

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2019062705

王新, 倪子钧, 李兆兴, 等. 磺酰脲类除草剂的微生物降解研究进展[J]. 环境化学, 2020, 39(5): 1356-1367.

WANG Xin, NI Zijun, LI Zhaoxing, et al. Research progress on microbial degradation of sulfonylurea herbicides[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(5): 1356-1367.

磺酰脲类除草剂的微生物降解研究进展*

王新^{1**} 倪子钧¹ 李兆兴¹ 宋磊¹ 鲍佳¹ 张惠文²

(1. 沈阳工业大学理学院, 沈阳, 110870; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳, 110072)

摘要 磺酰脲类除草剂属于高效、低毒、高选择性的新型除草剂, 被广泛应用于水稻、玉米、小麦、大豆等田间杂草的防控, 其用量也呈逐年增加的趋势, 但其微量的除草剂残留易对后茬敏感作物产生药害。利用微生物降解土壤中的除草剂残留有望成为一种修复污染的有效方法。本文综述了近几年国内外筛选出的能够降解磺酰脲类除草剂菌株的来源和所属微生物类群, 以及除草剂降解酶的研究进展, 此外, 对相关微生物对不同除草剂的降解途径也进行了简要介绍, 最后提出了目前有待解决的问题并对未来该领域的研究趋势进行了展望, 可为后续寻找高效的微生物降解菌种及利用基因工程法修复受污染的土壤、水源提供参考。

关键词 磺酰脲类除草剂, 微生物降解, 降解途径。

Research progress on microbial degradation of sulfonylurea herbicides

WANG Xin^{1**} NI Zijun¹ LI Zhaoxing¹ SONG Lei¹ BAO Jia¹ ZHANG Huiwen²

(1. School of Science, Shenyang University of Technology, Shenyang, 110870, China;

2. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang, 110072, China)

Abstract: Sulfonylureas are a group of novel herbicides with high efficiency, low toxicity and high selectivity, which has been widely used in rice, corn, wheat and soybean fields for the control of weeds, and their application dosages have been increased year by year. However, the trace residues of sulfonylurea herbicides in soil can cause phytotoxicity to sensitive succeeding crops. Degradation of herbicides by microorganisms would be an effective method for bioremediation of the polluted soils. The sources of degrading strains, the species of microorganism that can degrade sulfonylurea herbicides, as well as the research progress of degradation enzyme both in China and abroad in recent years were reviewed. In addition, the degradation pathways of different kinds of sulfonylurea herbicides by related degrading strains were briefly introduced. Finally, the problems that need to be solved were put forward and the future research trends in this field were prospected, which can provide references for seeking efficient degrading microorganisms and genetic engineering methods to repair sulfonylureas-contaminated soil and water environments.

Keywords: sulfonylurea herbicide, microbial degradation, degradation pathways.

磺酰脲类除草剂是在 20 世纪 70 年代后期开发的^[1], 因其活性高, 用量低, 杀草谱广, 选择性强等特

2019 年 6 月 27 日收稿 (Received: June 27, 2019).

* 国家自然科学基金 (31670515) 和国家重点研发计划项目 (2017YFD0800702) 资助。

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31670515) and the National Key R&D Program of China (2017YFD0800702).

** 通讯联系人, Tel: 13555875766, E-mail: wangxin110870@sut.edu.cn

Corresponding author, Tel: 13555875766, E-mail: wangxin110870@sut.edu.cn

点^[2-3],在世界范围内被广泛使用,多用于防除水田,旱地,园林,森林防火,隔离带及非耕地等地的杂草及有害植物.迄今为止,市场上已有超过 50 种磺酰脲类除草剂^[1],其销售额在全世界除草剂市场中占 11%.我国常用的有烟嘧磺隆、苯磺隆、苄嘧磺隆、氯嘧磺隆、吡嘧磺隆等,但是,由于磺酰脲类除草剂具有低挥发性,慢光解性和较强的淋溶性,使它们在土壤中具有较高的迁移率^[4-6],易对土壤及周边水体造成污染,损害农作物的轮作并影响水生生态系统稳定性^[7-9].

众多研究证明,微生物降解是解决磺酰脲类除草剂对环境污染的主要途径之一,但目前大多数学者仅是详述了降解菌的分离及其降解特性,未对降解微生物的降解机理、所得产物及降解酶的筛选应用进行对比和总结,因此,文章对近几年所发现的能够降解磺酰脲类除草剂的菌株来源途径及科研人员对降解菌中的降解酶和相关降解基因的开发和应用进行了综述,提出了该领域目前存在的问题并就发展趋势进行了展望,同时就磺酰脲类除草剂的微生物降解途径研究概况进行了分类介绍.

1 降解微生物获得途径 (Access to degradation microorganisms)

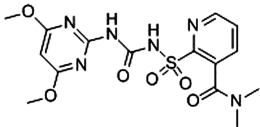
微生物在除草剂降解中发挥着重要的作用,目前获得降解菌株的途径主要有两个:一是从现有的保藏菌株中进行筛选;二是从微生物资源丰富的土壤、水体或受污染的环境中富集筛选分离得到.大多数降解菌主要采用第二种途径获取,采用富集筛选方法获得目标菌种的方法主要有以下 4 种.

1.1 从污染样品中采样富集

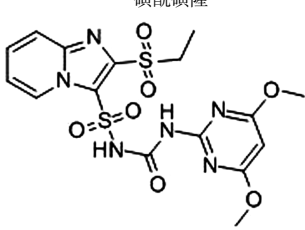

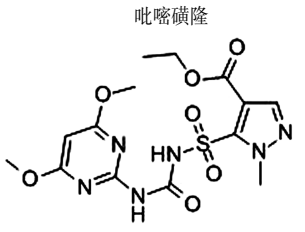
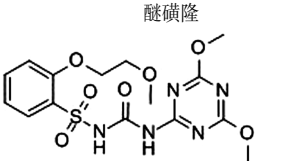
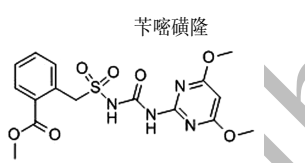
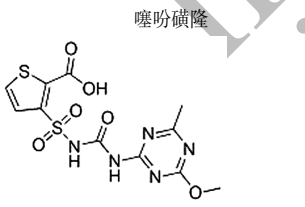
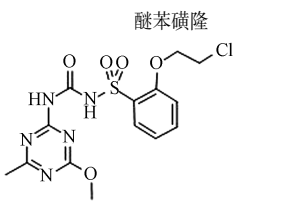
即从受污染的生态系统中收集样品,人为添加污染物进行富集培养,目前为止,研究人员已从土壤、沼泽、水体、废水处理池等受除草剂污染的环境介质中筛选出大量可降解除草剂的微生物,表 1 列举了本文提及的所有不同种类的磺酰脲除草剂及能降解该除草剂的菌株类别和来源和最适降解条件及降解率,方便查阅和比较.

