外研究者正在将其研究的重点放到对硫丹残留的微生物降解上<sup>[2]</sup>。笔者主要介绍硫丹残留及其微生物降解等方面的研究进展。

### 1 概述

#### 1.1 硫丹的应用概况

硫丹具有胃毒、触杀和熏蒸作用,主要用于棉花、果树、蔬菜、烟草、茶树等多种作物,防治棉铃虫、蚜虫等多种咀嚼式和刺吸式害虫。1980年到1989年之间全世界硫丹的年均用量大约为1.05万t,在1990年到1999年之间约为1.28万t,2005年硫丹的全球累计用量大约为33.8万t。截止2011年2月,中国登记并在有

**基金项目:** 浙江省自然科学基金“硫丹农药残留降解微生物的筛选及其定殖研究”(Y307034)。

**作者简介:** 竺利红,女,1973年出生,浙江杭州人,副研,硕士,主要从事农用微生物学的研究。通信地址:310021 杭州市石桥路198号 浙江省农科院植物保护与微生物所, Tel: 0571-86404070, E-mail: karen2002@126.com。

**收稿日期:** 2011-01-04, **修回日期:** 2011-03-23。

效期内的硫丹产品有46家农药企业的52个产品,其中原药5个、单制剂28个、混配制剂19个,登记使用范围为棉花、茶叶、苹果树和烟草等作物。

### 1.2 硫丹的毒性

硫丹对高等动物毒性较高,原药大鼠急性毒性经口 $LD_{50}$ 值为22.7~160 mg/kg(雄)、22.7 mg/kg(雌)。按照中国农药毒性分级标准,硫丹原药属高毒级<sup>[3]</sup>。硫丹可经过呼吸道、消化道和皮肤吸收,引起全身各器官功能障碍,尤其以中枢神经系统受累为常见。

硫丹的毒性主要体现在:(1)影响中枢神经系统。各种急性毒性、亚慢性毒性、发育毒性及慢性毒性试验表明,硫丹会导致神经中毒,特别是会出现痉挛现象,这可能是由于中枢神经系统受到了过度刺激所造成的。急性接触高剂量的硫丹会导致多动症、肌肉震颤、共济失调和痉挛。(2)生殖毒性。硫丹具有内分泌干扰作用。对于暴露于硫丹的生物,已观察到的结果包括两栖类发育受损、鱼类皮质醇分泌减少、鸟类泄殖腔发育受损以及激素水平降低、哺乳动物睾丸萎缩和精子产量减少<sup>[4-5]</sup>。鉴于此,硫丹已被美国环保局列入环境中129种优先控制的污染物。(3)遗传毒性。Bajpayee等<sup>[6]</sup>发现,接触亚致死剂量的硫丹及其代谢物会导致细菌和哺乳动物细胞的DNA破坏和突变。(4)影响免疫功能。研究发现硫丹能抑制小鼠红细胞免疫粘附能力和红细胞对T淋巴细胞的正向调节功能,降低血浆中红细胞天然免疫促进因子活性。

## 2 硫丹的残留

研究表明,施用农药后,仅有1%~2%的药作用于防治对象本体,有10%~20%附着在作物本体上,其他80%~90%的农药主要散落在农作物的周边环境,如农田、土壤或漂浮于大气,与尘埃吸附形成气溶胶,经过一段时间的降解、代谢等作用后,其含量会降低到一定的水平。通常把残存在环境中生物体内的微量农药称作残留农药,它包括农药原体残留量及其具有比原体毒性更高或相当毒性的降解物的残留量。

### 2.1 硫丹的残留概况

硫丹的大量使用使得其残留部分通过环境和土壤中进入农产品和食品中,通过环境和食物进入人体和动物体内而造成严重的危害。2006年7月,日本从中国广东出口的活鳗中检测出硫丹残留超标,数十吨鳗鱼被遣返,广东输日活鳗鱼曾一度暂停。硫丹对鱼有毒性作用,一般不作为鱼药使用。在水产品中检出硫丹残留,据专家分析,可能是由于水源受硫丹污染,硫丹在水中很快被污泥和水生生物吸附,继而造成养殖环境污染和水产品中的残留超标。长期使用硫丹已经

对人类和大多数动物的健康造成了严重危害。据报道,在印度喀拉拉邦的卡塞咯达地区Padre村,由于长期大量喷施硫丹防治腰果种植园的害虫,居住在种植园附近的村民承受着多种疾病的折磨。当地一位医生对400多个家庭进行调查发现,有156人(青少年和儿童比例较大)患有癌症、癫痫症、中枢神经紊乱、先天性畸形和自杀倾向等严重疾病,周围环境中的鱼、蜜蜂、青蛙、鸟类、鸡、牛的死亡率升高<sup>[4]</sup>。

