

# 三唑类农药的微生物降解研究进展

王馨芳, 郑卫刚, 寇志安, 张婉霞, 张梓坤, 史美玲, 田永强  
(兰州交通大学生物与制药工程学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 三唑类农药是一种广泛使用的防治植物病害的杀菌剂和植物生长调节剂, 可通过抑制麦角甾醇的合成阻碍病原菌的细胞壁形成, 从而起到防治作物病害的作用, 也能抑制植物赤霉素合成延缓植物生长; 但因大范围应用及其难以降解的特性, 污染环境和影响人类健康。为给三唑类农药的微生物降解提供参考, 基于文献研究, 梳理总结了三唑类农药降解菌的种类、影响降解的环境因素和降解机理方面的研究进展, 明确了微生物在不同环境中能有效降解三唑类农药, 微生物降解技术有望应用于治理三唑类农药造成的环境污染。

**关键词:** 三唑类农药; 微生物降解; 降解机理; 环境污染修复

**中图分类号:** S432 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2023)10-0909-08

**doi:** 10.3969/j.issn.2097-2172.2023.10.005

## Research Progress on Microbial Degradation of Triazole Pesticides

WANG Xinfang, ZHENG Weigang, KOU Zhian, ZHANG Wanxia, ZHANG Zikun,  
SHI Meiling, TIAN Yongqiang

(College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** Triazole pesticides are widely used as fungicides and plant growth regulators, which can inhibit the synthesis of ergosterol to prevent the formation of cell walls of pathogenic bacteria, thereby, they play a role in crop disease control and can also inhibit the synthesis of plant gibberellin to delay the plant growth. However, because such fungicides are widely used and difficult to degrade, which pollute the environment and affect human health. In order to provide reference for the microbial degradation of triazole pesticides, the types of degrading bacteria to triazole pesticide degradation, environmental factors affecting degradation, and research progress on degradation mechanisms are summarized in this paper. It is clarified that micro-organisms can effectively degrade triazole pesticides under different condition, and microbial degradation technology is expected to deal with environmental pollution caused by triazole pesticides.

**Key words:** Triazole pesticide; Microbial degradation; Degradation mechanism; Environmental pollution remediation

为防治农作物病害和保障农作物产量, 现代农业生产中杀菌剂的使用量成倍增加。在全球范围内农药中除草剂、杀虫剂和杀菌剂各占 40%、17%和 10%, 杀菌剂是 2019 年欧盟销量最高的农药类型<sup>[1]</sup>。目前世界上主要的杀菌剂类农药有 5 种, 分别为三唑类、苯基吡咯类、嗜球果伞素类、苯并咪唑类、吗啉类, 其中三唑类农药的应用最为广泛<sup>[2]</sup>。三唑类药物是有机杂环类化合物, 由咪唑环、羟基(酮基)及取代苄基等构成, 多数属于手性化合物, 在农业应用中兼具杀菌剂和植物生长调节剂的作用。三唑类农药作为杀菌剂能通过抑制真菌细胞色素 P-450 依赖酶 14 $\alpha$ -去甲基化

酶, 阻断真菌细胞中麦角甾醇的合成, 增加细胞膜通透性<sup>[3]</sup>, 从而达到杀菌效果, 有效防治各类担子菌、子囊菌、白粉菌和半知菌等真菌引起的植物病害<sup>[4-5]</sup>。作为植物生长调节剂能够抑制植物的赤霉素合成相关酶, 从而降低内源赤霉素合成, 延缓植物生长<sup>[6]</sup>。然而, 由于三唑类农药的广泛应用, 此类农药所引起的问题也日渐突出, 并引起人们重视。三唑类农药往往具有较高的化学稳定性, 在环境中难以降解, 半衰期从数周到数年不等, 容易对土壤和水体造成污染。高剂量的三唑类农药会扰乱土壤微生物群落结构, 破坏微生物平衡, 使得土壤中酶活性降低, 造成土壤

收稿日期: 2023-03-30; 修订日期: 2023-07-25

基金项目: 青海省中央引导地方科技专项(2023ZY019); 甘肃省教育厅产业支撑项目(2022CYZC-39); 嘉峪关市重点研发项目(22-25)。

作者简介: 王馨芳(1995—), 女, 甘肃临洮人, 硕士, 主要从事生物防治工作。Email: wangxf170219@foxmail.com。

通信作者: 田永强(1972—), 男, 甘肃庄浪人, 教授, 主要从事资源微生物研究工作。Email: tianyq@mail.lzjtu.cn。

肥力下降<sup>[1,7]</sup>。土壤中的农药通过雨水淋溶作用进入水环境后,会在水生生物体内蓄积<sup>[8]</sup>, Jiang 等<sup>[9]</sup>发现,水生生物基准浓度和环境浓度下的苯醚甲环唑和戊唑醇代谢产物的累积可能会对斑马鱼生长产生负面影响。三唑类药物进入人体后也会干扰人体内的激素分泌, Wang 等<sup>[10]</sup>研究表明,戊唑醇、丙环唑、环丙唑醇和苯醚甲环唑能显著影响雌激素合成。在高浓度的三唑类药物环境中可能产生耐药性病菌,如多效唑在农田中的使用可诱导烟曲霉对三唑类医用抗真菌剂产生交互抗性,对侵袭性曲霉病的临床治疗造成更大的困难<sup>[11-12]</sup>。可见,三唑类农药残留引起的环境和健康问题不容忽视,对三唑类农药降解的研究显得尤为重要。