表 1 可降解磺酰脲类除草剂的微生物种类、来源及其降解特性

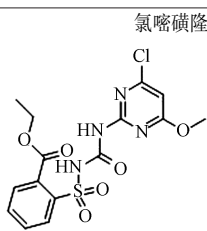
Table 1 Categories and sources of sulfonylurea herbicides degrading microorganisms and its degradation characteristics

除草剂名称及结构 Name and structure of herbicides	微生物 Microorganisms	来源 Source	降解条件 Degradation conditions	降解率及出处 Degradation rate and source
	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> NSA02	土壤	pH 7.0, 30 °C, 培养 6 d, 农药初始浓度 50—300 mg·L ⁻¹	>90% ^[17]
	<i>Klebsiella</i> sp. Y1	人工湿地	pH 7.0, 35 °C, 培养 5 d, 农药初始浓度 20—100 mg·L ⁻¹	>58.3% ^[18]
	<i>Bacillus subtilis</i> YB1	农药厂污水	30 °C, 培养 5 d, 农药初始浓度 2 mg·kg ⁻¹	86.2% ^[22]
	<i>Aspergillus niger</i> YF1	农药厂污水	pH 6.5, 培养 7 d, 30 °C, 葡萄糖浓度 5 g·L ⁻¹ , 农药初始浓度 100 mg·L ⁻¹	>80% ^[23]
	<i>Oceanisphaera</i> sp. LAM-WHM-ZC	海洋沉积物	培养 15 d, 农药初始浓度 20 mg·kg ⁻¹	73.7% ^[25]
	<i>Pseudomonas</i> sp. YN-8	活性污泥	pH 7.0, 5% 接种量, 培养 7 d, 30 °C, 药剂初始浓度 100 mg·L ⁻¹	64.5% ^[26]
	<i>Serratia marcescens</i> N80	活性污泥	培养 4 d, 药剂初始浓度 10 mg·L ⁻¹	93.6% ^[28]
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> SG-1	土壤	28 °C, 培养 1 d, 一定量葡萄糖, 药剂初始浓度 412 mg·L ⁻¹	77.5% ^[19]
	<i>Bacillus cereus</i> YQ14	土壤	30 °C, 培养 5 d, 药剂初始浓度 5 mg·L ⁻¹	84.3% ^[34]

续表1

除草剂名称及结构 Name and structure of herbicides	微生物 Microorganisms	来源 Source	降解条件 Degradation conditions	降解率及出处 Degradation rate and source
磺酰磺隆 	<i>brevibacillus choshinensis</i>	土壤	pH 7.0, 37 °C, 培养 20 h 药剂初始浓度 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	48.7% ^[12]
	<i>Streptomyces albogriseolus</i>	土壤	pH 8.0, 37 °C, 培养 20 h 药剂初始浓度 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	33.8% ^[12]
苯磺隆 	<i>Bacillus</i> sp.BS2	土壤	—	— ^[10]
	<i>Pseudomonas</i> sp. NyZ42	土壤	30 °C, 培养 4 d, 药剂初始浓度 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	80% ^[11]
吡啶磺隆 	<i>Acinetobacter</i> sp. CW17	土壤	pH 7.0, 30 °C, 培养 7 d 药剂初始浓度 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	77% ^[13]
醚磺隆 	<i>Kurthia</i> LAM0713	沼液	pH 6.9, 31.8 °C, 培养 5 d 药剂初始浓度 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	92.4% ^[21]
苜蓿磺隆 	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 75B	土壤	pH 7.0, 培养 10 d, 5%接种量, 34 °C, 药剂初始浓度 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	97.65% ^[15]
噻吩磺隆 	<i>Pseudomonas syringae</i> LXL-3	土壤	pH 7.0-7.5, 25-30 °C, 培养 48 h 药剂初始浓度 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	>81% ^[16]
	<i>Ochrobactrum</i> sp. ZWS16	土壤	pH 7.0, 培养 10 d, 5%接种量, 40 °C, 药剂初始浓度 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	99.5% ^[20]
醚苯磺隆 	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MB-1	活性污泥	葡萄糖浓度 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 培养 3 d, 1%接种量, 药剂初始浓度 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	75% ^[27]

续表1

除草剂名称及结构 Name and structure of herbicides	微生物 Microorganisms	来源 Source	降解条件 Degradation conditions	降解率及出处 Degradation rate and source
 氯嘧磺隆	<i>Rhodococcus</i> sp. D310-1	活性污泥	pH 6.03, 28.13 °C, 1.94%接种量, 培养 5 d, 药剂初始浓度 100.23 mg·L ⁻¹	88.95% ^[29]
	<i>Enterobacter</i> sp. D310-5	活性污泥	pH 6.63, 30.25 °C, 培养 5 d 药剂初始浓度 101.57 mg·L ⁻¹	87.57% ^[30]
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	排污口污泥	pH 6.0, 2.5%接种量, 培养 30 d, 25 °C, 药剂初始浓度 10 mg·kg ⁻¹	90.74% ^[31]

注: — 文献中未提及。 — Not mentioned in literature.

1.1.1 从土壤中筛选

王楠希^[10]从土壤中筛选出一批具有降解苯磺隆效能的菌株,并从中选取一株芽孢菌属 BS2 对受苯磺隆污染的土样进行修复,获得了良好的降解效果.Zhang 等^[11]从农业土壤中分离出假单胞菌属 NyZ42,当以葡萄糖或琥珀酸盐作为补充碳源时,菌株对初始浓度为 200 mg·L⁻¹的苯磺隆的降解效率约为 80%.Arya 等^[12]在田间土壤中分离出可在 10—20 h 内有效降解磺酰脲类除草剂的两种菌株,分别归属于短杆菌和白色链霉菌.Wang 等^[13]在生产吡嘧磺隆工厂附近的污染土壤中筛选出一株不动杆菌属菌株 CW17,对初始浓度为 5.0、20.0、50.0 mg·L⁻¹的吡嘧磺隆去除率分别为 48.0%、77.0%、32.6%.Carles 等^[14]从玉米农田中筛选出巨大芽孢杆菌 Mes11,在降解 3 种不同种类的除草剂发现, Mes11 能够同时降解 β -triketone 和磺酰脲类的除草剂.陈森等^[15]从长期施用苄嘧磺隆的稻田土壤中分离到 1 株肺炎克雷伯氏菌 75B,培养至 10 d 时对 50 mg·L⁻¹的除草剂去除率为 97.65%,表明 75B 菌株可以有效地降解苄嘧磺隆.李晓楼等^[16]从长期使用噻吩磺隆的农田土壤中筛选到 1 株高效降解菌 LXL-3,可在 48 h 内降解 100 mg·L⁻¹的噻吩磺隆达 81%以上,鉴定为丁香假单胞菌.

烟嘧磺隆是磺酰脲类除草剂中最重要的品种之一,在我国施用地区也较为广泛,对烟嘧磺隆的降解研究也是最为深入的.Zhao 等^[17]从污染土壤中筛选出一株假单胞菌硝酸还原菌的细菌菌株 NSA02 用于降解烟嘧磺隆,在温度 30 °C 和 pH 7.0 的条件下,对含烟嘧磺隆除草剂浓度为 50—300 mg·L⁻¹的土壤中,接种该菌株土壤的降解率比未接种土壤高 5—6 倍.Wang 等^[18]从人工湿地土壤中分离到一株克雷伯氏菌 Y1,在含葡萄糖的液体培养基中 5 d 内可对浓度为 20—100 mg·L⁻¹的烟嘧磺隆降解率达到 58.3%以上,研究发现这株克雷伯氏菌利用葡萄糖产酸降解烟嘧磺隆.Carles 等^[19]在施用过烟嘧磺隆的农业土壤中分离得到荧光假单胞菌细菌 SG-1,在葡萄糖的存在下该菌株能降解 77.5%的浓度为 412 mg·L⁻¹的烟嘧磺隆.Zhao 等^[20]从污染的土壤中分离出白杆菌属菌株 ZWS16,该菌株表现出广泛的降解谱,能够降解噻吩磺隆,以及其他 5 种磺酰脲类除草剂,对于初始浓度为 50 mg·L⁻¹的噻吩磺隆,在 40 °C 下 10 d 内的最大生物降解率为 99.5%.

