

· 综 述 ·

可降解新烟碱类杀虫剂微生物及其代谢途径的研究进展

陈星茹, 方诗琦, 万爽, 周雯雯, 孙超, 李骏

江西农业大学 食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045

陈星茹, 方诗琦, 万爽, 周雯雯, 孙超, 李骏. 可降解新烟碱类杀虫剂微生物及其代谢途径的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(12): 4462-4497.

CHEN XR, FANG SQ, WAN S, ZHOU WW, SUN C, LI J. Microorganisms capable of degrading neonicotinoids and their metabolic pathways: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(12): 4462-4497.

摘 要: 新烟碱类化合物基于烟碱结构改造修饰制备, 相较菊酯、含磷类等杀虫剂, 因其选择性毒力被认为是一类对人类和生态无害的农药。然而, 近年来由于新烟碱类杀虫剂 (neonicotinoid insecticides) 过度施用, 其残余或转化的物质通过在土壤与水体中累积, 影响昆虫甚至哺乳动物及其生理与行为, 导致了一系列生态环境问题和继发危害。本文聚焦新烟碱类杀虫剂的产业现状, 面向生物降解新烟碱类杀虫剂这一迫切需求, 围绕新烟碱类杀虫剂的微生物菌株资源, 重点阐述微生物降解新烟碱类杀虫剂的代谢机制及其多样性。通过梳理新烟碱类杀虫剂生物降解及其应用转化的关键问题和前沿进展, 旨在为借助合成生物学和宏基因组学手段建立或筛选安全可控的新烟碱类杀虫剂的高效转化体系提供参考。

关键词: 新烟碱; 微生物降解; 代谢途径; 生态修复

Microorganisms capable of degrading neonicotinoids and their metabolic pathways: a review

CHEN Xingru, FANG Shiqi, WAN Shuang, ZHOU Wenwen, SUN Chao, LI Jun

College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

Abstract: Neonicotinoid compounds are usually considered harmless and eco-friendly in terms of their

Received: June 1, 2022; **Accepted:** August 26, 2022; **Published online:** September 1, 2022

Supported by: National Natural Science Foundation of China (31800118, 32260032); Double Thousand Talent Plan of Jiangxi, China (jxsq2019101054)

Corresponding author: LI Jun. E-mail: lijunbioinfo@163.com

基金项目: 国家自然科学基金 (31800118, 32260032); 江西双千计划 (jxsq2019101054)

targeted toxicity compared to that of pyrethroids and phosphorus-containing pesticides. However, overuse of neonicotinoid insecticides resulted in the accumulation of its residuals or intermediates in soil and water, which consequently affected beneficial insects as well as mammals, yielding pollution and secondary risks. This review summarized the recent advances in neonicotinoid degrading microorganisms and their metabolic diversity, with the aim to address the urgent need for degrading these insecticides. These advances may facilitate the development of controllable and reliable technologies for efficiently transforming neonicotinoid insecticides into value-added products by synthetic biology and metagenomics.

Keywords: neonicotinoids; microbial degradation; metabolic pathway; ecological remediation

杀虫剂是重要的植保物资，和除草剂、杀菌剂等农药共同在农业生产中发挥着重要作用。杀虫剂可以减少人力劳动成本，防治病虫害减少农作物损失维持高产，预防并限制农作物病虫害疾病传播，在稳定农产品供给和保障食品的安全方面发挥作用。现阶段我国乃至世界层面应用较多的几类农药类化学杀虫剂为：拟除虫菊酯类、含磷类、氨基甲酸酯类、新烟碱类。有机氯农药虽然高效低毒，但由于其性质稳定、降解困难、残留时间长、脂溶性强、累积浓度大，易在动植物中累积，最终通过食物链进入人体威胁人类健康。世界各国已经明令禁止将典型有机氯杀虫剂六氯环己烷（六六六，hexachlorocyclohexane）和双对氯苯基三氯乙烷（滴滴涕，dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT）应用于农业生产方面，我国在1983年已经停止相关农药的生产。需要注意的是，DDT可用于控制蚊子的繁殖以及预防疟疾、登革热、黄热病等疾病。

我国1990–2016年的农药施用量增长了近1.4倍，从 7.33×10^5 t增至 1.74×10^6 t，位居世界第一，农药施用量也从 4.9 kg/hm^2 增长到 10.4 kg/hm^2 ，增幅达到112.24%^[1]。近期，“十三五”相较“十二五”，全国种植业农药年均施用量由年均 2.998×10^5 t下降为 2.703×10^5 t，同比降低9.84%；2019年农业及植保部门的数

据调查表明，我国第一产业对农药的需求总量为 9.2×10^5 t^[2]。人们已经意识到高毒性高残留的杀虫剂应被及时限制和逐步取代，相关微生物降解和土壤转化行为引发关注，所以近几年杀虫剂的产量和用量均有一定下降，但生物农药的需求却日益迫切。前期较大的施用量导致出现新烟碱类杀虫剂在土壤中残余积累、溶淋、吸收、转化及渗入水体径流等问题。微生物降解实现杀虫剂污染物的绿色转化已成为生态修复前沿研究领域，但普遍存在降解分子机制不清晰和实际应用效果不佳等问题，急需采取合成生物学手段改造底盘提升效率。

1 新烟碱类杀虫剂及其作用机理

新烟碱类杀虫剂是在烟碱分子基本结构（烟碱，又称尼古丁，吡啶+吡咯烷含氮杂环，主要降解方式：吡啶、吡咯、吡啶吡咯烷杂合途径）基础上，修饰官能团得到的一大类人工转化合成的化合物^[2-5]，对鞘翅目、同翅目及鳞翅目具有较好防治效果。具有杀虫活性的环状或开链的新烟碱类化合物的结构可分为A、B、C三个模块，分别为桥链、杂环和药效基团（图1）。其中A为桥链结构，可为环或是非环结构，环结构可为五元环或是六元环，此外 R_1 、 R_2 基团之间可插入一个O或N或取代N；B为杂环结构，根据此杂环结构可以将新烟碱类杀

虫剂分为 3 代：第一代以吡虫啉为代表的氯代吡啶，第二代以噻虫嗪为代表的氯代噻唑，第三代以呋虫胺为代表的四氢呋喃环；C 为修饰型药效团，主要包括硝基烯胺-N-C (or N)=CH-NO₂、硝基胍-N-C (or N)=N-NO₂、氰基脒-N-CH=N-CN 三大类^[3]。

新烟碱类杀虫剂尽管效力和选择性毒力存在差异，但具有共同的作用机理：类似神经递质的“激动剂”作用，亲和并攻击烟碱乙酰胆碱受体 (novel analogues of nicotinic acetylcholine receptor, nAChRs)，产生神经刺激，受体凝块影响中枢神经系统 (包括交感、副交感神经)，导致麻痹瘫痪，最终死亡。新烟碱类杀虫剂对昆虫 nAChRs 的亲合力大于脊椎动物，所以该药物多作用于昆虫中枢神经系统，对哺乳动物具备选择性毒性，因此对人体相对安全，且与传统农药通常不存在交互抗性^[4-6]。

新烟碱类杀虫剂凭借其强亲水性、广谱性、环境友好性、低毒、用途广泛、多功能性等优势，迅速打开了世界农药市场。已有 120 多个国家批准将其用于 140 多种农作物，并且被广泛应用于种子处理、土壤处理及叶面喷洒等方面^[7]。新烟碱类杀虫剂不仅可防治植物的病虫害，还能作为兽药除去动物体表的跳蚤等害虫^[8]。此类杀虫剂主要用于控制农作物

中以鳞翅目、鞘翅目和半翅目为代表的吸、蛀和食根害虫^[7-9]。

新烟碱类杀虫剂按结构主要分为 3 大类^[10]：(1) 氯代吡啶化合物 (吡虫啉[一代]、烯啶虫胺[一代]、啉虫脒[一代]、噻虫啉[一代]、啉虫啉、戊吡虫胍、环氧虫啉)；(2) 氯代噻唑化合物 (噻虫嗪[二代]、噻虫胺[二代]、氯噻啉)；(3) 四氢呋喃化合物 (呋虫胺[三代])；而氟啉虫胺属于吡啶杂环类。或按其药效团的结构分类^[3,11]，硝基亚甲基类：烯啶虫胺、环氧虫啉、啉虫啉；硝基亚胺类：吡虫啉、噻虫胺、噻虫嗪、呋虫胺、氯噻啉、戊吡虫胍；脒基亚胺类：啉虫脒、噻虫啉、氟啉虫胺脒 (表 1)。

2 新烟碱类杀虫剂在自然环境中的降解行为和生态风险

因其新颖的作用方式、高效、广谱等特点，新烟碱类化合物已成为水稻、瓜果、蔬菜等农作物种植过程中防治害虫的有效杀虫剂。然而在使用过程中由于其活性成分仅少量能有效作用于靶标生物，加之长期大量施用甚至滥用，导致药物大量残留在水体和土壤等环境介质中，并可能经历不同的自发化学过程，如光解、水解、蒸发、扩散、沉积、地表径流、解吸、吸附、淋滤等^[12]。

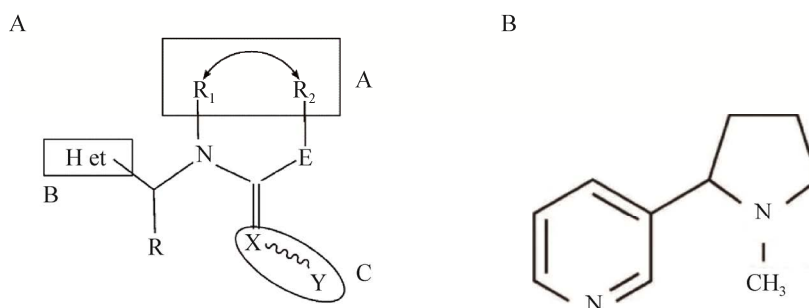


图 1 新烟碱类化合物 (A) 与尼古丁 (B) 的结构示意图^[3,5]

Figure 1 Schematic structure of neonicotinoids compounds (A) and nicotine (B)^[3,5].