目前治理三唑类农药污染的研究主要包括化学修复和生物修复,其中化学修复以高级氧化技术(AOPs)为主。高级氧化技术可以广义地定义为以高活性自由基(特别是羟基自由基)为主要氧化剂的近环境温度处理工艺<sup>[11]</sup>,该过程产生的自由基可以与农药分子发生反应,产生初级氧化产物,进而发生自发转化或进一步氧化<sup>[13-14]</sup>。Kaur 等<sup>[15]</sup>发现,在 TiO<sub>2</sub>/UV 光催化氧化作用下,丙环唑在 90 min 内发生了 85%的降解和 76.57%的矿化; Saadaoui 等<sup>[16]</sup>采用  $\gamma$  射线照射法降解水溶液中的腈菌唑和戊菌唑,发现辐照剂量为 575Gy 和 460Gy 时二者降解率至少为 90%;此外, Martínez-Escudero 等<sup>[17]</sup>研究表明,日晒和臭氧化技术结合也能有效去除土壤中三唑类农药残留。尽管高级氧化技术能够有效降解三唑类农药,但仍存在能源消耗大、利用效率低、反应条件苛刻、操作复杂、易造成二次污染和成本高等诸多问题<sup>[18]</sup>,因此,开发更加环保高效的生物降解技术是修复三唑类农药污染的最佳途径。三唑类农药的生物修复技术包括植物修复与微生物修复。植物在吸收农药后,能通过植物挥发、植物刺激、植物提取和根系降解等不同途径将农药代谢为更简单的小分子,降低毒性<sup>[19]</sup>。目前植物修复三唑类农药污染相关的研究主要集中在人工湿地和藻类修复<sup>[20-25]</sup>。人工湿地是一种将砂、石、土壤、煤渣按一定比例混合作为基质,并选择性地在基质中植入植物,利用基质吸附固定,植物降解吸收及其他生物的共同作用进行污水处理的复合生态系统<sup>[20]</sup>。人工湿地降解三唑类

农药选用的植物通常有美人蕉、菖蒲、宽叶香蒲、芦苇、灯芯草、天山泽芹等,这些植物构造的人工湿地对三唑磷和戊唑醇都有良好的降解效果<sup>[20-22]</sup>。也有研究表明衣藻、裸藻、栅藻等淡水真核藻类对三唑磷和三唑酮有降解作用<sup>[23-25]</sup>。但植物生长周期长,修复过程往往见效缓慢,并且存在二次污染的可能性,因此微生物修复技术可能是治理三唑类农药污染更好的选择。近年来,治理三唑类农药污染的微生物修复技术也逐渐成为主流。微生物种类丰富,在生物圈中分布广泛,具有代谢多样性,修复速度比植物更快<sup>[3,26-28]</sup>,使用便利,这为农药污染治理和环境保护带来了新的希望。我们将从降解菌的种类、影响降解的环境条件和降解机理几个方面对三唑类农药的微生物降解进行综述,以期对三唑类农药的微生物降解提供参考。

### 1 三唑类农药降解菌的种类

微生物降解技术是基于微生物自身的代谢能力,将污染物作为碳源或营养来源,通过酶转化为毒性较小或无毒害的小分子,具有高效、低成本、安全、环境友好等优点,并且微生物可以在不受外界刺激的前提下适应被污染的土壤和水体环境<sup>[28]</sup>。目前发现,对三唑类农药具有降解作用的微生物包括细菌、真菌和放线菌(表 1)。

#### 1.1 细菌

迄今为止发现的三唑类农药降解菌主要是细菌,包括假单胞菌、克雷伯菌、芽孢杆菌等。其中研究最多的是假单胞菌,恶臭假单胞菌对多效唑和丙环唑均有显著的降解作用。Kumar 等<sup>[28]</sup>从当地芒果果园土壤中分离出恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)菌株 T7,接种于含多效唑的 MSM 培养基中,培养 6 d 后对多效唑的降解率超过 50%,15 d 后高达 98.03%; Sarkar 等<sup>[29]</sup>通过优化培养基碳氮源使恶臭假单胞菌菌株 MPR4 和 MPR12 对丙环唑的降解率最终分别达到 72.80% 和 67.80%; Satapute 等<sup>[30]</sup>从水稻土壤中分离的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)PS-4 在自然土壤中对丙环唑的降解率最高能达到 41.02%,在 MSM 培养基中能达到 80.00%; Wang 等<sup>[31]</sup>发现,施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)菌株 F<sub>1</sub> 在 MSM 培养基中能降解 92.10%的氟环唑,还能显著降低土壤环境