1.1.2 从水体中筛选

阮志勇^[21]从规模化工程沼液中分离得到能以醚磺隆为唯一氮源进行生长的降解菌株 LAM0713,属于库特氏属.土壤模拟降解实验结果表明,该菌株在 15 d 内对初始浓度为 50 mg·kg⁻¹醚磺隆的去除率为 79.7%.杨亚君等^[22]从长期受烟嘧磺隆污染的水体中分离得到 5 株具有降解能力的菌株,其中 3 株菌种降解率较高,分别编号为 YF1、YB1、YB2,经鉴定 YF1 为真菌黑曲霉,YB1 和 YB2 均为细菌芽孢杆菌.其中真菌 YF1 可在 5d 内完全降解初始浓度为 2 mg·L⁻¹的烟嘧磺隆,细菌 YB1 在 5 d 内的降解率为 86.2%.贾志宁等^[23]优化了黑曲霉 YF1 的降解条件,并研究了黑曲霉的降解特性.张哲等^[24]将芽孢杆菌 YB1 固体发酵产物进行颗粒剂加工,研究了 YB1 颗粒剂对土壤中烟嘧磺隆的降解效果.28 d 后可将土壤中 1 mg·kg⁻¹的烟嘧磺隆降解至对农作物无明显药害水平.周珊^[25]从海底沉积物中和酒厂窖泥中各筛选出一株高效烟嘧磺隆降解菌,分别为大洋球形菌 LAM-WHM-ZC 和芽孢杆菌 LAM0415,利用 LAM-WHM-ZC 修复烟嘧磺隆污染土壤时,在 15 d 内对底物浓度为 20 mg·kg⁻¹的污染土样中除草剂的降解率为 73.7%,同时可降解多种磺酰脲类除草剂.

1.1.3 从废水处理池中筛选

代鹏飞等^[26]在农药厂废水处理系统的活性污泥中筛选到一株能以烟嘧磺隆为唯一碳源生长的假单胞菌属 YN-8, 在培养 7 d 后, 对底物浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的烟嘧磺隆降解率为 65.4%。肖烜等^[27]也从含醚苯磺隆的活性污泥中分离得到一株能以葡萄糖为共代谢基质对醚苯磺隆进行共代谢的铜绿假单胞菌 MB-1。Zhang 等^[28]通过对工业废水处理池中污泥富集培养, 分离出一株高效的烟嘧磺隆降解菌 N80, 鉴定为粘质沙雷氏菌, 可在 4d 内降解 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 初始浓度的烟嘧磺隆达 93.6%, 同时能降解其他磺酰脲类除草剂。Li 等^[29-30]同样从农药厂的活性污泥中筛选出一株对浓度为 $100.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯嘧磺隆降解率达 88.95% 的红球菌 D310-1, 检测出 8 种代谢产物。还筛选到一株肠杆菌属菌种 D310-5, 优化降解条件后, 在底物浓度为 $101.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.63, 温度 $30.25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下培养 5 d 后该菌株对氯嘧磺隆去除效率为 87.57%。王海兰等^[31]采用富集培养法从污水排污口污泥中分离出一株胶红酵母菌, 降解干土中初始浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 氯嘧磺隆达 90.74%。

以上对降解菌株的研究报道中, 可以看出不同的环境介质下均可以分离出有效的微生物, 相比于真菌, 细菌的种类和数量较多, 可能是由于细菌具有较强的适应性或容易诱发突变。在进行菌株的降解特性研究时, 大部分高效降解菌的降解底物浓度不高, 对其他种类除草剂的降解效果未知, 只有少量菌株对高浓度污染物和其他类别的除草剂有较高的降解效果^[17, 19-20, 25], 因此应加强对能处理高浓度污染物以及能够同时降解其他污染物的微生物的筛选, 以扩大菌株的适用范围。

1.2 定向培育法

该方法是为人为用某一特定环境条件长期处理某一微生物群体, 同时将它们不断进行接种传代, 以达到累积和选择合适的自发突变体的一种育种方法, 包磊等^[32]通过摇瓶驯化培养, 筛选得到一株降解氯嘧磺隆效果显著的巨大芽孢杆菌 E-1。Arabet 等^[33]从土壤中驯化分离得到一株嗜麦芽芽孢单胞菌 T4, 可以降解当地常用的磺酰脲类除草剂。齐萌^[34]对 3 种土壤进行驯化, 筛选出 8 株能降解烟嘧磺隆的菌株, 对降解效果最好的菌株 YQ14 进行降解条件优化, 发现在温度为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、农药初始浓度 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下培养 5 d 后烟嘧磺隆降解率为 84.3%, 鉴定该菌株为蜡样芽孢杆菌。

1.3 化学诱导法

用诱变的方法对现有菌株进行诱变处理, 使菌株发生突变, 从中挑选降解率最高的突变体作为优选菌株的方法, 常用的诱变方法包括: 紫外诱变、化学诱变以及定向进化等方法。翟雨淋^[35]对筛选所得的 Co6 降解菌进行单次的紫外诱变和化学诱变后, 所获得的的两株诱变菌对苄嘧磺隆的降解效果相比于原菌株均有所提高。陶波等^[36]采用紫外诱变方法对黑曲霉进行诱变, 所获菌株降解能力明显提高, 对 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的氯嘧磺隆降解能力比原始菌株提高 73.16%, 且连续培养 10 代后降解性能及生长速度均稳定, 可以稳定遗传。

1.4 多菌株复合体系

由于农药类型的不断发展和农田施用农药的多样性, 使得环境中的农药残留更加复杂, 采用只能降解单一农药类型的菌株效率并不高。研究表明, 单个菌种并不具备生物降解所需的全部降解酶的合成遗传信息^[37], 因此可以构建多菌株复合体系, 利用不同种类微生物之间的协同作用, 实现对农药的高效降解。陶波等^[38]研究了真菌黑曲霉、青霉及 F8、F31 酿酒酵母对含浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 氯嘧磺隆土壤的降解特性, 其中黑曲霉降解能力最强, 在进行二元复合处理能力研究时发现 F31 和黑曲霉混合后的降解率可达 86.43%, 再在二元复合基础上加入少量青霉可进一步提高降解效果。

2 微生物降解酶和降解基因在磺酰脲类除草剂降解中的应用 (Application of microbial degrading enzymes and degrading genes in the degradation of sulfonylurea herbicides)

微生物对农药的降解主要是通过其产生的降解酶实现的, 运用微生物分离筛选技术获得有降解能力的微生物资源, 进而获取其降解酶和降解酶基因, 是比用微生物本身进行农药修复更为有效的方法。目前对磺酰脲类除草剂的降解酶及基因研究已有报道。

Song 等^[39]从活性污泥中分离得到一株真菌黄蓝状菌 LZM1, 并纯化得到黄素依赖型单加氧酶, 降解试验表明, 该酶对烟嘧磺隆具有显著的降解作用, 但需要有辅酶或辅因子维持其活性。Lu 等^[40]从甲磺隆

降解菌 XJ-412-1 中获得了一种羧酸酯酶,初步分析了该酶在磺酰脲类除草剂脱酯化中的作用.Kang 等^[41]纯化来自枯草芽孢杆菌 YB₁ 的 3 种烟嘧磺隆降解酶并克隆它们的基因,其中一种降解酶能够去除 57.5% 的烟嘧磺隆.赵卫松等^[42]发现粪产碱杆菌 ZWS11 菌株中对烟嘧磺隆起主要降解作用的胞外粗酶液,对底物浓度为 10 mg·L⁻¹ 的烟嘧磺隆降解率达 87.4%.阮志勇^[21]从降解菌株 LAM0713 中分离克隆得到了一个酯酶基因 *Sue*,经过 IPTG 的诱导,成功实现了重组 SUE 蛋白的高水平表达,SUE 蛋白在 15 min 内对 50 mg·L⁻¹ 的烟嘧磺隆降解率为 43.2%.周珊^[25]从大洋球形菌 LAM-WHM-ZC 克隆出酯酶基因 *e3*,通过对降解酶 E3 的酶活性、温度、pH、金属离子等进行研究,发现 E3 适用性较宽,对烟嘧磺隆降解效果较好.