由硫丹残留带来的危害大致可归结为4个方面。(1)有益生物被杀伤,控制作用减弱。(2)害虫抗药性增加,防治成本提高,对环境的污染进一步加重。(3)农副产品中的农药残留量增加,危害动物和人体健康。(4)污染土壤、大气和水源,严重破坏生存环境。

### 2.2 硫丹残留的原因分析

造成环境中硫丹高残留的主要原因是硫丹性质稳定,进入环境后具有较高的持久性。硫丹在土壤中的半衰期一般为9个月左右,是一种难降解的杀虫剂。另外,硫丹会在植物和土壤中氧化并主要形成硫丹硫酸酯和硫丹二醇,其中,硫丹硫酸酯与母体化合物毒性相当,但是残效期更长,其半衰期为9个月到6年左右。另一方面,在水生、陆生生态系统中,硫丹具有生物累积性。生物累积性是指亲脂疏水性的持久性有机污染物,易于进入生物体的脂肪组织,并且积累浓度会随着食物链的延长而升高,即生物放大作用。研究发现生物放大作用可使最高级的捕食者体内的污染物浓度比环境中的浓度高很多数量级。生物种类及其所处的地域环境均能影响硫丹的生物累积性,已报告的各种水生生物体中测得的硫丹生物浓缩系数(BCF)差异较大,如在牡蛎和双壳贝体内,BCF最低小于100,而其他针对淡水鱼和海鱼的研究则显示BCF在2400~11000之间<sup>[3,7]</sup>。一项户外水生微生物生态系统研究从澳大利亚的康斯坦茨湖的一个大型浅水自然保护区收集沉积物和生物群,发现在研究期间,放射性标记的硫丹在沉积物、大型水生植物和鱼体内残留总量不断增加,表明硫丹及其代谢物具有在鱼和大型水生植物内进行生物累积的潜力。最后,硫丹具有迁移性。硫丹的远距离迁移性使得南、北极的生物体内都检测到了硫丹的存在。欧洲空气污染物长程飘移检测和评价(EMEP)东部气象合成中心最新的模型数据显示当硫丹从中欧地区释放后有可能传播到格林兰的北大西洋地区<sup>[9]</sup>。

硫丹残留问题已引起人们的普遍关注。寻找有效的降解方式、解决其残留问题是科学家需要面对、亟待解决的重要课题。

### 3 硫丹的微生物降解

农药的降解可分为生物降解和非生物降解2种方式。在光、热及化学因子作用下发生的降解现象为非生物降解,在动植物体内或微生物体内外的降解作用属生物降解。生物降解主要是微生物降解,在农药降解中占据了主导地位。

#### 3.1 硫丹降解菌的种类

国外的研究人员早在20世纪70年代就展开了利用微生物降解硫丹的研究,分离到了一批硫丹降解菌,但降解的效果不太理想。直到20世纪90年代,硫丹的微生物降解又重新引起了研究人员的关注<sup>[8]</sup>。研究人员分别从硫丹污染的土壤、污泥、农田等环境中分离出了多株硫丹降解真菌和细菌如 *Pseudomonas aeruginosa*<sup>[9]</sup>、*Klebsiella oxytoca* KE-8<sup>[10]</sup>、*P. spinosa*<sup>[11]</sup>、*P. aeruginosa*<sup>[11,16]</sup>、*Burkholderia cepacia*<sup>[11]</sup>、*Aspergillus terreus*<sup>[12]</sup>、*Cladosporium oxysporum*<sup>[12]</sup>、*Pleurotus pulmonarius*<sup>[13]</sup>、*Phanerochaete chrysosporium*<sup>[14]</sup>、*Chaetosartorya stromatoides*<sup>[15]</sup>、*Aspergillus terricola*<sup>[15]</sup>、*A. terreus*<sup>[15]</sup>、*Mycobacterium* ESD<sup>[17]</sup>、*Bordetella* sp. B9<sup>[18]</sup>、*Ochrobacterum* sp. C7<sup>[19]</sup>。研究人员对这些微生物的降解性能进行了详细的研究,其中菌株 *Pseudomonas aeruginosa*、*P. spinosa*、*P. aeruginosa*、*Burkholderia cepacia*、*Chaetosartorya stromatoides*、*A. terricola*、*A. terreus*等能利用硫丹作为唯一硫源进行生长,菌株 *K. oxytoca* KE-8、*B. sp.* B9、*O. sp.* C7等能利用硫丹作为唯一的碳源进行生长。但是到目前为止还没有报道降解菌能同时利用硫丹作为唯一的硫源和碳源生长。有研究发现,降解菌在以硫丹作为唯一碳源的情况下,其降解率高于培养基中添加葡萄糖作为额外碳源的处理组,因为葡萄糖与硫丹相比,更易被微生物作为能源利用<sup>[18]</sup>。还有研究发现 *Phanerochaete chrysosporium*的代谢产物在硫丹的降解中相比菌本身起着更为重要的作用<sup>[14]</sup>,菌株 *O. sp.* C7的粗酶液也对硫丹有较好的降解效果。研究表明,一些酶比产生这类酶的微生物菌株更能忍受异常的环境条件,因此用微生物所产生的酶来降解硫丹而不是直接使用微生物菌株,将会有更广阔的应用前景。