表 1 三唑类杀菌剂降解菌

|         | 微生物种类                  | 三唑类农药              | 降解率/% |             | 参考文献  |
|---------|------------------------|--------------------|-------|-------------|-------|
|         |                        |                    | 培养基   | 土壤          |       |
| 细菌      | 恶臭假单胞菌                 | 多效唑                | 98.03 |             | [28]  |
|         |                        | 丙环唑                | 72.80 |             | [29]  |
|         | 铜绿假单胞菌                 | 丙环唑                | 80.00 | 41.20       | [30]  |
|         |                        | 施氏假单胞菌             | 氟环唑   | 92.10       |       |
|         | <i>kilonensis</i> 假单胞菌 | 三唑磷                |       |             | [32]  |
|         |                        | 三唑磷                | 95.80 | 99.00、96.00 | [33]  |
|         | 昆明假单胞菌                 | 氟环唑                | 90.70 | 85.00       | [34]  |
|         | 硝基还原假单胞菌               | 苯醚甲环唑              | 90.40 |             | [35]  |
|         | 假单胞菌属                  | 多效唑                | 70.00 |             | [7]   |
|         |                        | 氟环唑                | 100   |             | [36]  |
|         | 肺炎克雷伯菌                 | 多效唑                | 98.28 |             | [27]  |
|         | 克雷伯菌属                  | 氟环唑                | 100   |             | [37]  |
|         | 梭形芽孢杆菌                 | 三唑醇                | 29.80 | 80.64       | [38]  |
|         | 枯草芽孢杆菌                 |                    | 43.23 | 79.96       |       |
|         | 解木糖赖氨酸芽孢杆菌             |                    | 22.89 | 66.71       |       |
|         | 球形赖氨酸芽孢杆菌              |                    | 36.35 | 63.71       |       |
|         | 芽孢杆菌属                  | 戊唑醇                | 50.00 |             | [39]  |
|         |                        | 三唑磷                | 95.80 | 92.20       | [40]  |
|         | 粘质沙雷氏菌                 | 戊唑醇                | 90.17 | 96.46       | [41]  |
|         | 细菌                     | 粪产碱杆菌              | 戊唑醇   |             | 88.50 |
| 鞘氨醇单胞菌  |                        | 丙环唑                | 15.13 |             | [43]  |
| 真菌      | 剑菌属                    | 苯醚甲环唑              | 85.00 |             | [5]   |
|         | 哈茨木霉                   | 戊唑醇                | 68.00 |             | [44]  |
| 变色栓菌    | 戊唑醇                    | 54.00(以云杉木圆片为降解基质) |       | [45]        |       |
|         | 丙环唑                    | 75.00(以云杉木圆片为降解基质) |       |             |       |
| 瘤盖拟瓣层孔菌 | 戊唑醇                    | 53.00(以云杉木圆片为降解基质) |       |             |       |
|         | 黄曲霉                    | 三唑并嘧啶磺酰胺           |       | 96.28       | [46]  |
| 黑曲霉     |                        |                    | 97.05 |             |       |
| 放线菌     | 北里孢菌属                  | 种菌唑                | 80.00 | 90.00       | [47]  |
|         | 链霉菌属                   |                    | 99.00 | 90.00       |       |

中氟环唑的半衰期, 并且能定殖在中国芸薹的根、茎、叶; Shi 等<sup>[32]</sup>报道, 施氏假单胞菌菌株 YC-YH1 对三唑磷、毒死蜱等农药均有降解能力; Ambreen 等<sup>[33]</sup>发现的 *kilonensis* 假单胞菌 (*Pseudomonas kilonensis*) 菌株 MB490 和 MB498 在 M9 培养基、土壤悬液和土壤微观系统中降解三唑磷均能达到 95% 以上。此外, 申志慧<sup>[34]</sup>研究表明, 昆明假单胞菌 (*Pseudomonas kunmingensis*) 菌株 F<sub>1</sub> 在 LB 培养基中能降解 90.70% 的氟环唑, 在土壤中的降解率能达到 85% 以上, 在上海青中定殖后能显著降低根系中的氟环唑含量。蔡慧敏等<sup>[35]</sup>从农药厂污泥中分离出硝基还原假单胞菌 (*Pseudomonas*

*nitroreducens*) BMJHZ-01, 优化条件培养后对苯醚甲环唑的降解率可达 90.40%。Chen 等<sup>[7]</sup>和 Alexandrino 等<sup>[36]</sup>研究了微生物群对多效唑和氟环唑的降解, 二者从微生物群中均分离出了假单胞菌, 且以假单胞菌为优势种群。

克雷伯菌 (*Klebsiella* sp.) 和芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 也是两种常见的农药降解菌<sup>[26]</sup>, 前者革兰氏染色呈阴性, 后者呈阳性<sup>[37-38]</sup>。目前已知克雷伯菌能降解的三唑类农药主要是多效唑和氟环唑。Lopes 等<sup>[37]</sup>发现, 克雷伯菌属在培养基中对含氟环唑的真菌杀菌剂 OPERA 降解效果很好, 120 h 内能完全降解其中的氟环唑。而 Kumar 等<sup>[27]</sup>发