目前对降解酶的研究较多,主要集中在降解酶的降解性能测定上,并未涉及与其相关的降解步骤,而对参与具体降解的酶的种类及特性也未具体阐述.降解基因的研究报道不多,因此加大相关方面的研究有利于丰富降解基因资源,再利用基因工程方法对降解基因进行改造和改良,构建高效、广谱的基因工程菌,是生物降解农药的前沿.

3 磺酰脲类除草剂微生物降解途径 (Degradation pathways of sulfonylurea herbicides by microorganisms)

磺酰脲除草剂由芳环、脲桥和杂环三部分组成,现有研究发现,由不同种类微生物、单一菌种以及复合菌系对不同磺酰脲类除草剂的降解途径均存在差异,并导致所产生的中间降解产物有所不同,以下拟就磺酰脲类除草剂的微生物降解途径研究概况分类进行介绍.

3.1 烟嘧磺隆降解机制

Zhao 等^[17]对 NSAO2 菌株降解烟嘧磺隆过程中产生的代谢产物进行了提取,用 LC/MS 对其进行了表征,检测出 5 种代谢产物,并根据 5 种产物推断出 3 种降解途径(图 1).

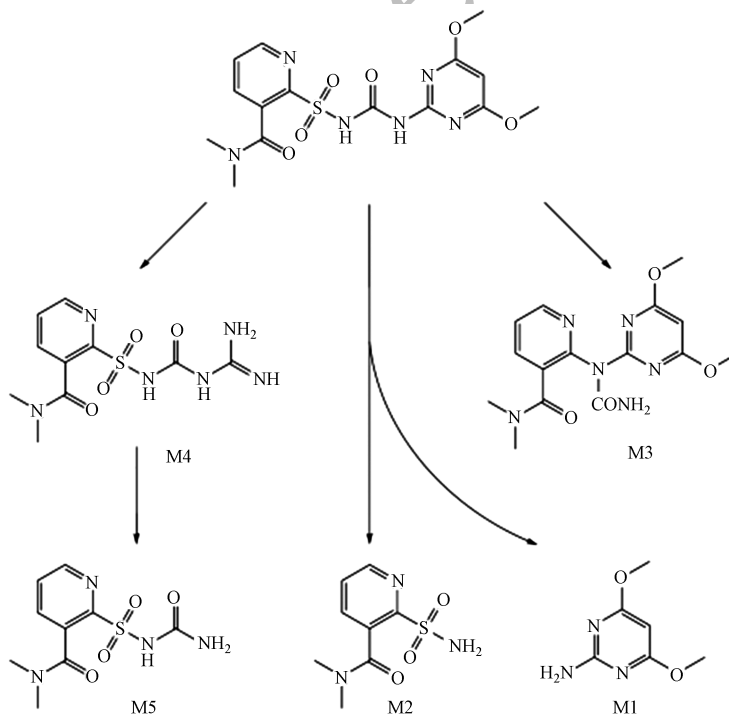


图 1 烟嘧磺隆的化学结构式及降解途径^[17]

Fig.1 Chemical structural and degradation pathways of nicosulfuron^[17]

第一种是磺酰脲桥上 C—N 键断裂,形成代谢产物 M1 和 M2.磺酰脲桥断裂常见于各种微生物对烟嘧磺隆降解中,代鹏飞等^[26]推测其菌株 YN-8 降解烟嘧磺隆时所产生的两种代谢产物源自于磺酰脲桥上 C—N 键断裂,同样 Zhang 等^[28]认为粘质沙雷氏菌 N80 降解烟嘧磺隆时由于 C—N 键断裂产生了两种主要降解产物.第二个途径包括磺酰脲桥 C—S 键的断裂并失去二氧化硫基团,后进行缩合形成代谢

产物 M3,这种代谢方式也有过报道^[19,38].第三种是嘧啶环的开环反应和氨基的质子化,形成产物 M4, M4 经过脱氨形成 M5,也可能导致 M2 的形成.嘧啶开环反应还被报道用于苄嘧磺隆和氯嘧磺隆的生物降解^[43-44].微生物也可以通过不同的机制降解烟嘧磺隆.Song 等^[39]发现的黄篮状菌 LZM1 可以通过吡啶环的开环反应降解烟嘧磺隆.Wang 等^[18]分离得到的克雷伯菌 Y1 可以代谢葡萄糖产酸降解烟嘧磺隆.贾志宁等^[23]检测出菌株 YF1 可以产生草酸,推测烟嘧磺隆在酸性环境中发生水解.

3.2 苯磺隆降解机制

Zhang 等^[11]根据代谢产物,推断出假单胞菌 NyZ42 降解苯磺隆的 2 种途径(图 2),一种是常见的磺酰脲桥上 C—N 键断裂,生成产物 K1 和 K3,同时产物 K1 环化成产物 K2.另一途径是由于苯磺隆中的三嗪环上的甲氧基团脱甲基后生成 K4.王楠希^[10]发现降解菌 BW30 可以利用葡萄糖产生小分子有机酸(草酸、乳酸等),通过攻击苯磺隆分子中的脲桥结构从而破坏苯磺隆的完整分子结构,达到降解效果.

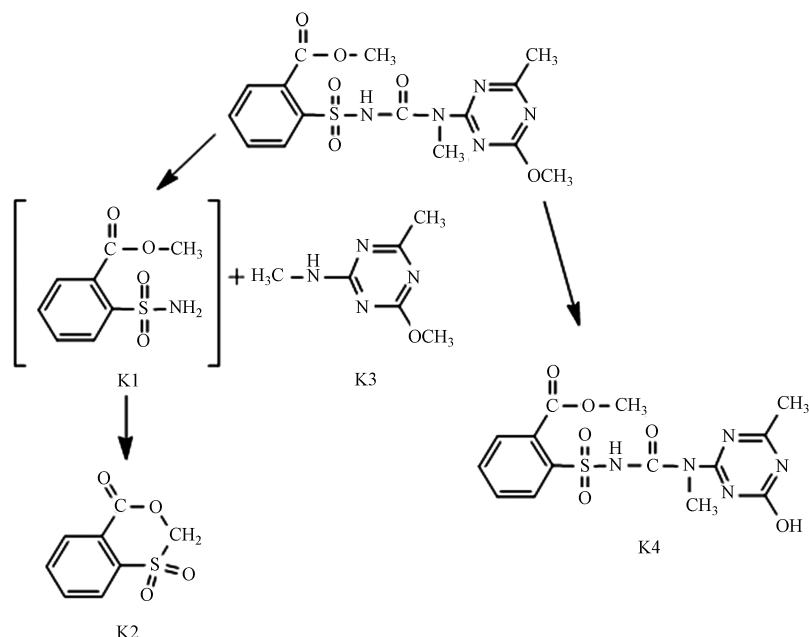


图 2 苯磺隆的化学结构式及降解途径^[11]