#### 3.2 硫丹的微生物降解机理

微生物降解硫丹主要通过2条途径<sup>[8]</sup>。(1)氧化途径,即硫丹经过氧化生成硫丹硫酸酯。较早的研究以为硫丹硫酸酯是无法进一步降解的,后来 Gi-Seok Kwon等<sup>[10]</sup>分离到了能同时降解硫丹和硫丹硫酸酯的菌株 *K. oxytoca* KE-8,KE-8能在6天的时间内能将176 mg/L的硫丹硫酸酯降解61%,其代谢产物为硫丹

二醇。(2)是水解途径,主要指在碱性条件下,硫丹经水解生成硫丹二醇。通过水解途径生成的硫丹二醇可以进一步被降解成硫丹单醛、硫丹醚和硫丹内酯等<sup>[20]</sup>。有的微生物对硫丹的降解也可能同时存在氧化和水解2种途径<sup>[10,21]</sup>。

微生物对 $\alpha$ -硫丹和 $\beta$ -硫丹这2种异构体的降解速度不同,在土壤微生态系统中 $\alpha$ -硫丹比 $\beta$ -硫丹更易被降解<sup>[22-23]</sup>,然而在液体培养基中, $\beta$ -硫丹比 $\alpha$ -硫丹更易被降解<sup>[24-25]</sup>。其降解效果的差异可能由于不同异构体的挥发性、光解性、碱水解性和生物代谢性不同<sup>[26]</sup>,另外由降解菌释放出的分解酶可能对于其中一种异构体的作用更为活跃<sup>[27]</sup>。

### 4 展望

因具有高效、安全、成本低、无二次污染等特点,利用微生物降解农药已成为一种最具有发展前景的环境污染修复方式。目前,对于微生物降解硫丹的研究正方兴未艾,多种降解菌株(包括细菌、真菌等)也相继被分离和鉴定,但是目前大部分的工作还只局限于实验室,应用微生物进行硫丹降解的实际应用却往往由于其较低的降解效率而受到影响。造成这种局面的主要原因是农药污染环境的化合物和微生物组成复杂,污染环境的温度、湿度及pH波动较大,这些因素都将极大地影响降解菌在污染环境中的生长和降解效率;另外降解菌易发生变异,导致降解能力的丧失。中国的利用微生物降解硫丹研究还处于起步阶段,与发达国家相比还存在较大的差距。

在今后一段时间内,硫丹的微生物降解研究可在以下5个领域进一步展开。

(1)硫丹高效降解微生物菌株的进一步筛选。目前筛选到的降解菌多是利用硫丹作为唯一硫源或唯一碳源生长,还没有报道降解菌能同时利用硫丹作为唯一的硫源和碳源生长。自然界中微生物资源非常丰富,如筛选到能同时以硫丹作为唯一的碳源和硫源生长的菌株,则降解效果将会有明显的突破。

(2)通过遗传工程,构建高效降解农药的微生物菌株。存在于自然条件下的微生物菌株,在农药的选择压力下,相互间的同源基因也存在着遗传交换和重组,从而形成新的农药降解途径,但是这种概率极低。通过基因工程技术,将硫丹降解酶基因或降解质粒克隆到合适的宿主菌中并使其高效表达,构建降解谱广、降解彻底的工程菌,这对于提高降解的效率具有重要意义,这一领域已经成为当今环境生物技术的研究热点。

(3)展开降解菌在污染土壤环境中的微生物学研究,包括不同的土壤有机质、湿度、温度、pH及土壤固

有微生物种类等因素对降解菌的作用效果评价,可为降解菌的实际应用提供理论依据。

(4)研究不同种类农药降解功能的微生物菌株混合发酵或混合使用技术。因为污染的土壤中往往含有一到几种农药残留物,需要不同功能的降解菌共同作用才能达到环境修复的目的。