现,肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)菌株 M6 与多效唑在 MS 培养基上共培养 15 d, 其降解率可达 92.82%, 在土壤中也显著缩短多效唑的半衰期。已报道的芽孢杆菌能降解的三唑类农药有戊唑醇、三唑磷和三唑醇。如 Youness 等<sup>[39]</sup>发现了芽孢杆菌对戊唑醇的对映选择性降解现象, 芽孢杆菌菌株 3B6 对戊唑醇的 S 对映体比 R 对映体的生物转化更快; 鹿文红<sup>[38]</sup>和汤鸣强<sup>[40]</sup>的研究结果显示, 芽孢杆菌能有效清除土壤中三唑磷和三唑醇的残留。

除以上几种细菌外, 粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.)等降解三唑类药物的现象均有零星报道。Wang 等<sup>[41]</sup>发现, 粘质沙雷氏菌菌株 B1 可以有效地去除土壤和中国卷心菜中的戊唑醇残留; Sun 等<sup>[42]</sup>研究了生物炭固定化粪产碱杆菌菌株 WZ-2 对污染土壤中的戊唑醇的降解及土壤功能和微生物群落的恢复作用, 发现固定化菌株的修复效果比游离菌株更好; Wachowska 等<sup>[43]</sup>从小麦籽粒中分离的鞘氨醇单胞菌在 48 h 内能降解液体培养基中 15.13% 的丙环唑; 郑金伟等<sup>[5]</sup>筛选出的剑菌属(*Ensifer* sp.) 菌株 B2 24 h 内在基础盐培养基中降解苯醚甲环唑的效率在 85% 以上。

从上述研究报道可看出, 迄今为止发现的三唑类农药降解细菌以假单胞菌为主, 并且大多研究局限于单一菌种对单一农药的降解, 而在实际应用中土壤和水体的污染物往往种类繁多<sup>[26]</sup>, 因此降解菌株的底物多样性研究有待加强。

## 1.2 真菌

目前真菌降解三唑类农药的文献较少。Obanda 等<sup>[44]</sup>发现了哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)对戊唑醇的降解能力, 其在 B3 培养基中降解了 68.00% 的戊唑醇, 但在 Woo 等<sup>[45]</sup>以云杉木圆片为基质的降解实验中, 哈茨木霉并未表现出显著的戊唑醇降解能力, 而变色栓菌(*Trametes versicolor*)和瘤盖拟癩层孔菌(*Fomitopsis palustris*)能够降解戊唑醇, 其中变色栓菌对丙环唑亦有显著的降解作用。此外, Sondhia 等<sup>[46]</sup>研究表明, 黄曲霉(*Aspergillus flavus*)黑曲霉(*Aspergillus niger*)能降解土壤中的三唑并嘧啶磺酰胺, 增强土壤微生物降解

能力。

## 1.3 放线菌

目前报道的对三唑类农药有降解作用的放线菌更少, Eizuka 等<sup>[47]</sup>报道的北里孢菌属(*Ki-tasatospora* sp.)A1 和链霉菌属(*Streptomyces* sp.)D16, 二者对土壤中的种菌唑有显著的降解活性, 28 d 的降解率达到 90.00%。

## 2 影响三唑类农药降解的因素

微生物降解三唑类农药是一个复杂的过程, 降解率和微生物的生长往往受到多种环境因素影响。温度和 pH 主要影响微生物的生长状况和酶活性; 药物初始浓度过高会抑制微生物生长, 过低会导致微生物能够利用的碳源不足, 进而影响降解效果; 而接种量过高可能会出现微生物生长营养不足的情况<sup>[41]</sup>。Wang 等<sup>[41]</sup>研究粘质沙雷氏菌 B1 降解戊唑醇的结果表明, 温度、pH、接种量和初始浓度对戊唑醇降解均有影响。Kumar 等<sup>[28]</sup>利用响应面法(RSM)分析了温度、pH 和接种量这三种因素对恶臭假单胞菌菌株 T7 降解多效唑的影响, 结果显示 pH 与温度和 pH 与接种量之间的交互作用显著, 两组条件对多效唑降解影响较大, 而 Chen 等<sup>[7]</sup>发现, 除了温度、pH 等因素外, 有氧和厌氧条件对假单胞菌降解多效唑也至关重要, 假单胞菌在有氧条件下的降解能力更好。