表 1 新烟碱类杀虫剂简介^[11-18]Table 1 General features of neonicotinoid representatives^[11-18]

| Compound abbreviation | Melting point (°C) | Chemical formula | Molecular weight (g/mol) | Chemical structure |
|-----------------------|--------------------|--|--------------------------|--------------------|
| Imidacloprid IMI | 136.4–143.8 | C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂ | 255.67 | |
| Acetamiprid AAP | 101.0–103.2 | C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄ | 222.68 | |
| Clothianidin CLO | 176.8 | C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S | 249.68 | |
| Thiacloprid THI | 128.0–129.0 | C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S | 252.72 | |
| Thiamethoxam TMX | 139.1 | C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S | 291.71 | |
| Dinotefuran DIN | 94.5–101.5 | C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₃ | 202.21 | |
| Cycloxaprid CYC | 149.0–150.0 | C ₁₄ H ₁₅ ClN ₄ O ₃ | 322.75 | |
| Nitenpyram NIT | 83.0–84.0 | C ₁₁ H ₁₅ ClN ₄ O ₂ | 270.72 | |
| Sulfoxaflor SUL | 112.9 | C ₁₀ H ₁₀ F ₃ N ₃ OS | 277.27 | |
| Paichongding IPP | 130.2–131.9 | C ₁₇ H ₂₃ ClN ₄ O ₃ | 366.84 | |
| Imidaclothiz IMT | 146.8–147.8 | C ₇ H ₈ ClN ₅ O ₂ S | 261.69 | |
| Guadipyr GUA | 112.0–114.0 | C ₁₂ H ₁₂ ClN ₆ O ₂ | 312.76 | |

光介导的降解是环境水体中残留新烟碱类杀虫剂自然降解的重要途径之一,可有效降解分子结构中含硝基胍取代基的噻虫啉、噻虫嗪等药物^[13]。例如,模拟自然光^[14]、紫外光诱导^[15]等可有效除去水体噻虫嗪污染。围绕新烟碱类杀虫剂残余和积累可能的生态环境安全风险进行分析,不难发现:(1)不论是自然光解过程,还是综合采用各种高级氧化处理方法,均难以达到完全矿化去除目标化合物的目的,各种转化产物仍旧存在于水环境,甚至部分转化产物的稳定性高于母体化合物,表现出一定的持久性,而这些转化产物的生物毒性效应及环境健康风险尚不清楚;(2)土壤和水体环境介质中的各种因素,如pH、温度、共存阴离子和共存阳离子等,可显著影响药物原体的光降解效率、光化学反应历程、转化产物形态等,而相应的毒性特征是否会产生较大变化以及变化趋势如何,这个问题亟待研究解决^[16];(3)新烟碱类化合物,尤其是其光解过程对非靶标生物的潜在毒性效应,有待进一步研究。少数报道显示:即使光解条件良好,短期重复低浓度吡虫啉污染,依然对水生生态系统物种数量产生影响,例如蜉蝣目生物丰度和羽化率及摇蚊存活数量下降^[17];对噻虫嗪光解产物进行生物毒性测试发现,转化产物对绿藻及发光细菌的毒性效应高于母体化合物^[18]。因此,深入研究新烟碱类杀虫剂在光解过程中的毒性效应和对环境健康的潜在风险成为一项紧迫的任务。总而言之,光降解难以达到完全矿化去除污染物的目的,转化产物稳定性与继发毒性效应存在不确定性,水环境中的各种因素如pH、温度、阳离子和阴离子等可显著影响药物原体的光降解,而且新烟碱污染物及其自然环境中降解过程的中间化合物与一系列生态环境问题存在相关性^[17-18]。

新烟碱类分子可发生亲核取代反应水解,

这一反应受到温度、pH、含氧量、土壤粒径等因素的影响^[19]。以啉虫脒为例,该物质在碱性条件下半衰期更短、水解速率更快;此外,一定程度上环境温度越高,水解速率相应会越快^[20]。不同的新烟碱类杀虫剂在土壤中的半衰期不同,如啉虫脒在土壤中的半衰期范围为1–45 d^[21],噻虫胺在土壤中的消解半衰期为24.3–26.4 d^[22]。同种新烟碱类杀虫剂在不同的土壤环境中半衰期也不同,如噻虫胺在北京、贵州、山东的土壤中半衰期分别为9.4–21.0 d、18.7 d、11.6–15.8 d^[23]。北京试验点土壤为pH 6.8–7.2潮土,山东试验点土壤为pH 7.94壤土,贵州试验点土壤为pH 5.0–6.5黏土。三地试验点土壤pH差异可能导致噻虫胺消解速率不同,且土壤酸度越大,噻虫胺在土壤中的半衰期可能越长。

新烟碱类杀虫剂在自然土壤中可自发降解。新烟碱类杀虫剂分子在土壤中主要通过表面物理吸附方式与土壤颗粒结合,绝大多数该类农药分子都具有较小的分子量、强的极性,导致与土壤结合后农药分子极易从土壤中解析出来,从而结合土壤水、进入地表径流及地下水,并在水生态系统中发生扩散^[19]。该类杀虫剂以及中间转化物质存在一定的生态风险,会通过食物链积累在动植物与人体中。新烟碱类杀虫剂在全球已经被广泛使用,由于其高残留、难降解、降解产物可能比母体化合物毒性更大等特点,过度施用后对生态系统中的非靶标生物、土壤水体环境会造成损害。

现已围绕飞行生物、水生生物、陆生生物以及人类,进行了新烟碱类杀虫剂的毒理学研究。施用在农作物上的新烟碱类杀虫剂,被植物的根叶吸收,分布在植物的各个组织中,以该植物为食的昆虫会被杀死或者生理代谢受到抑制,包括协助植物传授粉繁育的益虫如蝴蝶、蜜蜂,即此类农药不区分害虫益虫。此外,以

害虫为食的益虫也会受到影响,即使益虫未直接因杀虫剂而被完全消灭,也会因为食物链影响导致繁殖能力下降、数量减少而无法消灭害虫。新烟碱类杀虫剂的大量使用和高度残留,对以蜜蜂为代表传粉/授粉者造成了严重威胁。蜜蜂可通过直接或间接接触、摄取、吸入等多种途径暴露于新烟碱类杀虫剂继而影响其生理代谢和种群结构,与其他多方面因素共同作用导致蜂群崩溃综合征(colony collapse disorder, CCD)。具体方式包括:摄入含新烟碱类杀虫剂残留的食物,筑巢材料(树脂、蜡等)受到污染,喷洒农药时直接接触喷雾或尘埃,与受污染的植物、土壤或水接触,以及吸入被新烟碱类杀虫剂污染的空气等^[24]。苍涛等采用饲喂法和点滴法测定了9种新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性经口毒性和急性接触毒性,试验结果表明:几乎所有供试新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性为中毒级以上,且大多对蜜蜂的急性经口毒性显著高于其接触毒性^[25]。农业生产随着相关施用技术的发展,蜜蜂一般不会与新烟碱类杀虫剂直接接触导致急性致死,但其对蜜蜂的亚致死暴露累积效应应该引起重视。蜜蜂长期暴露于低浓度的新烟碱类杀虫剂中,该类物质在体内大量积累,除导致致命死亡外,还会引起其行为和生理机能的改变如影响体重、飞行定位、成蜂寿命、生殖、学习能力、免疫系统等^[26]。无独有偶,此类杀虫剂也会杀死蝴蝶、蜻蜓、瓢虫等其他自然传粉者,从而影响生态系统以及粮食产量^[27]。Forister等通过定时反复对同一区域67种蝴蝶的种群数据进行统计,发现在控制土地利用和其他因素的同时,蝴蝶种群数量与新烟碱类杀虫剂的施用量之间呈现负相关性^[28]。

以往普遍认为新烟碱类杀虫剂对脊椎动物鸟类的危害较小,但越来越多的证据表明,新

烟碱类杀虫剂在环境浓度下对鸟类具有直接或间接的不利影响,集中体现在鸟类种群数量减少,可能与鸟类直接饮水引发急性毒性、环境中药物残留引起鸟类慢性毒性和亚致死效应、鸟类食物资源(昆虫)数量减少等有关。Hallman等通过对2003–2009年吡虫啉在地表水中的平均浓度与当地同期鸟类种群趋势的空间相关性进行评估,发现当地农田鸟类种群内在增长率与吡虫啉浓度呈负相关^[29]。将成年红腿鹬暴露于31.9 mg/(kg·d)的吡虫啉10 d,可直接导致其卵子的受精率降低、鸟蛋的尺寸减小、其后代的免疫力降低^[30]。

新烟碱类杀虫剂对鱼类、水生植物、水生无脊椎动物、其他水生微生物等水生生物具有不同程度的毒理学影响。Finnegan等研究了噻虫嗪对水生植物、无脊椎动物和鱼类的急性毒性,在测试中观察到水生植物和鱼类是最不敏感的生物,无脊椎动物尤其是昆虫较敏感^[31]。新烟碱类杀虫剂对鱼类的亚致死毒性表现在诱导鱼类大量积累活性氧(reactive oxygen species, ROS)、DNA损伤、代谢物及其含量变化、遗传与免疫系统毒性,而对水生无脊椎动物的亚致死毒性效应则表现在影响其摄食、运动等行为和神经系统^[31–33]。有研究表明,若长期接触新烟碱类杀虫剂,水生微生物以及浮游植物的数量和多样性均会减少^[33]。

新烟碱类杀虫剂可通过直接接触或食物链来影响陆生生物。软体动物和以蚯蚓为代表的环节动物由于皮肤会直接接触到大面积土壤而更容易暴露于含有这些杀虫剂的微环境中。对含有蚯蚓的人工土壤中施加呋虫胺,发现呋虫胺会诱导蚯蚓体内产生过量ROS,导致抗氧化酶活性和功能基因表达发生显著变化。此外,过量的ROS会氧化损伤脂质、蛋白质和核酸^[34]。通过研究环氧虫啉对蚯蚓的毒性作

用,发现环氧虫啉能引起蚯蚓体内的氧化应激,并影响过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的酶活性。CAT和SOD基因的表达分别下调和上调,乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)活性先升高后降低^[35]。