(5)展开微生物降解与理化方法结合的综合修复技术的研究。这些问题的解决,必将推动硫丹残留的微生物降解研究进入更高的领域,真正解决好环境中的硫丹污染问题。

### 参考文献

- [1] Sutherland T D, Horne I, Lacey M J, et al. Enrichment of an endosulfan-degrading mixed bacterial culture[J]. Applied and Environmental Microbiology,2000,66(28):22-28.
- [2] Kumar K, Devi S S, Krishnamurthi K, et al. Enrichment and isolation of endosulfan degrading and detoxifying bacteria[J]. Chemosphere,2007,68(3):17-22.
- [3] 李富根,张文君,王以燕.硫丹的使用风险和管理动态[J].农药,2009,48(7):542-544.
- [4] 张百臻.长期使用硫丹可能对人身健康和生态环境造成严重危害[J].农药科学与管理,2002,23(5):35.
- [5] 孙平,熊建利,朱文文.环境雌激素硫丹对根田鼠(*Microtus oeconomus*)生殖毒性效应[J].生物学通报,2010,45(2):43-45.
- [6] Bajpayee M, Pandey A K, Zaidi S, et al. DNA damage and mutagenicity induced by endosulfan and its metabolites[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2006,47(9):682-692.
- [7] Weber J, Halsall C J, Muir D, et al. Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic [J]. Science of the Total Environment,2010,408(15):2966-2984.
- [8] 李文.硫丹降解菌的筛选、鉴定及降解机理研究[D].泰安:山东农业大学,2008:1-81.
- [9] Hussain S, Arshad M, Shaharoon B, et al. Concentration dependent growth/non-growth linked kinetics of endosulfan biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology,2009,25(5):853-858.
- [10] Kwon Gi-Seok, Sohn Ho-Yong, Shin Kee-Sun. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2005(67):845-850.
- [11] Hussain S, Arshad M, Saleem M. Biodegradation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan by soil bacteria[J]. Biodegradation,2007,18(6):731-740.
- [12] Mukherjee I, Mittal A. Bioremediation of Endosulfan Using *Aspergillus terreus* and *Cladosporium oxysporum*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,2005(75):1034-1040.
- [13] Hernandez-Rodriguez D, Sanchez J E, Nieto M G. Degradation of endosulfan during substrate preparation and cultivation of *Pleurotus pulmonarius*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2006(22):753-760.
- [14] Kim Y K, Kim S H, Choi S C. Kinetics of endosulfan degradation by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Biotechnology Letters,2001 (23):163-166.
- [15] Hussain S, Arshad M, Saleem M. Screening of soil fungi for in vitro degradation of endosulfan[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology,2007,23(7):939-945.
- [16] Arshad M, Hussain S, Saleem M. Optimization of environmental parameters for biodegradation of alpha and beta endosulfan in soil slurry by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Applied Microbiology,2008,104(2):364-370.
- [17] Sutherland T D, Horne I, Harcourt. Isolation and characterization of a *Mycobacterium* strain that metabolizes the insecticide endosulfan [J]. Journal of Applied Microbiology,2002,93(3):380-389.
- [18] Supriya G, Dileep K S. Biodegradation of  $\alpha$  and  $\beta$  endosulfan in broth medium and soil microcosm by bacterial strain *Bordetella* sp. B9[J]. Biodegradation,2009(20):199-207.
- [19] 李文,彭香,张京顺.硫丹降解菌的筛选及降解性能研究[J].山东农业科学,2009(1):67-70.
- [20] Kullman S W, Matsumura F. Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan[J]. Journal of Applied Microbiology,1996(62):593-600.
- [21] Sutherland T D, Horne I, Lacey M J, et al. Enrichment of an endosulfandegrading mixed bacterial culture[J]. Journal of Applied Microbiology,2000(66):2822-2828.
- [22] Rao D M R, Murty A S. Persistence of endosulfan in soils[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1980(28):1099-1101.
- [23] Kwon G S, Kim J E, Kim T K, et al. *Klebsiella pneumoniae* KE-1 degrades endosulfan without formation of the toxic metabolite, endosulfan sulfate[J]. FEMS Microbiology Letters,2002,215(2):255-259.
- [24] Siddique T, Benedict C O, Muhammad A, et al. Biodegradation kinetics of endosulfan by *Fusarium ventricosum* and a *Pandoraea* sp.[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2003(51):8015-8019
- [25] Kumar K, Devi S S, Krishnamurthi K, et al. Enrichment and isolation of endosulfan degrading and detoxifying bacteria[J]. Chemosphere,2007,68(3):479-488.
- [26] Cotham W E, Bidleman T F. Degradation of malathion, endosulfan and fenvalerate in seawater and seawater/sediment microcosms[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1989(37):824-828.
- [27] Kumar M, Philip L. Enrichment and isolation of a mixed bacterial culture for complete mineralization of endosulfan[J]. Journal of Environmental Science and Health(Part B),2006(41):81-96.