诸多研究表明, 三唑类药物的微生物降解过程中存在共代谢作用, 即添加容易代谢的有机物(如葡萄糖)以增加微生物对不常用碳源的难降解化合物的生物降解<sup>[29]</sup>, 因此除了温度、pH 等常见因素外, 共代谢底物的添加对三唑类药物的微生物降解影响显著。Alexandrino 等<sup>[36]</sup>在变形菌门(Proteobacteria)菌株组成的微生物群对氟环唑和咯菌腈的降解体系中添加了醋酸钠作为共代谢底物, 发现醋酸钠促进了降解体系中微生物的生长; Sarkar 等<sup>[29]</sup>测试了添加葡萄糖、半乳糖、麦芽糖、淀粉、羧基甲基纤维素等外加碳源对恶臭假单胞菌 MPR 4 和 MPR12 降解丙环唑的影响, 结果表明, 葡萄糖促进细菌生长的能力最强, 并且与不含葡萄糖的降解体系相比, 含有葡萄糖的降解体系中恶臭假单胞菌对丙环唑的降解率提高了 31.2%, 该研究还发现, 不同氮源对降解过程也存在影响, 其中硝酸铵表现出最高的促生长能力。

菌株固定化处理对微生物修复三唑类农药污染也具有促进作用。Sun 等<sup>[42]</sup>研究了粪产碱杆菌经生物炭固定化处理前后对戊唑醇污染土壤的修复作用, 发现固定化处理比游离降解菌更能有效修复多效唑污染土壤, 说明一方面是生物炭对土壤残留戊唑醇具有吸附作用, 另一方面, 生物炭为降解菌提供了适宜的生存环境和养分, 从而促进了微生物降解作用。

综上所述, 影响三唑类农药微生物降解的因素主要包括温度、pH、接种量、初始浓度、需氧条件、外加碳氮源及固定化处理等, 尽管固定化菌株的降解作用和修复土壤的能力比游离菌株更好, 但固定化菌株降解三唑类农药的研究目前较少, 需要进一步探索。

### 3 三唑类农药的微生物降解机理

Vaneerd 等<sup>[48]</sup>认为, 细菌和真菌中农药的代谢一般分为 3 个阶段, 第 1 阶段是将母体化合物以氧化、还原或水解的方式转化为比母体化合物毒性更小的副产物; 第 2 阶段则是将母体化合物或其代谢物与葡萄糖或氨基酸结合, 发生葡萄糖醛酸化或胺化, 这一阶段的产物水溶性增加, 毒性进一步降低; 在第 3 阶段, 第 2 阶段形成的代谢物可能进一步转化为无毒的二级偶联物。三唑类农药的微生物代谢途径一般分为两种情况, 一种是三唑环发生裂解, 另一种是三唑环不发生裂

解, 只在烷基链上发生氧化, 并且三唑类药物的微生物降解存在对映选择性。

#### 3.1 三唑类农药的微生物代谢途径

目前已发现的能使三唑环发生裂解的微生物有假单胞菌、克雷伯菌和哈茨木霉 (表 2)。Kumar 等<sup>[27-28]</sup>发现的两种多效唑降解菌株—恶臭假单胞菌 T7 和肺炎克雷伯菌 M6 中, 发挥降解作用的酶主要包括单加氧酶、双加氧酶和异构酶。在单加氧酶作用下, T7 菌株使多效唑的三唑环发生裂解, 形成中间产物 4-氯苯甲酸, 接着代谢途径发生两种可能, 第一种是 4-氯苯甲酸被开环酶 1, 2-双加氧酶攻击并脱卤; 第二种是 4-氯苯甲酸在 CoA 连接酶、CoA 脱卤酶和 CoA 硫酯酶的作用下降解, 生成 4-羟基苯甲酸, 最后进入三羧酸循环。M6 菌株的代谢过程与前者较为相似, 多效唑三唑环发生裂解, 而后形成 2, 2-二甲基-n-(3-硝基苯)和 3-(4-氯苯基丙 3-醇)等化合物, 接着在双加氧酶和异构酶的作用下进一步代谢, 最终进入三羧酸循环。Satapute 等<sup>[30]</sup>测试了铜绿假单胞菌 PS-4 中细胞色素 P450 单加氧酶(CYP P450)的丙环唑降解活性, 并扩增出了 PS-4 中的 CYP P450 基因, 证明 CYP P450 是 PS-4 中降解丙环唑的关键酶。降解过程中丙环唑首先脱烷基形成 1,2,4-三唑, 接着三唑环在 CYP P450 作用下发生断裂, 形成 2, 4-二氯苯甲酸和 1-氯苯两种代谢产物。Am-