新烟碱类杀虫剂虽然对哺乳动物是急性的低毒性,但长期积累也会引起哺乳动物慢性、累积性的生殖和发育系统、神经、遗传以及脏器毒性效应。目前,关于新烟碱类杀虫剂对哺乳动物的毒性研究主要对象为大鼠、小鼠和兔子。吡虫啉能诱导雄性家兔的细胞间隙增加、睾丸间质细胞数量减少,会导致雌性大鼠卵巢重量减轻,促黄体激素、卵泡刺激素和孕酮水平也有显著改变^[36]。多数新烟碱类杀虫剂在一定浓度下会引起小鼠胚胎死细胞百分比增加,对其发育产生负面影响^[37]。Lonare等通过口服将成熟大鼠暴露于中高剂量吡虫啉28 d,发现大鼠的自发运动活性和疼痛阈值显著下降,且大鼠体内AchE、三磷酸腺苷酶和血清中生化活性物质水平也显著降低;但吡虫啉与姜黄素联合用药后,姜黄素通过抑制吡虫啉毒性效应,从而对小鼠起到潜在保护作用^[38]。高浓度和低浓度噻虫啉灌胃30 d后,发现大鼠骨髓细胞的有丝分裂指数和双核细胞数均显著下降,而染色体畸变率显著增加^[39]。雌性大鼠连续60 d口服20 mg/(kg·d)吡虫啉后,其肝组织出现了明显中央静脉扩张充血和细胞病变等病理学变化^[40]。

此外,体外细胞实验表明新烟碱类杀虫剂暴露会增加与乳腺癌相关的芳香化酶活性,或可能会诱发人类乳腺癌^[41];长期暴露于杀虫剂的施用者可能会出现DNA氧化损伤^[42]、肺功能紊乱^[43]。母体在怀孕期间接触该类物质或将提高新生儿罹患选择性先天心脏缺陷^[44]、自闭

症^[45]等疾病风险。新烟碱农药一直处于更新换代,新型化学修饰被逐步引入以降低对非害虫生物的毒性作用。新烟碱残留由于大量施用和后续土壤转化对生态环境和人体健康构成了一定威胁。基于环境微生物学技术实现绿色转化新烟碱类杀虫剂具有重要的科学意义和迫切的应用需求。

3 可降解不同种类新烟碱类杀虫剂的微生物

新烟碱类杀虫剂被使用后,仅5%–10%的杀虫剂会作用于靶标生物体,剩余90%–95%残留在环境中难以降解,甚至会产生几种比母体化合物毒性更强、持久性更长的化合物^[46]。过度施用新烟碱类杀虫剂,对非靶标生物体在内的生态环境造成了不利的影 响。目前对于水体中新烟碱类农药的去除方法主要有物理法、化学法、生物法等。为了有效除去环境中的新烟碱类外源性物质,物理吸附和高级氧化等物理化学方法被采用^[47-48]。物理降解过程主要涉及净化、吸附、超声波等,操作简单,易于操作,但是物理法并没有真正意义上把农药降解,而是转换农药的存在形式,容易对环境造成二次污染,随着时间的推移会进一步增加处理成本。化学法降解中有氧化、碱解、光催化降解等,使新烟碱类农药通过化学反应被分解成为分子量更小的产物。其中,光催化降解具有反应条件温和、效率高、低能耗、成本低廉、无二次污染等优点,能有效去除剧毒、低浓度、难降解的农药污染物,被认为是治理环境污染的有效方法,在农药废水处理领域表现出巨大的应用前景。其中,吡虫啉采用TiO₂吸附和紫外光解并条件优化,效率可达82%^[48],但实际处理反应条件难于标准化,样品预处理较为复杂,

产物毒性风险尚缺乏研究。物理方法预处理成本高且不能除去污染物本身,化学氧化的产物稳定性和毒性不明确。而生物法是利用微生物的代谢或催化作用令农药转变为小分子物质。生物法可以高效去除特定的新烟碱类农药,但是对于微生物纯培养条件要求苛刻,且筛选出有活性的菌株成本过高,难以满足实际应用中净化水体的需求。但微生物降解新烟碱类杀虫剂安全系数高、可操控性好,可以通过合成生物学分子改造策略进一步提升反应效率和体系稳定性。故而,借助微生物降解将有机化合物完全转化为无害的最终产物,如 CO_2 和 H_2O , 具备相对高效可靠、适应性强、操作简便、环境友好以及成本效益更高的优点^[49]。被有机物污染后的土壤中微生物大致可分为 4 类:一是能够降解该物质的微生物,二是对该物质存在一定抗性,三是能与降解菌共生,四是完全不应激该物质的微生物。现阶段已知发挥降解作用的主要是从被污染的土壤、水、沉积物中提取出来的细菌和真菌。长期施用新烟碱类杀虫剂的土壤中,可自然驯化出可降解该药物、具备土壤生物修复潜力的菌株。新烟碱类杀虫剂过度积累的土壤是具有降解该污染物能力微生物的重要来源,而且多元化土壤中微生物的降解行为和中间代谢物存在差异,代谢途径亦具有多样性。但其内部发挥降解作用的机制尚未明晰,参与新烟碱类杀虫剂代谢的酶、基因、质粒信息呈现碎片化。吡虫啉、啉虫脒与噻虫啉的矿化途径已经基本清晰,而对噻虫胺、呋虫胺、噻虫嗪与烯啉虫胺的生物降解途径认知尚存在欠缺。但是,可承担完全矿化新烟碱类杀虫剂的细菌遗传基础尚未被完整揭示出来,吡虫啉、啉虫脒、噻虫啉转化为 CO_2 和 H_2O 的整体过程需要多种细菌参与^[50]。在户外土壤中,新烟碱

类化合物的降解效率与土壤类型、土壤中 pH、含水率、有机质含量、阳离子交换量及环境温度、微生物的种类及其生长状况等密切相关。

与新烟碱类杀虫剂的生物降解有关的、已经被分离和鉴定的微生物包括芽孢杆菌 (*Bacillus*)、分枝杆菌 (*Mycobacterium*)、假黄单胞菌 (*Pseudoxanthomonas*)、根瘤菌 (*Rhizobium*)、红球菌 (*Rhodococcus*) 和寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*) (表 2)。用细菌进行生物降解主要有两种方法:纯培养细菌和微生物功能菌群的生物降解。细菌的生物降解可以是将农药作为生长所需的唯一的碳源和氮源,即分解代谢。细菌降解新烟碱也可以是共代谢,即除了农药(杀虫剂)外,还需外界补充额外的优势碳源和氮源。仅添加啉虫脒作为唯一碳源时,苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp. D-12) 能高效降解 73%啉虫脒,加入 <300 mg/L 葡萄糖作为额外补充碳源时,能促进啉虫脒的完全降解,反之会轻微抑制菌株的生长。单独添加氯化铵作为补充氮源,反而抑制了啉虫脒的降解。但是,同时添加葡萄糖和氯化铵作为共代谢底物时,与单独添加相比,降解效率更高^[51]。这表明额外葡萄糖作为能源可缩短菌株适应培养基的延滞期,便于提高菌量强化菌体与污染物之间的可及性;而氯化铵作为优势氮源导致 C:N 比例失调,反而阻遏了菌体对新烟碱类化合物中氮元素的利用。此外,部分碳水化合物和有机酸添加至含有吡虫啉的反应体系中,能够促进嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) CGMCC 1.1788 静息细胞对吡虫啉的转化。与未加蔗糖的反应介质相比,添加 5%蔗糖后生物转化率提高了 8.3 倍^[52]。综上所述,适量额外补充营养物质可以增强微生物转化新烟碱类杀虫剂的能力,优势碳氮源同时存在的条件下,微生物降解污染物的性能可能会更好。新烟碱

类杀虫剂代谢产物不仅会随着杀虫剂化学结构而变化,也会受到在特定环境下参与代谢微生物种类及其催化活性的影响^[53-54]。以上研究表明,微生物代谢新烟碱类杀虫剂的分子机制具有复杂性和多样性。

3.1 吡虫啉

吡虫啉 (imidacloprid, IMI) 属于第一代新烟碱类杀虫剂,因其具有优良内吸性、广谱性、高效低残留、与其他杀虫剂相比对人和动物相对安全等特点,而在农业领域被广泛使用^[54]。IMI 的最终使用浓度是由 41% 活性农药和 59% 惰性成分组成^[12],主要作用于禾谷类、马铃薯、甜菜、烟草、果树、蔬菜和棉花等作物,对水稻跳虫、蚜虫、蓟马等刺吸式口器害虫及鞘翅目害虫有良好的防治效果^[54]。需要注意的是,同翅目昆虫烟粉虱、根叶粉虱、灰飞虱、桃蚜、烟蚜等已经对吡虫啉产生了不同程度的耐药性^[54]。

从受污染的海洋沉积物中分离得到一株可降解多环芳烃的苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*), 将其在 37 °C、100 r/min 基本盐 (minimum salt medium, MSM) 培养基中培养 11 d 后, 78% 的 IMI 发生降解, 代谢产物为吡虫啉亚硝基胍 (nitroso imidacloprid, Im-1)、吡虫啉胍 (desnitro/guanidine imidacloprid, Im-8) 和 6-氯烟酸 (6-chloronicotinic acid, 6-CNA, Im-3)^[55]。Phugare 等对肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*) BCH1 对 IMI 的降解能力进行研究, 发现该菌在 pH 7.0、30 °C 的 MSM 中培养 7 d 后达到 78% 的降解率, 代谢产物与苏云金芽孢杆菌作用后一致; 并后续采用家蚕进行毒理学研究, 结果表明上述 3 种代谢产物比 IMI 毒性更低^[56]。从农业田中分离出假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) RPT 52, 并在 37 °C、100 r/min 条件下培养 40 h, IMI 的降解率为 46.5% (初始

浓度为 0.5 mmol/L), 生成比母体化合物毒性更低的吡虫啉脲 (imidacloprid-urea metabolite, Im-4)、1-(pyridine-3-ylmethyl) imidazolidin-2-one (Im-5), 表明 RPT 52 具有减少 IMI 潜在毒性的潜力^[57]。