Fig.2 Chemical structural and degradation pathways of tribenuron methyl^[11]

3.3 吡嘧磺隆降解机制

Wang 等^[13]利用液相色谱-质谱法(LC/MS),分析了不动杆菌属 CW 17 降解吡嘧磺隆所得到的产物,同时结合标准物质的碎片离子最终确定 2 个主要降解产物(图 3).其中产物 F1 为 2-氨基-4,6-二甲氧基嘧啶,也被鉴定是具有嘧啶环的其他磺酰脲类除草剂的水解产物,例如四唑嘧磺隆^[45],砒嘧磺隆^[46]以及烟嘧磺隆^[28].徐军等^[47]通过对混合菌群降解吡嘧磺隆产生的 5 种的主要代谢产物进行分析,推测代谢途径为磺酰脲桥断裂生成嘧啶环、酰胺键和酯键的断裂生成羧酸以及吡啶环的羟基化.

3.4 噻吩磺隆降解机制

Zhao 等^[20]根据已鉴定的代谢产物的结构,推测出 ZWS16 菌株降解噻吩磺隆的两条主要途径(图 4),除了磺酰脲桥上 C—N 键的断裂,生成 D1,还可以通过 O—去甲基化或去酯化而失去甲基,生成产物 D2 或 D3.由于三嗪环的断裂或脱酯反应,产物

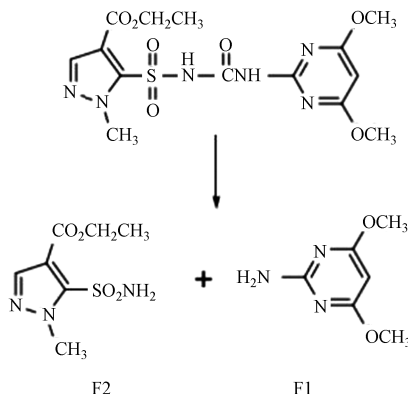


图 3 吡嘧磺隆的化学结构式及降解途径^[13]

Fig.3 Chemical structural and degradation pathways of pyrazosulfuron-ethyl

D3 被进一步转化为产物 D4 或 D5. 同样, Hang 等^[48] 在对降解菌 S113 进行降解研究时发现产物噻吩磺隆酸是由噻吩磺隆发生脱脂反应生成的. Lu 等^[40] 也发现杆菌属 XJ-412-1 菌株在降解噻吩磺隆时由于脱脂作用在产物中生成相应的脱脂衍生物.

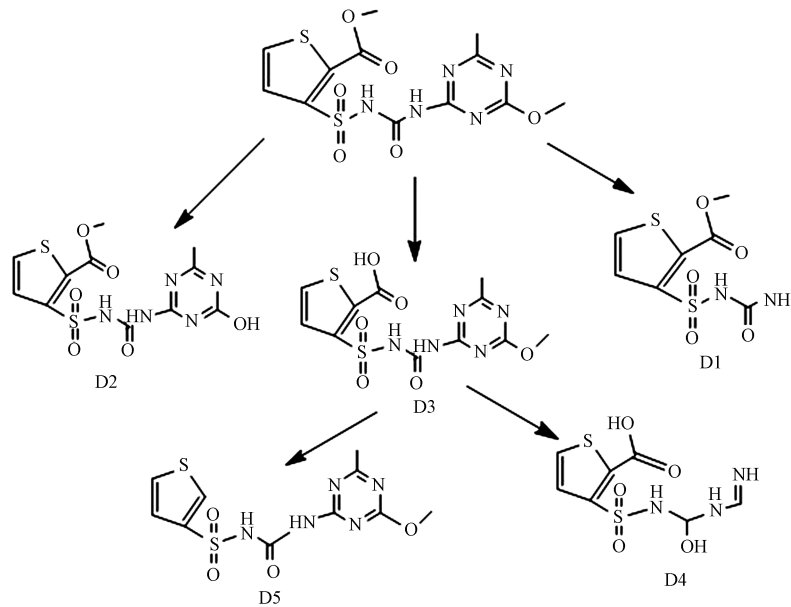


图 4 噻吩磺隆的化学结构式及降解途径^[20]

Fig.4 Chemical structural and degradation pathways of thifensulfuron-methyl^[20]

3.5 醚磺隆降解机制

阮志勇^[21] 检测库特氏菌 LAM0713 对醚磺隆的 5 种代谢产物发现, 所有代谢物的产生都与含 N 键的断裂有关, 与菌株能以醚磺隆作为唯一氮源生长的结果相一致并推测了其代谢途径是磺酰脲桥的 C—N 键的断裂. 如图 5 所示, 其中产物 H1 和 H2 是醚磺隆合成的重要中间产物, 这两者的产生由于磺酰脲桥上 C—N 键的断裂, 同时 H5 的产生是由于化合物 H2 中氨基的丢失, 而 H3 与 H4 这两个产物也与脲桥断裂有关.

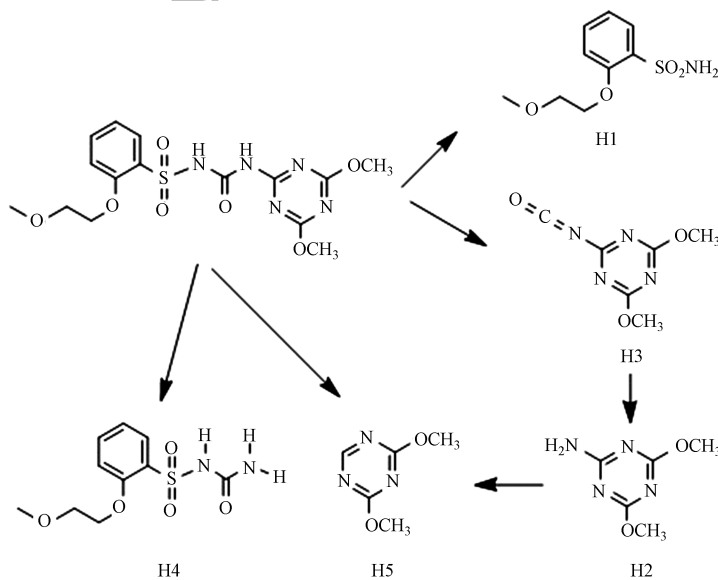


图 5 醚磺隆的化学结构式及降解途径^[21]

Fig.5 Chemical structural and degradation pathways of cinosulfuron^[21]

3.6 氯嘧磺隆降解机制

Li 等^[29]基于 HPLC 和 LC-MS/MS 数据的分析提出了菌株 D310-1 降解氯嘧磺隆的 3 种降解途径(图 6),共产生 8 种降解产物,第一种途径是氯嘧磺隆的磺酰脲桥上 C—N 键的断裂,产生了产物 C1 和 C2,产物 C3 由 C2 的苯环侧链的去酯化反应形成的.通过产物 C3 的环化-脱水反应,形成 C4(即糖精),C4 也是氯嘧磺隆的合成原料^[49]. 第二条途径涉及氯嘧磺隆苯环侧链的去酯化反应,生成产物 C5,再裂解产物的磺酰脲桥得到产物 C1 和 C3,随后环化-脱水生成 C4.在降解的初始阶段,羧酸酯酶在去酯化反应中起着重要的作用,Lu 等^[40]报道,微生物的羧酸酯酶活性可以使细菌在代谢磺酰脲类除草剂的过程中形成脱酯化衍生物.在第三条途径中,推测是磺酰脲桥上—NH—官能团与相连的嘧啶环发生 N—C 键的断裂,产生产物 C6,脱氢后生成产物 C7,但由于 C7 在酸性水相条件下不稳定,进而通过酯缩合形成产物 C8.值得一提的是,侍南^[50]分离得到的克雷伯氏菌属 D 菌株在降解氯嘧磺隆时发生的降解机制与 Li 提出的途径一相同,且也推测出由于产物 C2 上的氨基发生氧化作用进而生成产物 C7.