表 2 三唑类杀菌剂的微生物降解

| 降解类型   | 菌株               | 降解对象 | 降解产物  | 降解酶                              | 参考文献 |
|--------|------------------|------|---|----------------------------------|------|
| 三唑环裂解  | 恶臭假单胞菌 T7        | 多效唑  | 4-氯苯甲酸、4-羟基苯甲酸、3-粘氯酸、4-水杨酸  | 分解代谢酶样单加氧酶<br>1,2-双加氧酶<br>CoA连接酶 | [27] |
|        | 铜绿假单胞菌 PS-4      | 丙环唑  | 1,2,4-三唑、2,4-二氯苯甲酸、1-氯苯   | 细胞色素P450<br>单加氧酶                 | [30] |
|        | Kilonensis假单胞菌M9 | 三唑磷  | 4H-1,2,4-三唑-苯磺酰胺、1,2,4-三唑-4-胺、苯磺酸肼、4,5-2H-N-(O-苯甲基)-3-糠酰胺、苯磺酸甲酯、甲基磷酸二丁酯 |                                  | [33] |
|        | 肺炎克雷伯菌 M6        | 多效唑  | 苯、1,3-二(1,1-二甲基乙基)、十二烷、4,6-二甲基、庚烷和丙酰胺、2,2-二甲基-n-(3-硝基苯)、3-(4-氯苯基丙 3-醇)  | 双加氧酶<br>异构酶                      | [28] |
|        | 哈茨木霉             | 戊唑醇  | 1-(4-氯苯)-4,4-二甲基-3-[(2-亚甲基肼)-1-亚甲基]甲基]戊烷-3-醇                            | 细胞色素P450<br>单加氧酶                 | [44] |
| 三唑环不裂解 | 北里孢菌A1<br>链霉菌D16 | 种菌唑  | 5-(4-氯苯)-2-(1-羟基-1-甲基)-3-羟基-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基甲基)环戊醇                    |                                  | [47] |
|        | 哈茨木霉             | 戊唑醇  | 5-(4-氯苯)-3-羟基-2,2-二甲基-3-[(2H-1λ <sup>4</sup> ,2,4-三唑-1-基)甲基]戊烷基乙酸       | 细胞色素P450<br>单加氧酶                 | [44] |

green 等<sup>[33]</sup>发现的 *kilonensis* 假单胞菌菌株 M9 降解三唑磷的产物包括 4H-1, 2, 4-三唑-苯磺酰胺、苯磺酸肼、苯磺酸甲酯等, 说明其在代谢过程中三唑环发生了裂解。Obanda 等<sup>[44]</sup>发现真菌哈茨木霉也能使戊唑醇的三唑环断裂, 并认为 CYP P450 是真菌中发挥三唑环裂解作用的酶, 但也有不裂解三唑环, 仅在侧链烷基上发生氧化反应的可能。

以上研究中, 恶臭假单胞菌 T7、肺炎克雷伯菌 M6 和铜绿假单胞菌 PS-4 裂解三唑环时, 都能以三唑类药物为唯一碳源进行代谢。但是一些三唑类降解菌无法裂解三唑环, Youness 等<sup>[39]</sup>发现, 芽孢杆菌 3B6 降解戊唑醇的两条途径为叔丁基羟化和烷基链 C1 羟化, 并未发生三唑环裂解, 而 Eizuka 等<sup>[47]</sup>发现的两种放线菌(北里孢菌属 A1、链霉菌属 D16)降解种菌唑未检出三唑环发生断裂的代谢物, 而以上几种无法裂解三唑环的微生物也不能将三唑类药物作为唯一碳源进行降解, 只能在其他碳源存在的情况下以共代谢的方式降解。Obanda 等<sup>[44]</sup>发现的哈茨木霉在不裂解三唑环的情况下会发生烷基链羟基化、羧基化或乙酰化。

根据以上研究可知, 加氧酶在三唑类农药的微生物降解中起到了举足轻重的作用, 微生物利用三唑类药物作为唯一碳源的能力与其裂解三唑环的能力存在较高的相关性。

### 3.2 三唑类农药的对映选择性降解

一些研究表明, 微生物对三唑类农药的降解存在对映选择性。Youness 等<sup>[39]</sup>发现, 芽孢杆菌对戊唑醇 3B6(+)-(S)-对映体的降解比(-)-(R)-对映体速度更快, 因此后者可能对非目标生物具有更强的杀菌活性和毒性; Li 等<sup>[49]</sup>发现, 无论在好氧或厌氧土壤中, S-(+)-戊唑醇的降解速度快于 R-(-)-戊唑醇, 其对映选择性与土壤有机碳含量有相关性, 在好氧土壤中, 对(+)-腈菌唑的降解优先于(-)-腈菌唑, 腈菌唑的对映体选择性与土壤 pH 值和土壤质地有明显的相关性, 而在厌氧土壤中, 两种对映体的降解速率相似; 而 Buerge 等<sup>[50]</sup>研究表明, 氟环唑对映体在碱性和弱酸性土壤中均存在选择性降解, 而在酸性土壤中则不存在选择性降解。