根际微生物对环境污染物质具有独特的抗性, 具备分离鉴定后菌体性能分子改造用于土壤修复、降解杀虫剂残余的应用潜力。从根际土壤中分离得到的假黄单胞菌 (*Pseudoxanthomonas indica*) CGMCC 6648, 经纯培养在液体培养或土壤泥浆中降解 IMI 的速率达到 2.7 g/(L·h)。与其他纯培养细菌菌株相比, 菌株 CGMCC 6648 对 IMI 降解速率较快。5-羟基吡虫啉 (5-hydroxy imidacloprid, Im-6)、烯式吡虫啉 (olefinic imidacloprid, Im-7) 为代谢产物, 二者的转化效率分别受不同的碳水化合物和有机酸的影响。其中, 乳糖是该菌降解 IMI 的最佳共底物, 丙烯酸是将 Im-6 迅速转化为 Im-7 的最佳共底物, 而葡萄糖对此则有轻微的抑制作用^[58]。从水环境中分离得到侧膜薄层杆菌 (*Hymenobacter latericoloratus*) CGMCC 16346, 以麦芽糖为共代谢底物, 静息细胞在 6 d 内能降解 64.4% 的 IMI (初始浓度为 100 mg/L), 该菌处理后 IMI 的半衰期也由 173.3 d 降到 57.8 d。与菌株 CGMCC 6648 相比, 菌株 CGMCC 16346 在碳水化合物代谢和转运、细胞壁膜生物合成和防御机制等方面显著不同, 此菌更适应贫营养的水环境和生物膜, 有望用于消除地表水的 IMI 污染^[59]。

嗜气芽孢杆菌 (*Bacillus aerophilus*) 接种于砂壤土 (分别含浓度为 50、100 和 150 mg/kg 的 IMI)。与对照组相比, IMI 半衰期变短, 分别为 14.33 d、15.05 d、18.81 d, 均生成 Im-1、Im-3、Im-4、Im-6、Im-7、Im-8。对照组中 6-CNA 在砂壤土中残留时间最长^[60]。嗜麦芽寡养单

胞菌 (*S. maltophilia*) CGMCC 1.1788 能羟基化 IMI 生成杀虫活性强于母体的中间化合物, 同时酸性条件能促进 IMI 的转化过程^[61]。假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 1G 在微嗜氧条件下, 能够转化 IMI 生成 Im-1、Im-4 和 Im-8, 该菌也能降解噻虫嗪^[62]。同时, 人们从土壤中分离得到一株可矿化 6-CNA 的慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobiaceae*) SG-6C, 可以 6-CNA 为唯一碳源且将其最终矿化为 CO₂ 和 H₂O^[63]。

总之, 具备 IMI 降解能力的芽孢杆菌 (*Bacillus*)、恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)、短杆菌 (*Brevibacterium*) 被逐渐揭示^[64]。此外, IMI 污染土壤中分离的菌株, 混合培养用于生物降解表现为稳定性好、代谢性能强。如嗜气芽孢杆菌 (*Bacillus aerophilus*) 和碱性脲芽孢杆菌 (*Bacillus alkalinitrilicus*) 混合后接种于含有 IMI 的粘土壤后, IMI 半衰期变短, 为 13–16 d^[65]。此外, 部分藻类能在水体中 IMI 进行生物降解。自废水分离的微拟球藻 (*Nannochloropsis* sp.), 对初始浓度为 9.59 mg/L IMI 具有一定生物修复作用。在 20 h 内, 球藻降解了废水中 50% 的 IMI^[66]。需要注意, 研究发现用 4 种有机质含量不同的土壤进行 IMI 降解, 虽然代谢产物均为 Im-1、Im-4 和 Im-5, 但污染物总体降解率和代谢产物转化率差异较大^[67]。

3.2 啉虫脒

啉虫脒 (acetamiprid, AAP) 是一种新型的具有杀螨活性的广谱杀虫剂, 具有内吸性强、少量高效与常规农药无交互抗性等特点^[54]。AAP 是一种系统的土壤、枝叶杀虫剂, 市场最终使用浓度由 8.5% 的活性成分和 91.5% 的惰性成分组成^[12], 广泛用于水稻、蔬菜、水果、茶叶等作物。AAP 主要用于防治同翅目害虫 (蚜虫、叶蝉、粉虱等)、鳞翅目害虫 (菜蛾、小食

心虫等)、鞘翅目害虫 (天牛等)、蓟马目害虫 (蓟马等) 以及甲虫目害虫^[54]。

AAP 毒性广谱, 其生物降解引起了人们的关注并对此进行了诸多研究。温度和 pH 是影响微生物降解污染物的重要环境因素。从农药厂的污泥中分离得到假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) FH2, 接种于含 800 mg/L AAP 的基本盐培养基中, 在 pH 7.0、30 °C 条件下生长状态最佳, 14 d 后 AAP 可降解 53.3%, 30 d 后几乎完全降解^[68]。真菌镰刀菌 (*Fusarium* sp.) CS-3 在不同的 pH 值和温度下培养, 研究其对 AAP 的降解能力, 发现此菌具有良好的土壤修复能力, 在液体培养 (初始浓度为 50 mg/L) 和土壤中 (初始浓度为 50 mg/(kg·soil)) 降解率分别为 98.0% 和 99.6%, 且在较宽的 pH 值 (5.0–8.0) 和温度 (20–42 °C) 范围内均保持了对 AAP 的降解能力。但降解最适 pH 值为 5.0–7.0, 初始 pH 低于 4.0 或大于 8.0 降解效果下降。25–30 °C 能达到最高的降解效率, 在 20 °C 或 42 °C 时降解率减小了一半。N'-((6-chloropyridin-3-yl) methyl)-N-methyl-acetamide (Ac-3)、N-methyl-(6-chloro-3-pyridyl) methyl-amine (Ac-4)、2-chloro-5-hydroxymethylpyridine (Ac-7)、6-CNA (Ac-8) 是主要的代谢中间体化合物^[69]。

草木犀剑菌 (*Ensifer meliloti*) CGMCC 7333 静息细胞在 30 °C、pH 7.5、220 r/min 条件下以 500 mg/L 的 AAP 为唯一氮源培养 96 h 后, 可降解 65.1% 的 500 mg/L 的 AAP, 主要生成 N-amido-amide metabolite (Ac-1)^[70]。从活性污泥中分离出噬染料菌 (*Pigmentiphaga* sp.) D-2, 接种至 AAP 为唯一碳源的 MSM, 37 °C 培养 3 d 后降解率高达 99%, 分析发现 N'-cyano-N-methyl-N-(pyridin-3-ylmethyl)-ethanimidamide (Ac-2)、N'-((6-chloropyridin-3-yl) methyl)-N-methyl-acetamide (Ac-3)、N-methyl-(6-chloro-3-

pyridyl) methyl-amine (Ac-4) 为主要中间代谢产物^[71]。从土壤中分离得到的噬染料菌 (*Pigmentiphaga* sp.) AAP-1 能利用 AAP 作为唯一的碳源、氮源和能源, 但生长速度很慢。该菌 AAP 降解能力较强, 分别在 2.5 h 和 12.0 h 能将 MSM 培养基中 100 mg/L 和与 600 mg/L 的 AAP 完全降解, 并生成 Ac-4^[72]。窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas* sp.) THZ-XP 在 30 °C、pH 7.0、含有 1 000 mg/L AAP 的矿物培养基中生长最快, 降解速率最快, 生成 Ac-3^[73]。故而相比其他纯培养的细菌, 噬染料菌 (*Pigmentiphaga* sp.) AAP-1 和窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas* sp.) THZ-XP 在受污染的 AAP 土壤中有更强生物修复能力。

从采月湖水表分离得到的贪噬菌 (*Variovorax boronicumulans*) CGMCC 4969, 在 40 °C、pH 7.0 条件下, 能将初始浓度 2 mg/L 的 AAP 于 120 h 内降解 34.7%, 半衰期为 182 h, 主要代谢产物为 Ac-1。基因克隆和异源表达研究表明, AAP 对 Ac-1 的水合作用是由负责催化酰胺基的脒水合酶介导的^[74]。嗜麦芽寡养单胞菌 (*S. maltophilia*) CGMCC 1.1788 转化 IMI 活性较高, 而且可在蔗糖共培养 8 d 后降解了 58.9% 的 AAP (初始浓度为 2.55 mmol/L), 去甲基化生成中间代谢物^[61]。假黄单胞菌 (*Pseudoxanthomonas* sp.) AAP-7 通过水解或去甲基化降解 AAP 生成中间体 Ac-4^[75]。红球菌 (*Rhodococcus* sp.) BCH-2 利用葡萄糖和氯化铵将 AAP 降解生成 Ac-1、Ac-4 与 6-CNA^[76]。

大多数微生物在高浓度农药下生长和代谢受到抑制, 或因为产生的代谢物比农药前体毒性更大, 故不具备生物降解高浓度农药的能力或降解效果不佳。从被农药污染的农业土壤中分离得到的苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp.) D-12, 虽能在 MSM 中培养 12 h 后降解 3 000 mg/L 的

AAP, 但降解率仅有 39%。随着浓度降低, 降解率升高: 51% (2 500 mg/L), 56% (2 000 mg/L), 而且 N-methyl-(6-chloro-3-pyridyl) methyl-amine (AC-4) 被鉴定为 AAP 降解的中间代谢产物^[51]。

真菌编码大量氧化还原酶可能参与农药污染降解, 通过进行特定的修饰或串联酶反应, 转化污染物产生不同的代谢物, 故而近些年真菌也被用于不同种类农药的生物降解和生物转化过程。例如, 草酸青霉菌 (*Penicillium oxalicum*) IM-3 具有对 AAP 与 IMI 的生物降解能力, 但对同样为氯代吡啶类新烟碱类杀虫剂的噻虫啉 THI 与烯啶虫胺 NIT 无法降解。在 30 °C 的 MSM 中培养 14 d (分别含初始浓度 500 mg/L 的 AAP 和 IMI), 该菌株对 AAP (41.6%) 的降解率约是 IMI (14.1%) 的 3 倍, 并将 AAP 转化成 N-去甲基啉虫脒 (N-demethylated acetamiprid, Ac-5) 与 AC-3, 将 IMI 转化为 IM-6^[77]。白腐真菌 (*Phanerochaete sordida*) YK-624^[78]、白腐真菌黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) ME-446^[79] 和胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*) IM-2^[80] 等真菌亦表现出对 AAP 的生物降解能力。与 IMI 相似, 不同土壤作为反应介质对 AAP 的降解效果不同, 半衰期不同。研究表明, 在美国和欧洲的多种土壤中, AAP 通过有氧土壤代谢迅速降解, 半衰期为 1–8.2 d, 而在印度的田间条件下的半衰期为 16–17 d^[81]。