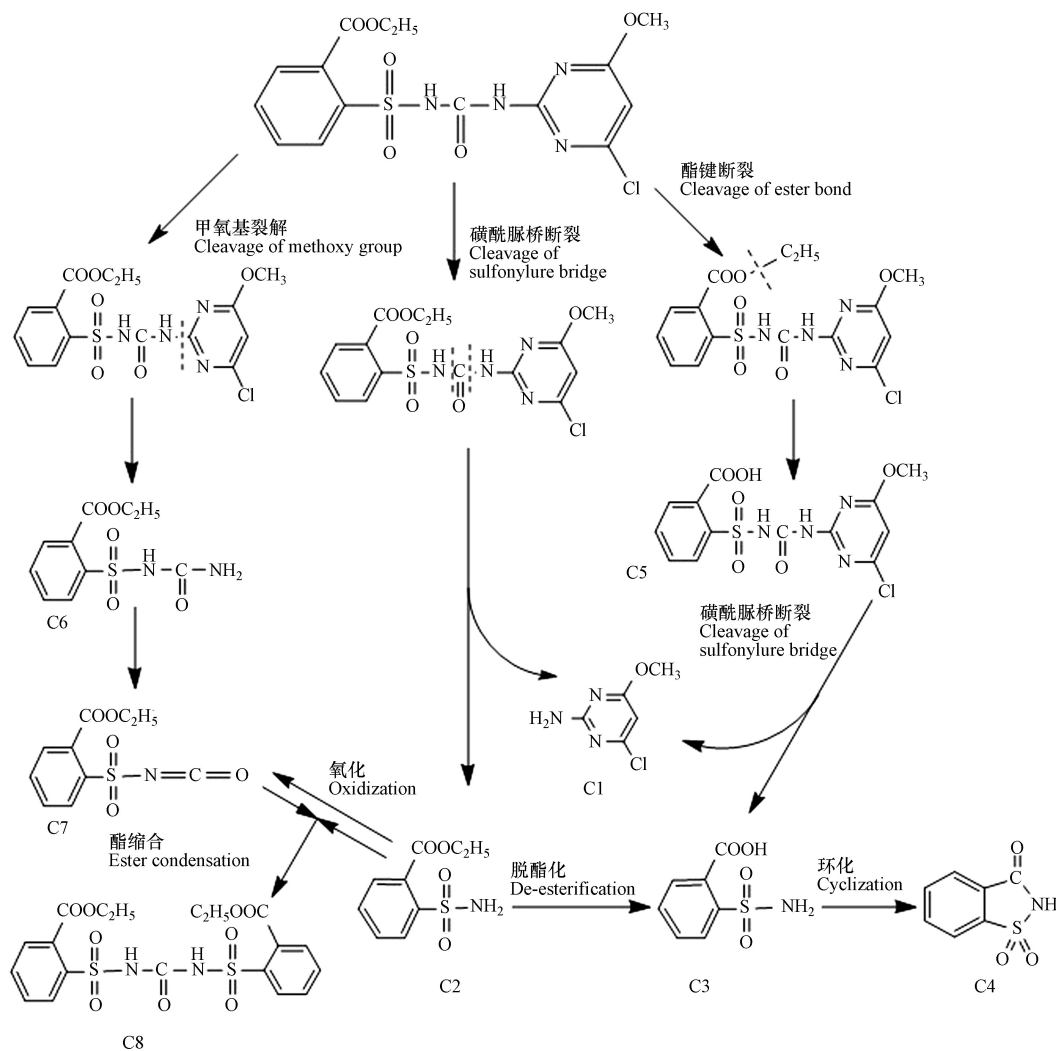


图 6 氯嘧磺隆的化学结构式及降解途径^[29]

Fig.6 Chemical structural and degradation pathways of chlorimuron^[29]

由上述所报道的一些磺酰脲类除草剂的降解途径来看,微生物降解与化学水解的降解途径不同,总结磺酰脲类除草剂的代谢途径主要有磺酰脲桥的断裂、磺酰脲桥 C—S 键断裂后缩合、三嗪环的断裂、环化-脱水反应、开环反应、脱脂作用及氧或氮-脱烷基(甲基)等,其中磺酰脲桥的断裂是降解过程中常见的降解途径,产生相应的磺酰胺和杂环酰胺^[51-52].

就已报道的微生物对磺酰脲类的降解产物进行比较,发现不同种类微生物降解同一化合物所产生的降解产物有些差异.并且对化学结构复杂的农药来说,有些菌株并不能将磺酰脲类除草剂完全矿化.

因此,可以收集和分离产生的代谢产物,再以这些代谢产物作为底物,继续筛选可降解这些代谢产物的微生物,从而复配出可以完全矿化磺酰脲类除草剂的菌株或复合菌剂,为药剂污染土壤的生物修复提供理论依据,同时对降解产物的研究还可以为新型磺酰脲类化合物的合成路径研究及设计提供思路。

4 结果与展望 (Results and prospect)

磺酰脲类除草剂长期使用所产生的农药残留易对土壤环境及后茬敏感作物造成影响,因此寻找一种绿色高效的方法降低环境中的农药残留依然是世界各国研究的热点.大量文献表明,农药的分解可以通过植物,动物,土壤,水体和紫外线辐射等作用,但微生物对农药的降解效果最好,特别是细菌、真菌、放线菌和藻类,目前细菌的研究较为深入.本文对降解菌株的获得途径进行了详细的列举,综合考虑4种方法的优缺点,证明从污染样品中筛选可以获得有效菌株,但是土壤、水体或污泥中微生物众多,筛选效率低,而定向培育法和化学诱导法,都是通过对菌株驯化或诱变获得目的菌株,虽然驯化的菌株数量及降解效果具有不确定性,但可以同时采用两种方法驯化培养,以期高效率获得降解菌株。

目前菌株的降解研究多在实验室进行,而实际的环境介质中农药残留往往极其复杂,单一菌株的酶活性再高,应用于复杂的环境介质中也可能由于诸多问题导致降解效果较低,且单一菌株通常不具备降解农药的全部酶基因,因此开展利用复合体系菌株之间的协同或者群体作用,增强目标农药的矿化彻底性,避免微生物在降解过程中因衍生、裂解和耦合等变化产生毒性更高的代谢产物的研究,以及进行降解菌株是否会影响接种环境中的土著微生物的多样性或土著微生物由于拮抗作用等影响降解菌的降解作用等方面的研究同样对生物修复的发展具有重要意义。