综上所述, 微生物对三唑类农药的对映选择

性降解现象较为普遍, 而市售的商用农药多为外消旋体, 可能导致降解效果不尽人意, 这为三唑类农药污染的生物修复提出了新的挑战。由于三唑类农药在农业生产中广泛使用, 其高毒性对生态环境和人类健康的负面影响日益突出。目前发现的三唑类农药降解菌包括细菌、真菌和放线菌, 绝大多数为细菌, 并以假单胞菌为主, 对三唑类农药降解酶及相关基因、三唑类农药的对映选择性降解现象和治理该类农药污染的微生物固定化技术相关的研究也相对较少。此外, 这些降解菌主要在实验室条件下开展相关研究, 而在大田条件下能否继续保持降解能力和促生作用, 以及修复改善作物的土壤环境, 这些问题还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] ROMAN D L, DENISA I V, MADALINA F, et al. Effects of triazole fungicides on soil microbiota and on the activities of enzymes found in soil: A Review[J]. *Agriculture*, 2021, 11(9): 893.
- [2] BAIBAKOVA E V, NEFEDJEVA E E, MALAWSKA M S, et al. Modern fungicides: Mechanisms of action, fungal resistance and phytotoxic effects[J]. *Annual research & review in biology*, 2019, 32(3): 1-16.
- [3] LAMB D C, MASPAHY F, KELLY D E, et al. Reconstitution, and inhibition of cytochrome P-450 Sterol $\Delta$ 22-desaturase from the pathogenic fungus *Candida glabrata*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43(7): 1725-1728.
- [4] 田春燕, 徐军, 董丰收, 等. 微生物降解三唑类杀菌剂研究进展[J]. *农药学报*, 2016, 18(2): 141-150.
- [5] 郑金伟, 何健, 王哲, 等. 苯醚甲环唑降解菌 B2 的分离、鉴定及其降解特性[J]. *中国环境科学*, 2009, 29(1): 42-46.
- [6] 郑璐. 多效唑和烯效唑与植物赤霉素合成酶的分子反应机制[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019.
- [7] CHEN J, XU L, GIESY J P, et al. Biodegradation of paclobutrazol by a microbial consortium isolated from industrially contaminated sediment[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2010, 92(8): 1487-1494.
- [8] 刘娜, 金小伟, 穆云松, 等. 三唑酮在水环境中的环境行为、毒性效应及生态风险[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(4): 65-75.

- [9] JIANG J, ZHANG C, WANG L, et al. Insights into the combined effects of environmental concentration of difenconazole and tebuconazole on zebrafish early life stage [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 830: 1–12.
- [10] WANG Y, NING X, LI G, et al. New insights into potential estrogen agonistic activity of triazole fungicides and coupled metabolic disturbance[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 1–10.
- [11] YU S, WANG Y, SHEN F, et al. Emergence of triazole resistance in *Aspergillus fumigatus* exposed to paclobutrazol[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(51): 15538–15543.
- [12] 巫蕊霖. 多效唑对烟曲霉的三唑类医药敏感性影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [13] MISRA N N. The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2015, 45(2): 229–244.
- [14] JOVIC M, MANOJLOVIĆ D, STANKOVIĆ D, et al. Degradation of triketone herbicides, mesotrione and sulcotrione, using advanced oxidation processes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 260:1092–1099.
- [15] KAUR T, A P TOOR, R K WANCHOO. UV-assisted degradation of propiconazole in a TiO<sub>2</sub> aqueous suspension: identification of transformation products and the reaction pathway using GC/MS[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2015, 95 (6): 494–507.
- [16] SAADAoui H, BOUJELBANE F, SERAIRI R, et al. Transformation pathways and toxicity assessments of two triazole pesticides elimination by gamma irradiation in aqueous solution[J]. *Separation and Purification Technology*, 2021, 276: 119381.
- [17] MARTÍNEZ-ESCUADERO C M, GARRIDO I, FLORES P, et al. Remediation of triazole, anilino-pyrimidine, strobilurin and neonicotinoid pesticides in polluted soil using ozonation and solarization[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 310: 1–10.
- [18] 杨鹤云, 郑兴. 高级氧化法降解有机污染物的应用及研究进展[J]. *水处理技术*, 2021, 47(12): 13–18.
- [19] KAUR R, SINGH D, KUMARI A, et al. Pesticide residues degradation strategies in soil and water: a review [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2023, 20(3): 3537–3560.
- [20] 肖瑾. 美人蕉和菖蒲对水体中三唑磷去除作用的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [21] 成水平, 肖瑾, 肖惠萍, 等. 美人蕉对水体三唑磷降解作用研究[J]. *水生生物学报*, 2008(3): 437–439.
- [22] LYU T, ZHANG L, XU X, et al. Removal of the pesticide tebuconazole in constructed wetlands: Design comparison, influencing factors and modelling[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 233: 71–80.
- [23] XU P, HUANG L. Stereoselective bioaccumulation, transformation, and toxicity of triadimefon in *Scenedesmus obliquus*[J]. *Chirality*, 2017, 29(2): 61–69.
- [24] 杨英利. 藻类对苯胺和三唑磷的积累、降解和抗氧化酶反应[D]. 武汉: 华中师范大学, 2006.
- [25] 李爱民. 藻类对三唑磷的富集与降解研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2006.
- [26] BOSE S, KUMAR P S, DAI-VIET N V O, et al. Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2021, 19 (4): 3209–3228.
- [27] KUMAR G, LAL S, MAURYA S K, et al. Exploration of *Klebsiella pneumoniae* M6 for paclobutrazol degradation, plant growth attributes, and biocontrol action under subtropical ecosystem[J]. *PloS one*, 2021, 16(12):1–20.
- [28] KUMAR G, LAL S, BHATT P, et al. Mechanisms and kinetics for the degradation of paclobutrazol and biocontrol action of a novel *Pseudomonas putida* strain T7 [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 175: 1–10.
- [29] SARKAR, SEENIVASAN S, PREMKUMAR R, Seenivasan. Biodegradation of propiconazole by *Pseudomonas putida* isolated from tea rhizosphere[J]. *Plant, soil and environment*, 2009. 55(5): 196–201.
- [30] SATAPUTE, P B. KALIWAL. Biodegradation of the fungicide propiconazole by *Pseudomonas aeruginosa* PS-4 strain isolated from a paddy soil[J]. *Annals of Microbiology*, 2016, 66(4): 1355–1365.
- [31] WANG Y, SHEN Z, FENG F, et al. Isolation, characterization and application of the epoxiconazole-degrading strain *Pseudomonas* sp. F<sub>1</sub> in a soil-vegetable system [J]. *Chemosphere*, 2022. 305: 1–11.
- [32] SHI Y, REN L, YAN Y. Draft genome sequence of the organophosphorus-degrading bacterium *pseudomonas* sp. Strain 1-7, isolated from organophosphorus-polluted