3.3 氯噻啉

氯噻啉 (imidaclothiz, IMT) 是我国自主研发的一种低毒、高效、具有广谱特性的新烟碱类杀虫剂, 但和众多新烟碱类杀虫剂一样, 对蜜蜂存在较高的风险。IMT 可以防治吮吸式口器害虫, 如蚜虫、叶蝉、飞虱、蓟马、粉虱及其抗性品系, 同时对鞘翅目、双翅目和鳞翅目害虫也有效。目前国内外对氯噻啉环境行为和

降解产物的研究相对较少。

嗜麦芽寡养单胞菌 (*S. maltophilia*) CGMCC 1.1788 对氯噻唑等新烟碱类杀虫剂 (噻虫嗪 TMX、噻虫胺 CLO 和氯噻啉 IMT) 生物转化的研究表明,该菌株无法转化噻虫嗪 TMX 和噻虫胺 CLO, 而 36.2%的 IMT (初始浓度 500 mg/L) 羟基化转化为 5-羟基氯噻啉 (5-hydroxy imidaclothiz, It-1) 和脱氢产生烯式氯噻啉 (olefin imidaclothiz, It-2)。加入细胞色素 P450 酶抑制剂——胡椒基丁醚后, 羟基化产物和脱氢产物减少表明 IMT 羟基化和脱氢由 P450 酶介导^[82]。

土壤中有有机质含量和微生物种群对降解过程很重要。通过灭菌和预处理的土壤有机质含量和微生物的活性下降之后, 发现 IMT 的生物转化效率显著下降。IMT 在未灭菌土壤中 25 d 后降解 25.1% (初始浓度为 20 mg/(kg·soil)), 产生代谢产物烯式氯噻啉 (olefin imidaclothiz, It-2)、开环氯噻啉 (seco imidaclothiz, It-3) 和氯噻啉亚硝基胍 (nitroso imidaclothiz, It-4)。灭菌后土壤 IMT 降解率仅为 9%, 表明土壤中的微生物参与或促进了 IMT 转化^[83]。IMT 在不同土壤 (黑土、红土和潮土) 的好氧和积水厌氧条件下稳定性不同。好氧条件下 IMT 在 3 种土壤中稳定存在, 72 d 内的降解率均小于 15%。相比之下, 在积水厌氧条件下, 降解速度稍快, 相同时间内降解率分别达到 94.59%、20.45%和 55.12%^[83]。

3.4 噻虫胺

噻虫胺 (clothianidin, CLO) 是一种高效、安全、选择性高的新型烟碱类杀虫剂, 其作用与尼古丁对乙酰胆碱受体效应相似, 可引起休克、胃毒性和内吸收, 但其生物降解过程及代谢物仍不太清楚。CLO 市场最终使用浓度由 48%活性成分和 52%惰性成分组成^[12], 主要作

用于水稻、果树、棉花等作物, 以控制半翅目、鞘翅目、双翅目和一些鳞翅目等害虫^[54]。

从 CLO 污染土壤中分离的施氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*) smk, 可以 CLO 为唯一碳源, 在 30 °C 和 pH 7.0 下生长, 14 d 后实现了 62%的 CLO 降解 (初始浓度 10 mg/L), 代谢产物为 2-chloro-5-methyl thiazole (CMT, Cl-6)、methyl nitroguanidine (MNG, Cl-5)、methyl 3-(thiazole-5-yl) methyl guanidine (TMG, Cl-7)。在不同的 pH 值和温度条件下对 CLO 的生物降解也进行了评估, 发现 pH 7.0 与 30 °C 环境中该菌能较高效转化 CLO^[84]。

嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp.)、假单胞菌 (*Pseudomonas*) 和约翰逊不动杆菌 (*Acinetobacter johnsonii*) 的混合菌群对 CLO (初始浓度为 500 mg/L) 进行生物降解, 15 d 内实现 79.3%的降解率, 主要代谢产物为 thiazol-methyl-urea clothianidin (TZMU, Cl-1)、N-(1,3-thiazole-5-ylmethyl)-N'-methylguanidine (TZMG, Cl-7) 和 5-amino-methylthiazol (MTZ, Cl-8)^[85]。将白腐真菌 (*Phanerochaete sordida*) 接种于含 CLO 的限氮液体培养基中, 30 °C 反应 20 d, 37%的 CLO 被降解并生成 Cl-1; 在培养基中加入细胞色素 P450 酶抑制剂后, 显著降低了对 CLO 的降解^[86]。

土壤中有有机质含量和微生物生长状况与 CLO 的生物降解速率密切相关。Mulligan 等对加利福尼亚稻田中 CLO 在好氧和厌氧条件下进行生物降解, 发现好氧条件下 (初始浓度为 20 mg/L), 无论土壤灭菌与否, 59 d 后降解率均在 29%左右。相反, 35 °C 厌氧条件下, 28 d 降解率达到 85%, 主要代谢产物为 Cl-1、thiazol-nitro-guanidine clothianidin (Cl-3)、nitroguanidine clothianidin (Cl-4)、methyl nitroguanidine clothianidin

(Cl-5)^[87]。Microbial degradation of acetamiprid by *Ochrobactrum* sp. D-12 isolated from contaminated soil. 主要代谢产物均为 Cl-1 和脱氯噻虫胺 (dechlorinated clothianidin, Cl-2)^[67]。

3.5 环氧虫啉

环氧虫啉 (cycloxaprid, CYC) 是我国自主研发的新烟碱类杀虫剂, 可用于水稻、蔬菜、果树、小麦、棉花和玉米等作物^[88]。CYC 具有杀虫谱广、低毒高效、低残留等特性, 可有效防治稻飞虱等半翅目害虫, 尤其是对褐飞虱等具备 IMI 抗性的害虫具有较好的防治效果。相比半翅目害虫, 鳞翅目害虫对 CYC 敏感性较差, 可其生物降解和代谢产物尚不清楚。

3.6 噻虫啉

噻虫啉 (thiacloprid, THI) 是一种常用于防治刺吸口器害虫、甲虫和鳞翅目害虫的氯代烟碱类杀虫剂, 适宜施用作物为水稻、果树、蔬菜、棉花和马铃薯^[54]。THI 商业配方由 48% 活性成分和 52% 的惰性成分组成^[12]。研究表明, 部分动物、植物和微生物能降解 THI。由于 THI 包含脒基团, 故而脒水合酶具备催化 THI 生物转化过程的潜力。贪噬菌 (*Variovorax boronicumulans*) J1 静息细胞在 30 °C 下, 60 h 内降解了 62.5% 的 THI (初始浓度为 200 mg/L), 其中 98% 转化为噻虫啉酰胺 (thiacloprid amide, Th-1)。克隆该菌脒水合酶基因后, 与载体连接并进行异源表达。结果表明不含脒水合酶基因的空质粒无法转化 THI, 而异源表达菌株能将 THI 氰基转化为酰胺基, 从而实现 THI 转化^[89]。草木犀剑菌 (*Ensifer meliloti*) CGMCC 7333 可在 60 h 内降解 86.8% 的 THI (初始浓度为 200 mg/L) 并生成 Th-1。克隆其脒水化酶基因并在大肠杆菌宿主中表达后, 酶提取物在 10 min 中可降解 80.7% 的 THI, 将酶纯化后 5 min 内降解 85.7% 的 THI^[90]。由此可见, THI 的主要降

解途径是脒水合酶 NHase 介导的。

微枝形杆菌 (*Microvirga flocculans*) CGMCC 1.16731 常作为一种生物肥料剂菌剂行使固氮作用, 还能通过脒水合酶 NHase 介导转化有效降解 THI, 液体试验中 30 h 内 THI 浓度下降 90.5% (初始浓度为 0.63 mmol/L), 半衰期为 9 h。该菌可在 9 d 内转化土壤中 92.4% 的 THI (初始浓度为 20 mg/(kg·soil))。两种条件下均水解 THI 生成 Th-1, 而后羟化成 4-羟基-噻虫啉 (4-hydroxy thiacloprid, Th-2)。毒理学研究表明, Th-1 对水生无脊椎动物大型蚤毒性相比于 THI 更低, 而对絮凝菌相对更高^[91]。此外, 脒水合酶也能直接催化 THI 羟化生成 Th-2。

嗜麦芽寡养单胞菌 (*S. maltophilia*) CGMCC 1.1788 能生物降解 THI (初始浓度为 200 mg/L), 当蔗糖作为额外的碳源和能源时 THI 的降解效率显著提高, 60 h 后底物几乎全部羟化为杀虫活性远远低于 THI 的 Th-2。该菌对 IMI 和 THI 的羟化位点是相同的, 且均需要细胞色素 P450 参与^[92]。少部分真菌也能生物降解 THI, 如黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*)^[93] 和胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*) IM-2^[80], 但研究较少。

土壤中有有机质含量与微生物种群状况与 THI 的生物降解效率密切相关。经过灭菌和预处理之后的土壤有机质含量、微生物数量与活性下降之后, 包括 THI 在内的多种新烟碱类杀虫剂的生物转化效率呈显著下降趋势。有研究表明对灭菌与未灭菌的土壤中 THI 降解进行了比较后发现, 未灭菌土壤中反应 15 d 后, 98.8% 的 THI 被降解。在灭菌的土壤中反应 25 d 后, THI 的降解率大幅下降至 27.6%。土壤、实验室或野外条件下测定 THI 半衰期在 5–27 d 不等^[83]。有氧条件下, THI 在黑土、潮土和红黏土中的半衰期分别为 24 d、11 d 和 9 d。相比于厌氧条