除了降解菌的筛选,降解特性和降解途径的研究,科研人员对降解菌株中降解酶的研究及降解酶基因的克隆应用也取得一些成果,但磺酰脲类除草剂基因工程菌的构建以及基因改组技术的应用相对于有机磷等类型农药还是较少,因此加强该方面的研究工作,丰富磺酰脲类除草剂的降解基因资源库,对后续开发更高效的降解酶制剂有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] LEE Y T, CUI C J, CHOW E W, et al. Sulfonylureas have antifungal activity and are potent inhibitors of *Candida albicans* acetohydroxyacid synthase[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, 56(1): 210-219.
- [2] BERGER B M, JANOWITZ K, MENNE H J, et al. Comparative study on microbial and chemical transformation of eleven sulfonylurea herbicides in soil/Vergleichende Untersuchung zum biotischen und abiotischen Ab-und Umbau von Sulfonylharnstoff-Herbiziden in Boden [J]. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz*, 1998, 105(6): 611-623.
- [3] SAEMAH A K, SABADIE J. Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: A review[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2002, 50(22): 6253-6265.
- [4] SONDHIA S, WASEEM U, VAEMA R K. Fungal degradation of an acetolactate synthase (ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(9): 2140-2147.
- [5] SONDHIA S. Persistence of metsulfuron-methyl in paddy field and detection of its residues in crop produce[J]. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 2009, 83(6): 799-802.
- [6] SAADI H, MICHELLE C, CALMON J P. Kinetics and hydrolysis mechanism of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl [J]. *Pest Management Science*, 2010, 40(1): 71-76.
- [7] 许静,唐杰伟,孔德洋,等.噻吡嘧磺隆在土壤和沉积物中的降解[J]. *环境化学*, 2015, 34(3): 461-467.
XU J, TANG J W, KONG D Y, et al. Degradation of metazosulfuron in soil and sediment[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(3): 461-467 (in Chinese).
- [8] 王险峰,关成宏,范志伟.磺酰脲类除草剂安全性评价[J]. *农药*, 2010, 49(8): 547-551.
WANG X F, GUAN C H, FAN Z W. Evaluation on safety of sulfonylurea herbicides [J]. *Agrochemicals*, 2010, 49(8): 547-551 (in Chinese).
- [9] WOIN P, WENDTRASCH L, PIRZADEH P. Effects of metsulfuron methyl and cypermethrin exposure on freshwater model ecosystems[J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 63(3): 243-256.
- [10] 王楠希.微生物降解除草剂苯磺隆的相关研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2013.
WANG N X. Microbial degradation of tribenuron-methyl[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2013 (in Chinese).
- [11] ZHANG J J, CHEN Y F, FANG T, et al. Co-metabolic degradation of tribenuron methyl, a sulfonylurea herbicide, by *Pseudomonas* sp. strain NyZ42[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 76(1): 36-40.

- [12] ARYA R, MISHRA N K, SHARMA A K. Brevibacillus borstelensis and *Streptomyces albogriseolus* have roles to play in degradation of herbicide, sulfosulfuron[J]. Biotech, 2016, 6(2):246-253.
- [13] WANG Y, DU L, CHEN Y, et al. Biodegradation of pyrazosulfuron-ethyl by *Acinetobacter* sp. CW17[J]. Folia Microbiologica, 2012, 57(2): 139-147.
- [14] CARLES L, JOLY M, BONNEMOY F, et al. Biodegradation and toxicity of a maize herbicide mixture: Mesotrione, nicosulfuron and S-metolachlor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 354(7): 42-53.
- [15] 陈森,王欢,陆敏,等. 苄嘧磺隆降解菌的分离及生长降解特性研究[J]. 山地农业生物学报,2017,36(5):46-52.
CHEN S, WANG H, LU M, et al. Isolation, growth and degradation characteristics of bensulfuron-methyl degrading strain[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2017, 36(5): 46-52(in Chinese).
- [16] 李晓楼,赵燕. 1株噻吩磺隆降解菌(*Pseudomonas syringae* LXL-3)的分离及降解特性[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):369-372.
LI X L, ZHAO Y. Isolation and degradation characteristics of a thiophene sulfuron degrading bacteria (*Pseudomonas syringae* LXL-3)[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(1): 369-372(in Chinese).
- [17] ZHAO H, ZHU J, LIU S, et al. Kinetics study of nicosulfuron degradation by a *Pseudomonas nitroreducens* strain NSA02 [J]. Biodegradation, 2018, 29(3): 271-283.
- [18] WANG L, ZHANG X, LI Y. Degradation of nicosulfuron by a novel isolated bacterial strain *Klebsiella* sp. Y1: Condition optimization, kinetics and degradation pathway[J]. Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research, 2016, 73(12): 2896-2903.
- [19] CARLES L, JOLY M, BONNEMOY F, et al. Identification of sulfonylurea biodegradation pathways enabled by a novel nicosulfuron-transforming strain *Pseudomonas fluorescens* SG-1: Toxicity assessment and effect of formulation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 324(Pt B): 184-193.
- [20] ZHAO W, XU L, LI D, et al. Biodegradation of thifensulfuron-methyl by *Ochrobactrum* sp. in liquid medium and soil[J]. Biotechnology Letters, 2015, 37(7): 1385-1392.
- [21] 阮志勇. 噻吩磺隆降解菌的分离鉴定、基因组学分析及其降解特性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2014.
RUAN Z Y. Isolation, classification, whole genome analyses, and degradation mechanism study of cinosulfuron-degrading strain [D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2014(in Chinese).
- [22] 杨亚君,刘顺,武丽芬,等. 可降解水体中烟噻磺隆微生物的分离与筛选[J]. 农药学报,2007,9(3):275-279.
YANG Y J, LIU S, WU L F, et al. Isolation and screening of microorganisms capable of degrading nicosulfuron in water[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2007, 9(3): 275-279(in Chinese).
- [23] 贾志宁,张哲,张越,等. 黑曲霉 YF1 菌株对烟噻磺隆的降解条件研究[J]. 河北农业大学学报,2017,40(3):42-46.
JIA Z N, ZHANG Z, ZHANG Y, et al. A study on the degradation conditions of nicosulfuron by *Aspergillus niger* YF1 [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2017, 40(3): 42-46(in Chinese).
- [24] 张哲,杨树森,杨冬臣,等. 烟噻磺隆降解菌枯草芽孢杆菌 YB1 颗粒剂的加工及应用[J]. 农药学报,2018,20(2):254-258.
ZHANG Z, YANG S S, YANG D C, et al. Processing and application of nicosulfuron degrading bacterium *Bacillus subtilis* YB1 granules [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(2): 254-258(in Chinese).
- [25] 周珊. 烟噻磺隆降解菌的分离鉴定及降解特性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2015.
ZHOU S. Isolation, classification and degradation characteristics study of nicosulfuron-degrading bacteria [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015(in Chinese).
- [26] 代鹏飞,蔡天明,汪林,等. 一株烟噻磺隆降解菌的分离鉴定及其降解特性与途径[J]. 环境科技,2015,28(4):12-17.
DAI P F, CAI T M, WANG L, et al. Isolation, Identification, degradation characteristics and pathway of a nicosulfuron-degrading bacteria [J]. Environmental Science and Technology, 2015, 28(4): 12-17(in Chinese).
- [27] 肖焜,蔡天明,陈立伟,等. 一株噻苯磺隆降解菌的分离、鉴定及固定化应用研究[J]. 环境工程,2015,33(12):24-28.
XIAO X, CAI T M, CHEN L W, et al. Isolation, identification and immobilized application of a triasulfuron degrading strain [J]. Environmental Engineering, 2015, 33(12): 24-28(in Chinese).
- [28] ZHANG H, MU W, HOU Z, et al. Biodegradation of nicosulfuron by the bacterium *Serratia marcescens* N80.[J]. Journal of Environmental Science & Health Part B, 2012, 47(3): 153-160.
- [29] LI C, ZANG H, YU Q, et al. Biodegradation of chlorimuron-ethyl and the associated degradation pathway by *Rhodococcus* sp. D310-1[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2016, 23(9): 1-12.
- [30] 李春艳,曹会鸣,安雪姣,等. 一株氯噻磺隆高效降解菌分离鉴定及降解条件优化[J]. 东北农业大学学报,2016,47(4):65-72.
LI C Y, CAO H M, AN X J, et al. Isolation and identification of a chlorimuron-ethyl-degrading bacterium and optimization of its degradation conditions[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2016, 47(4): 65-72(in Chinese).
- [31] 王海兰,臧海莲,成毅,等. 氯噻磺隆降解菌的筛选及对污染土壤的生物修复[J]. 中国环境科学,2018,38(4):1473-1480.
WANG H L, ZANG H L, CHENG Y, et al. Screening of a chlorimuron-ethyl-degrading strain and chlorimuron-ethyl-contaminated soil bioremediation[J]. China Environmental Science, 2018, 38(4): 1473-1480(in Chinese).
- [32] 包磊,谢明,张艳军,等. 巨大芽孢杆菌 E-1 菌株对土壤氯噻磺隆残留的降解效果[J]. 中国生物防治学报,2016,32(5):672-675.