- sludge[J]. Genome Announcements, 2014, 2(5): 1–2.
- [33] AMBREEN S A, YASMIN. Novel metabolites of triazophos formed during degradation by bacterial strains *Pseudomonas kilonensis* MB490, *Pseudomonas kilonensis* MB498 and *pseudomonas* sp. MB504 isolated from cotton fields[J]. J Environ Sci Health B, 2020, 55(12): 1106–1113.
- [34] 申志慧. 氟环唑降解菌的筛选鉴定及其降解特性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- [35] 蔡慧敏, 曹之富, 赵建庄, 等. 苯醚甲环唑降解菌 BMJHZ-01 的分离鉴定及降解影响因素[J]. 农药学报, 2015, 17(5): 590–595.
- [36] ALEXANDRINO D A M, MUCHA A P, ALMEIDA C M R, et al. Microbial degradation of two highly persistent fluorinated fungicides—epoxiconazole and fludioxonil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 394: 1–43.
- [37] LOPES F M, BATISTA K A, BATISTA G L A, et al. Biodegradation of epoxyconazole and piraclostrobin fungicides by *Klebsiella* sp. from soil[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 26(7): 1155–1161.
- [38] 鹿文红. 三唑醇降解菌的筛选与降解特性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
- [39] YOUNESS M, SANCELME M, COMBOURIEU B, et al. Identification of new metabolic pathways in the enantioselective fungicide tebuconazole biodegradation by *Bacillus* sp. 3B6[J]. J Hazard Mater, 2018. 351: 160–168.
- [40] 汤鸣强. 三唑磷降解菌的分离鉴定及其降解酶特性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [41] WANG X, HOU X, LIANG S, et al. Biodegradation of fungicide Tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018. 127:185–191.
- [42] SUN T, MIAO J B, SALEEM M, et al. Bacterial compatibility and immobilization with biochar improved tebuconazole degradation, soil microbiome composition and functioning[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 398:1–34.
- [43] WACHOWSKA U, KUCHARSKA K, PLUSKOTA W, et al. Bacteria associated with winter wheat degrade fusarium mycotoxins and triazole fungicide residues[J]. Agronomy, 2020, 10(11): 1673.
- [44] OBANDA D N, T F SHUPE, W J CATALLO. Resistance of *Trichoderma harzianum* to the biocide tebuconazol—Proposed biodegradation pathways[J]. hfs, 2008, 62(5): 613–619.
- [45] WOO C, DANIELS B, STIRLING R, et al. Tebuconazole and propiconazole tolerance and possible degradation by Basidiomycetes: A wood-based bioassay[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2010, 64(5): 403–408.
- [46] SONDHIA S, RAJPUT S, VARMA R K, et al. Biodegradation of the herbicide penoxsulam (triazolopyrimidine sulphonamide) by fungal strains of *Aspergillus* in soil [J]. Applied Soil Ecology, 2016, 105: 196–206.
- [47] EIZUKA T, ITO A, CHIDA T. Degradation of Ipconazole by Microorganisms Isolated from Paddy Soil [J]. Journal of Pesticide Science, 2003, 28(2): 200–207.
- [48] VAN EERD L L, HOAGLAND R E, ZABLOTOWICZ R M, et al. Pesticide metabolism in plants and microorganisms[J]. Weed Science, 2003, 51: 472–495.
- [49] LI Y, DONG F, LIU X, et al. Enantioselectivity in tebuconazole and myclobutanil non-target toxicity and degradation in soils[J]. Chemosphere, 2015, 122: 145–153.
- [50] BUERGE I J, POIGER T, MULLER M D, et al. Influence of pH on the stereoselective degradation of the fungicides epoxiconazole and cyproconazole in Soils[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(17): 5443–5450.