件下半衰期分别为 347 d、40 d 和 96 d, 其有氧条件下的降解速度加快并生成 Th-1^[94]。

3.7 噻虫嗪

噻虫嗪 (thiamethoxam, TMX) 是首个第二代新烟碱类杀虫剂, 常用于叶面、种子和土壤处理, 能较好防治蚜虫、粉虱、稻飞虱、马铃薯甲虫以及一些鳞翅目害虫^[95]。TMX 降解多发生在动植物体内, 截至目前仅少数微生物能在土壤和培养基中实现 TMX 降解。从豆科植物根际土壤中分离出固氮黏着剑菌 (*Ensifer adhaerens*) TMX-23, 以 TMX 为唯一碳源和氮源 (初始浓度为 200 mg/L), 在 30 °C 的 MSM 中反应 5 d 后可将其降解 22%, 生成亚硝胺噻虫嗪 (nitrosamine metabolite, Tt-1) 和噻虫嗪脲 (urea metabolite, Tt-4)。该菌不仅具有降解 TMX 能力, 还能通过释放吡啶乙酸、胞外多糖、氨等多种物质促进田地作物在 TMX 污染的土壤中生长并提高种子发芽率^[96]。假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 1G 在 10 mmol/L 葡萄糖和微氧条件下纯培养后, 14 d 内能降解 70% 的 TMX, 转化为 Tt-1、噻虫嗪胍 (guanidine metabolite, Tt-3) 和 Tt-4^[62]。嗜气芽孢杆菌 (*Bacillus aerophilus*) IMBL 4.1 对不同初始浓度 TMX 的降解能力相对一致。IMBL 4.1 接种于黏壤土 (clay loam soil) 富集后, 加入初始浓度为 25、50 和 100 mg/kg 的 TMX, 56 d 后检测发现降解率分别为 72%、68% 和 70%^[97]。

Hegde 等从耐高浓度杀虫剂的棉花、白菜和水稻等不同生态系统农田中分离得到降解菌。进行形态和生化实验分别鉴定为不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.)、肠杆菌属 (*Enterobacter* sp.) 和芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.), 3 种菌均可在以 TMX 为唯一碳源 (初始浓度为 50 mg/L) 的培养基中生长, TMX 降解率分别为 94.72%、

90.78% 和 82.06%, 而对照组降解率仅为 53.85%。基于上述功能菌开展的土壤生物修复试验, 发现 TMX 半衰期分别为 7.6 d、8.75 d 和 10.52 d^[98]。

肠杆菌 (*Enterobacter* sp.) TMX13 能减少 TMX 的食用蔬菜残留, 还能够促进植物生长。TMX13 接种于大白菜后, 叶片中丙二醛、过氧化氢含量减少, SOD 活性也降低, 表明: TMX 可诱导植物氧化应激产生自由基, 而 TMX13 可缓解这种胁迫效应。接种 TMX13 的大白菜地下根茎外排或泄露的有机酸和氨基酸总量分别减少 9.2% 和 85.2%, 促进根系发育^[99]。

3.8 吡虫啉

吡虫啉 (paichongding, IPP) 为手性新烟碱类杀虫剂, 主要用于防治水稻飞虱、蚜虫等同翅目害虫。IPP 对 IMI 耐药害虫具有较高的活性, 有望取代 IMI。目前针对 IPP 的降解生物研究主要是寻找能产 IPP 立体异构体系降解酶的菌株。从农业土壤中分离得到鞘氨醇杆菌 (*Sphingobacterium* sp.) G1-13 和 G2-19, 其中 G1-13 经紫外线诱变得得到 G1-14, 并利用上述 3 种菌株研究外消旋体 RR/SS-IPP 与 SR/RS-IPP (初始浓度为 1 000 mg/L) 的生物降解。G1-13 和 G1-14 在 6 d 和 4 d 内分别降解 13% 和 30% 的 RR/SS-IPP, G2-19 在 5 d 内降解 35% 的 SR/RS-IPP, 检测的代谢产物为 Pc-1-Pc-6^[100]。此外, 鞘氨醇杆菌 (*Sphingobacterium* sp.) P1-3 在 30 °C、pH 7.0 条件下经 20–30 d 反应可将 10 mg/L 的 IPP 降解 57.74%–62.47%, 生成 Pc-1、Pc-4、Pc-5、Pc-13 和 Pc-14^[101]。

IPP 的立体异构体在不同的土壤中降解往往具有选择性。杀虫剂 (±)-IPP (初始浓度为 51 mg/(kg-soil)) 在灭菌壤质土、黏土和盐碱土中有氧反应 5 d。其中, 盐碱土中仅 16% 的 SR-IPP 残留, 并生成 Pc-1、Pc-7–11 六种

代谢产物;壤质土中降解 79%的 RS-IPP、20%的 RR-IPP、24%的 SS-IPP;黏土中的 IPP 均被完全降解^[102]。针对黄棉土进行相似试验,100 d后 RS-IPP与 SR-IPP较 RR-IPP与 SS-IPP降解更完全,代谢产物为 Pc-1、Pc-7、Pc-8以及 Pc-10-13。接种同种菌株后分别检测脱盐淤泥质圩田土壤和黄壤性水稻土的 IPP 降解,RR/SS-IPP、RS/SR-IPP 的降解率分别为 11%、40%和 18%、25%,相比对照组降解率显著提高,半衰期也明显降低。厌氧条件下,IPP 处理 60 d 后,黄壤土和脱盐淤泥质圩田土中,4 种立体异构体的去除率达到 90%以上。需要注意的是,当土壤被 IPP 污染后,脱盐淤泥质圩田土壤微生物生态多样性呈下降趋势,黄壤水稻土则相反。在黄壤和黄石市土壤 IPP 降解研究中,发现 4 种立体异构体在 2 种土壤中的降解速率呈现一定差异,同时生成 Pc-1、Pc-2、Pc-5、Pc-11 以及 Pc-15-18^[103-106]。黄石地区土壤和黄壤性水稻土的对照组中,RR-IPP 和 SS-IPP 的降解率均小于 30%,而 RR-IPP 和 SS-IPP 更难降解,并鉴定出 Pc-7、Pc-8、Pc-9、Pc-18、Pc-19、Pc-20 六种代谢产物^[106]。综上所述,IPP 及其立体异构体的降解速率受土壤理化性质和微生物菌群结构组成的影响。

3.9 氟啶虫胺腈

氟啶虫胺腈 (sulfoxaflor, SUL) 是一种磺酰亚胺类杀虫剂,具有对刺吸式害虫良好的防治效果,如蚜虫、蜡象、粉虱、飞虱和蓟马^[107]。SUL 具有腈基团结构,故具有产腈水合酶能力的菌株可将腈基转化为含有酰胺基的化合物实现生物转化 SUL。氨基杆菌 (*Aminobacter* sp.) CGMCC 1.17253 接种于土壤,9 d 后可降解 59.1%的 SUL (初始浓度为 80 mg/(kg-soil)),菌株 CGMCC 1.17253 可转化 SUL 为酰胺衍生物

(amide metabolite, S-1)^[108]。

3.10 戊吡虫胍

戊吡虫胍 (guadipyr, GUA) 是新烟碱类和缩氨基脲类 2 种杀虫剂活性基团相结合化学修饰而成的衍生物,可有效防治甘蓝蚜虫、水稻稻飞虱^[109-110]。由于使用时间较短尚未引发关注,目前未有关于 GUA 降解的研究。

3.11 烯啶虫胺、呋虫胺

烯啶虫胺 (nitenpyram, NIT) 具有强内吸、传导性、广谱性、初效快、持效久与传统农药无交互抗性等特点,适用于蚜虫、飞虱、夜蝉等吸刺口器害虫^[111]。呋虫胺 (dinotefuran, DIN) 是第三代烟碱类杀虫剂,对哺乳动物、鸟类、飞行生物以及作物暂未见毒害作用。但二者对蚯蚓、蜜蜂的急性接触毒性分别为中毒和高毒,生产中应科学合理地使用^[112]。

白腐真菌 (*P. sordida*) YK-624 可同时降解上述两种不同的新烟碱类杀虫剂,表明了单一微生物或包含多种降解该类农药的代谢途径。在木质素作为辅助营养物质的培养条件下,NIT 能被 YK-624 完全降解,DIN 则被降解 31% (初始浓度均为 0.1 mmol/L)。而普通 PDA 培养基 (无木质素) 中,NIT 仅被降解 20%,DIN 则完全不降解。NIT、DIN 则分别转化为 (E)-N-((6-chloropyridin-3-yl)methyl)-N-ethyl-N'-hydroxy acetimidamide (N-1)、N-((4aS,7aS,E)-1-methylhexahydrofuro[2,3-d]pyrimidin-2(1H)-ylidene) nitramide (D-1)。细胞色素 P450 相关酶对 INT 与 DIN 降解过程至关重要,添加细胞色素 P450 抑制剂-胡椒基丁醚后,检测发现 YK-624 对二者降解活性下降^[112]。赤红球菌 (*Rhodococcus ruber*) CGMCC 17550 能通过一种新型的羟基化途径降解 NIT,可实现地表水中的 NIT 的生物修复。菌株 CGMCC 17550 从污水中分离获得,且 NIT 降解率随着该细菌静息

细胞生物量的增加而提高, 在含 100 mg/L 的 NIT 转化液中, 培养 72 h 后 NIT 仅剩 1.63%, 转化的中间代谢物为 3-OH-NIT(N-3)、8-OH-NIT(N-4) 和 14-OH-NIT(N-2)。此外, 葡萄糖、

果糖和丙酮酸作为共代谢底物, 一定程度促进了菌体对 NIT 的降解; 添加胡椒基丁醚后检测发现 NIT 降解削弱, 表明细胞色素 P450 酶参与了 NIT 羟基化^[113]。