- BAO L, XIE M, ZHANG Y J, et al. Degradation of chlorimuron-ethyl in soil by *Bacillus megaterium* E-1[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2016, 32(5): 672-675(in Chinese).
- [33] ARABET D, TEMPEL S, FONS M, et al. Effects of a sulfonylurea herbicide on the soil bacterial community[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2014, 21(8): 5619-5627.
- [34] 齐萌.土壤中烟嘧磺隆降解菌株的筛选及其菌剂加工[D]. 保定:河北农业大学,2015.
QI M. The screening of the nicosulfuron-degraded strain from soil and the processing of microorganism agent[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2015(in Chinese).
- [35] 翟雨淋.土壤中苄嘧磺隆降解菌的筛选及诱变驯化[D]. 重庆:西南大学,2009.
ZHAI Y L. Screening of bensulfuron-methyl degrading bacteria in soil and mutagenizing[D]. Chongqing: Southwest University, 2009(in Chinese).
- [36] 陶波,潘思杨,王欢,等.紫外诱变对黑曲霉降解氯嘧磺隆能力的影响[J]. 大豆科学,2016,35(3):455-460.
TAO B, PAN S Y, WANG H, et al. Effect of UV mutation on chlorimuron-ethyl degradation ability of *Aspergillus niger*[J]. Soybean Science, 2016, 35(3): 455-460(in Chinese).
- [37] 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.
YOU M S, LIU X. Biodegradation and bioremediation of pesticide pollution[J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(1): 73-77(in Chinese).
- [38] 陶波,王欢,高世杰.复合菌对大豆田土壤中氯嘧磺隆降解的研究[J]. 大豆科学,2015,34(5):855-860.
TAO B, WANG H, GAO S J. Study on degradation characteristics of composite fungi to degrading herbicide chlorimuron-ethyl[J]. Soybean Science, 2015, 34(5): 855-860(in Chinese).
- [39] SONG J, GU J, ZHAI Y, et al. Biodegradation of nicosulfuron by a *Talaromyces flavus* LZM1[J]. Bioresource Technology, 2013, 140(7): 243-248.
- [40] LU P, JIN L, LIANG B, et al. Study of biochemical pathway and enzyme involved in metsulfuron-methyl degradation by *Ancylobacter*, sp. XJ-412-1 Isolated from soil[J]. Current Microbiology, 2011, 62(6): 1718-1725.
- [41] KANG Z H, REN C C, ZHANG J L, et al. Purification and cloning of nicosulfuron-degrading enzymes from *Bacillus subtilis* YB₁[J]. Applied Biochemistry & Microbiology, 2014, 50(1): 30-34.
- [42] 赵卫松,邱立红,郭庆港,等.粪产碱杆菌 ZWS11 菌株对烟嘧磺隆的酶促降解特性[J]. 农药学报,2016,18(4):472-480.
ZHAO W S, QIU L H, GUO Q G, et al. Enzymatic degradation characteristics of nicosulfuron by *Alcaligenes faecalis* ZWS11[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2016, 18(4): 472-480(in Chinese).
- [43] BRUSA T, FERRARI F, BOLZACCHINI E, et al. Study on the microbiological degradation of bensulfuronmethyl[J]. Annals of Microbiology, 2001, 51(2): 189-199.
- [44] ZANG H, YU Q, LV T, et al. Insights into the degradation of chlorimuron-ethyl by *Stenotrophomonas maltophilia* D310-3[J]. Chemosphere, 2016, 144(2): 176-184.
- [45] BOSCHIN G, D'AGOSTINA A, ANTONIONI C, et al. Hydrolytic degradation of azimsulfuron, a sulfonylurea herbicide[J]. Chemosphere, 2007, 68(7): 1312-1317.
- [46] SCHNEIDERS G E, KOEPPE M K, NAIDU M V, et al. Fate of rimsulfuron in the environment[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41(12): 2404-2410.
- [47] 徐军,郑永权,董丰收,等.吡嘧磺隆降解菌群的分离筛选和代谢途径的初步研究//第十一届全国土壤微生物学术讨论会暨第六次全国土壤生物与生物化学学术研讨会第四届全国微生物肥料生产技术研究论文(摘要)集[C].2010.
XU J, ZHENG Y Q, DONG F S, et al. Isolation, screening and metabolic pathway of pyrimisulfuron-methyl degrading bacteria//Papers of the 11th National Symposium on Soil Microbiology and the 6th National Symposium on Soil Biology and Biochemistry and the 4th National Symposium on Microbial Fertilizer Production Technology (abstract)[C]. 2010(in Chinese).
- [48] HANG B J, HONG Q, XIE X T, et al. *SulE*, a sulfonamide herbicide de-esterification esterase from *Hanschlegelia zihuaiae* S113[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(6): 1962-1968.
- [49] BOTTARO M, FRASCAROLO P, GOSETTI F, et al. Hydrolytic and photoinduced degradation of tribenuron methyl studied by HPLC-DAD-MS/MS[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2008, 19(8): 1221-1229.
- [50] 侍南.氯嘧磺隆降解菌的分离鉴定、降解特性和机理及其修复效果[D]. 杭州:浙江大学,2016.
SHI N. Isolation, characteristics and metabolic mechanism of chlorimuron-ethyl-degrading strain and its remediation effect[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016(in Chinese).
- [51] BOSCHIN G, D'AGOSTINA A, ARNOLDI A, et al. Biodegradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by *Aspergillus niger* in laboratory conditions[J]. Journal of Environmental Science and Health, 2003, 38(6): 737-746.
- [52] YU Y L, WANG X, LUO Y M, et al. Fungal degradation of metsulfuron-methyl in pure cultures and soil[J]. Chemosphere, 2005, 60(4): 460-466.