表 2 可降解新烟碱类杀虫剂的微生物及其代谢性能

Table 2 Microorganisms capable of degrading neonicotinoid and their metabolic properties

| Microorganism | Isolation | Reaction condition | Initial content, degradation rate | Reference |
|---|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------|
| Imidacloprid | | | | |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | Marine sediment | 30 °C, 100 r/min, 11 d | 18 mg/L, 78% | [55] |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> BCH1 | Agricultural soil | 30 °C, pH 7, 7 d | 50 mg/L, 78% | [56] |
| <i>Pseudomonas</i> sp. RPT52 | Agricultural soil | 37 °C, 200 r/min, 24 h | 128 mg/L, 46.5% | [57] |
| <i>Pseudoxanthomonas indica</i> CGMCC 6648 | Rhizosphere soil | 28 °C, pH 7, 6 d, | 311 mg/L, 70.1% | [58] |
| <i>Hymenobacter latericoloratus</i> CGMCC 16346 | Water sample | 30 °C, 6 d | 100 mg/L, 64.4% | [59] |
| <i>Bacillus aerophilus</i> | Sugarcane field soils | Sandy loam soil, 60 d | 150 mg/(kg·soil), 96.1% | [60] |
| <i>Pseudomonas</i> sp. 1G | Soil | 28 °C, microaerophilic | 50 mg /L, ~70% | [62] |
| <i>Rhizobium</i> sp. | Oil field soil | 28 °C, 120 r/min, 25 d | 25 mg/L, 45.48% | [64] |
| <i>Bacillus alkalinitrilicu</i> | Sugarcane field soils | 28 °C, 56 d | 50 mg/(kg·soil), 98.02% | [114] |
| <i>Mycobacterium</i> sp. MK6 | Egypt soil | 28 °C, <14 d | 150 mg/L, 99.7% | [115] |
| <i>Leifsonia</i> sp. PC-21 | Soil | TSB, 27 °C, 21 d | 25 mg/L, 37.0%–58.0% | [116] |
| <i>Ochrobactrum</i> sp. BCL-1 | Rhizosphere soil | 30 °C, pH 8, 48 h | 50 mg/L, 67.67% | [117] |
| <i>Aspergillus terreus</i> YESM3 | Agricultural wastewater drain | 28 °C, pH 4, 20 d | 25 mg/L, 96.23% | [118] |
| Acetamiprid | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> sp. FH2 | Manufacturing sludge | 30 °C, pH 7, 14 d | 800 mg/L, 96.7% | [68] |
| <i>Fusarium</i> sp. CS-3 | Soil | 25–30 °C, pH 5–7, 96 h | 50 mg/L, 98% | [69] |
| <i>Ensifer meliloti</i> CGMCC 7333 | Rhizosphere soil | 30 °C, pH 7.5, 220 r/min, 96 h | 500 mg/L, 65.1% | [70] |
| <i>Pigmentiphaga</i> sp. D-2 | Sewage pool | 37 °C, 3 d | 122.5 mg/L, 99% | [71] |
| <i>Pigmentiphaga</i> sp. AAP-1 | Industrial soil | 30 °C, pH 7, 2.5 h | 100 mg/L, 100% | [72] |
| <i>Variovorax boronicumulans</i> CGMCC 4969 | Water surface | 30 °C, pH 7, 120 h | 2 mg/L, 34.7% | [74] |
| <i>Ensifer adhaerens</i> CGMCC 6315 | Soil | 30 °C, 12 h | 200 mg/L, 94.4% | [119] |
| <i>Pseudoxanthomonas</i> sp. AAP-7 | Industrial soil | 30 °C, pH 7, 60 h | 200 mg/L, 95% | [75] |
| | | | 300 mg/L, 93% | |
| | | | 400 mg/L, 87% | |
| | | | 600 mg/L, 73% | |

(待续)

(续表 2)

| Microorganism | Isolation | Reaction condition | Initial content, degradation rate | Reference |
|--|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------|
| <i>Ochrobactrum</i> sp. D-12 | Agricultural soil | 30 °C, pH 7, 14 h | 3 000 mg/L, 39.27% | [51] |
| <i>Rhodococcus</i> sp. BCH-2 | Contaminated soil | 35 °C, pH 7, 8 d | 50 mg/L, 84.65% | [76] |
| <i>Penicillium oxalicum</i> IM-3 | Soil | 30 °C, 14 d | 500 mg/L, 41.6% | [77] |
| <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> IM-2 | Soil | 30 °C, 14 d | 445 mg/L, 93% | [80] |
| <i>Stenotrophomonas</i> sp. THZ-XP | Sludge | 30 °C, pH 7, 26 h | 1 000 mg/L, 95% | [73] |
| <i>Streptomyces canus</i> CGMCC 13662 | Soil | 30 °C, pH 7, 4 d | 200 mg/L, 87.6% | [120] |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 502A | Wetland Wastewater | 35 °C, pH 5, 100 r/min, 1 d | 50 mg/L, 61.68% | [121] |
| Imidaclothiz | | | | |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> CGMCC 1.1788 | - | 30 °C, 84 d | 500 mg/L, 36.2% | [82] |
| Clothianidin | | | | |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> smk | Agricultural Soil | 30 °C, pH 7, 14 d | 10 mg/L, 62.0% | [84] |
| <i>Phanerochaete sordida</i> YK-624 | Rotten Wood | 30 °C, 20 d | 25 mg/L, 37.0% | [86] |
| Thiacloprid | | | | |
| <i>Variovorax boronicumulans</i> J1 | Agricultural soil | 30 °C, pH 7.2, 60 h | 200 mg/L, 62.5% | [89] |
| <i>Ensifer meliloti</i> CGMCC 7333 | Rhizosphere soil | 30 °C, 60 h | 200 mg/L, 86.8% | [90] |
| <i>Microvirga flocculans</i> CGMCC 1.16731 | Soil | 30 h | 159 mg/L, 90.5% | [91] |
| <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> IM-2 | Soil | 30 °C, 20 d | 200 mg/L, 59.9% | [80] |
| Thiamethoxam | | | | |
| <i>Ensifer adhaerens</i> TMX-23 | Rhizosphere soil | 30 °C, 10 d | 200 mg/L, 21.6% | [96] |
| <i>Bacillus aeromonas</i> IMBL 4.1 | Soil | 37 °C, pH 6.0–6.5, 15 d | 50 mg/L, 45.28% | [122] |
| <i>Pseudomonas putida</i> IMBL 5.2 | Soil | 37 °C, pH 6.0–6.5, 15 d | 50 mg/L, 38.23% | |
| <i>Pseudomonas</i> sp. 1G | Agricultural soil | 28 °C, 14 d, micro-aerobic | 57 mg/L, 70.0% | [62] |
| <i>Acinetobacter</i> sp. | Agricultural soil | 15 d | 50 mg/L, 94.72% | [98] |
| <i>Enterobacter</i> sp. | | | 90.78% | |
| <i>Bacillus</i> sp. | | | 82.06% | |
| <i>Enterobacter</i> sp. TMX13 | Mulberry root | 30 °C, 48 h | 1 mg/L, 95.2% | [99] |
| Paichongding | | | | |
| <i>Sphingobacterium</i> sp. G1-13 | Soil | 30 °C, 6 d | 50 mg/L, 13% | [100] |
| G2-19 | | 5 d | 35% | |
| G1-14 | | 4 d | 30% | |
| <i>Sphingobacterium</i> sp. P1-3 | Soil | 30 °C, pH 7, 20–30 d | 10 mg/L, 57.75%–62.47% | [101] |
| Nitenpyram | | | | |
| <i>Phanerochaete sordida</i> YK-624 | Rotten wood | 30 °C, 5 d | 27 mg/L, 100% | [112] |
| <i>Rhodococcus ruber</i> CGMCC 17550 | Domestic sewage | 30 °C, 72 h | 100 mg/L, 98.37% | [113] |
| Sulfoxaflo | | | | |
| <i>Aminobacter</i> sp. CGMCC 1.17253 | Soil | 30 °C, >96 h | 200 mg/L, 39.6% | [108] |
| Dinotefuran | | | | |
| <i>Phanerochaete sordida</i> YK-624 | Rotten wood | 30 °C, 20 d | 20 mg/L, 31.0% | [112] |

4 微生物降解不同种类新烟碱类杀虫剂的代谢途径

4.1 吡虫啉 (IMI)

微生物降解 IMI 途径见图 2。吡虫啉生物降解主要方式为：硝化基团修饰与咪唑环氧化^[60,123]，其中硝化还原方式更常见、也更有效。IMI 在不同土壤中残留时间差异较大，消解半衰期为 6.6 d-10.0 d，甚至大于 100 d。土壤中 IMI 代谢产物残留以吡虫啉脲 (imidacloprid urea) 为主，其次为 6-CNA、5-羟基吡虫啉 (5-hydroxy metabolite) 等^[124]。

硝化还原修饰途径：IMI 上亚硝基失去 2 个氧原子还原成氨基，IMI 分别形成 Im-1 和吡虫啉氨基胍 (aminoguanidine imidacloprid, Im-2)。

之后 N-N 键断裂，形成比 IMI 毒性强 10 倍的 Im-8，进一步氧化得到无毒 Im-4。由于 C-N 键断裂 Im-4 转化为 6-CNA (Im-3)。6-CNA 易双键氧化后形成 6-羟基烟酸 (6-hydroxynicotinic acid) 和 2-甲酰戊二酸 (2-formyl-glutarate)，最终矿化成 CO_2 和 H_2O 。肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*) BCH1 中可发生 IMI 硝化还原代谢途径全过程，最终生成 6-CNA^[56]。以葡萄糖作为补充碳源，假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 1G 可在微氧条件下降解 IMI 和 TMX 并转化为亚硝基胍代谢物 (nitroso/guanidine metabolite, Im-1)、脱硝基胍代谢物 (desnitro/guanidine metabolite, Im-8)、脲类代谢物 (urea metabolite)，故推测=N- NO_2 还原与醛氧化酶活性有关^[62]。

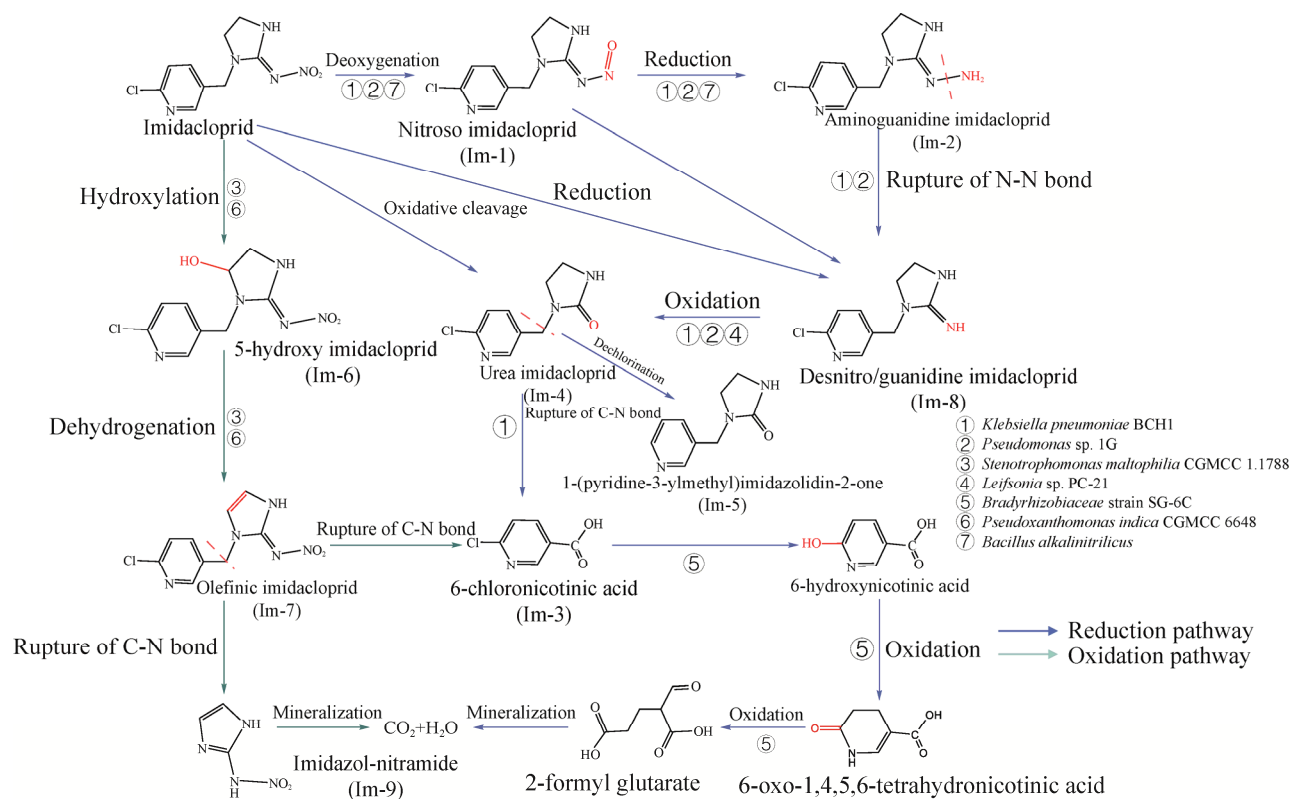


图 2 微生物降解吡虫啉途径^[55-60]

Figure 2 Proposed catabolic pathway of imidacloprid^[55-60].

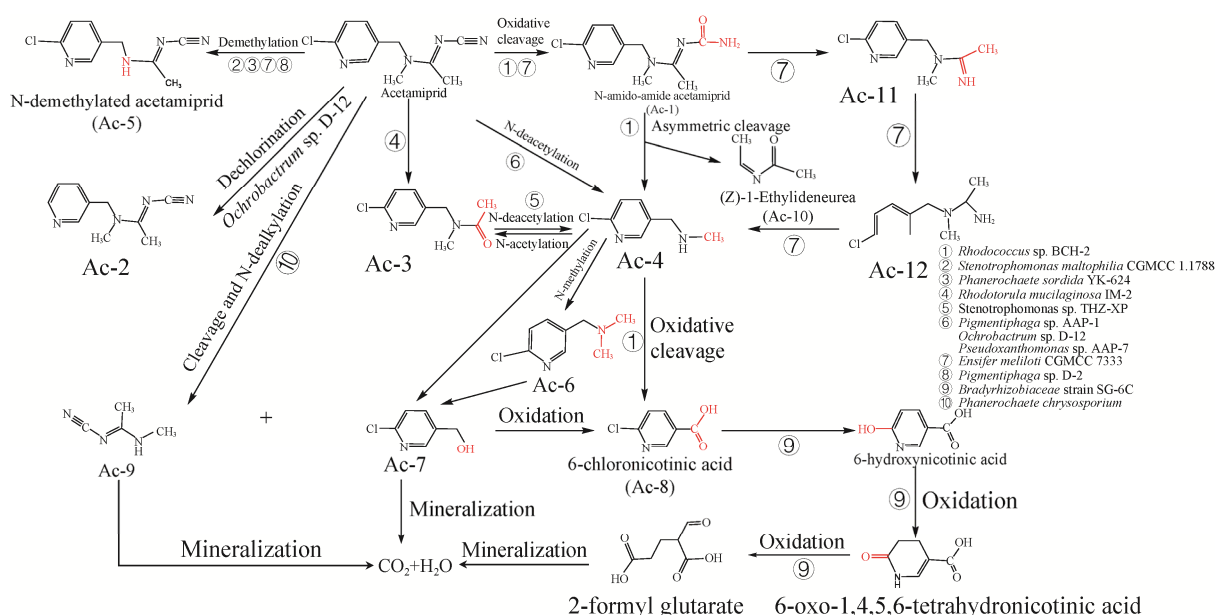
烷环(咪唑环)氧化途径: IMI 氧化降解途径存在于动物、几种植物和微生物系统中,但在微生物系统中效率不佳,其降解产物相对较少。叔胺的碳原子与 IMI 的 6-氯-3-吡啶基甲基部分相连,是一个重要的羟基化活性位点。IMI 羟化形成 Im-6 并自发脱氢形成 Im-7,毒性是 IMI 的 10 倍。Im-7 上 C-N 键裂解后,转化为 N-nitroso-1H-imidazol-2-amine (Im-9) 和 6-CNA。假黄单胞菌 (*P. indica*) CGMCC 6648 可通过氧化途径降解 IMI,但共代谢底物不同时,降解速度和降解产物不同。共代谢底物为葡萄糖、乳糖、丙酮酸时,该菌分别在 6 d、48 h、96 h 时出现代谢产物,分别为 Im-6 与 Im-7、Im-6、Im-7^[58]。IMI 羟化脱氢转化为 Im-7 的转化过程在 *S. maltophilia* CGMCC 1.1788 降解过程中可观测到^[82]。此外,从甘蔗种植土壤中分离得到、具有降解 IMI 能力的嗜气芽孢杆菌 (*Bacillus aerophilus*) 和碱性芽孢杆菌 (*Bacillus alkalinitrilicus*) 代谢过程中可检测到 6-CNA、Im-1、Im-2^[65]。赖氏菌 (*Leifsonia* sp.) PC-21 以琥珀酸和葡萄糖为额外碳源,在胰蛋白酶大豆肉汁 TSB 中 27 °C 条件下培养 3 周,初始浓度为 25 mg/L 的 IMI 被降解 37%–58%,生成 Im-4 与 Im-8。由此可知,细菌生物降解 IMI 多以 6-CNA 作为关键代谢物进一步转化入三羧酸循环产能,实现 IMI 污染环境的生物修复^[53,123-124]。

4.2 啉虫脒 (AAP)

AAP 的微生物降解途径见图 3。AAP 的杀虫毒力选择性取决于取代基=N-CN,该官能团可发生降解。AAP 的-C≡N 被氧化后断裂生成 Ac-1。Ac-1 上 C-N 键不对称裂解生成 Ac-4、(Z)-1-ethylideneurea (Ac-10)。红球菌 (*Rhodococcus* sp.) BCH-2 降解 AAP 为 Ac-4 并迅速氧化裂解生成 6-CNA,再经过多步氧化后最终

矿化为 CO₂ 和 H₂O^[76]。胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*) IM-2 能够降解 AAP 和 THI,可水解 AAP 形成无杀虫活性的中间代谢物 Ac-3,而代谢 THI 产生的酰胺类似物 Th-1 具有比 THI 低数十倍的杀虫活性^[80]。寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas* sp.) THZ-XP 降解 AAP 生成 Ac-3,并进一步转化为对哺乳动物和蜜蜂毒性较小的 Ac-4。THZ-XP 可靶向水解化合物硝基或氰基取代基实现 AAP 降解^[73]。此外,AAP 可在苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp.) D-12^[51]、噬染料菌 (*Pigmentiphaga* sp.) AAP-1^[72]或假黄单胞菌 (*Pseudoxanthomonas* sp.) AAP-7^[75]作用下直接 N-脱乙酰化生成 Ac-4。*Ochrobactrum* sp. D-12 也可将 AAP 直接脱氯生成 Ac-2^[51]。

S. maltophilia CGMCC 1.1788 能将 AAP 去甲基化,生成具有较低杀虫活性的极性代谢物 Ac-5^[61]。草木犀剑菌 (*Ensifer meliloti*) CGMCC 7333^[70]、噬染料菌 (*Pigmentiphaga* sp.) D-2^[71]、假黄单胞菌 (*Pseudoxanthomonas* sp.) AAP-7^[75]、白腐真菌 (*P. sordida*) YK-624^[78]等也能通过去甲基化降解 AAP 生成 Ac-5。P450 抑制剂——胡椒基丁醚会抑制 AAP 的去甲基化^[61]。Ac-5 的后续降解无法发生在微生物体系中,但可见于动植物中。草木犀剑菌 CGMCC 7333 能通过氧化-C≡N 后,断裂另一个 C-N 键还原生成 N-((6-chloropyridin-3-yl) methyl)-N-methylethanamide (Ac-11),经多步反应后最终生成 6-CNA 并矿化为 CO₂ 和 H₂O^[70]。黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) 能通过裂解与 N-脱烷基化作用降解 AAP,生成 (E)-N'-cyano-N-methyl-acetamide (Ac-9) 和 Ac-7^[79]。Ac-6 可能是 Ac-4 经过 N-甲基化后得到的,氧化成 Ac-7,再进一步氧化得到 6-CNA,最终矿化为 CO₂ 和 H₂O。综上所述,脲水合酶和细胞色素 P450 (还原/氧化) 相关酶是 AAP 降

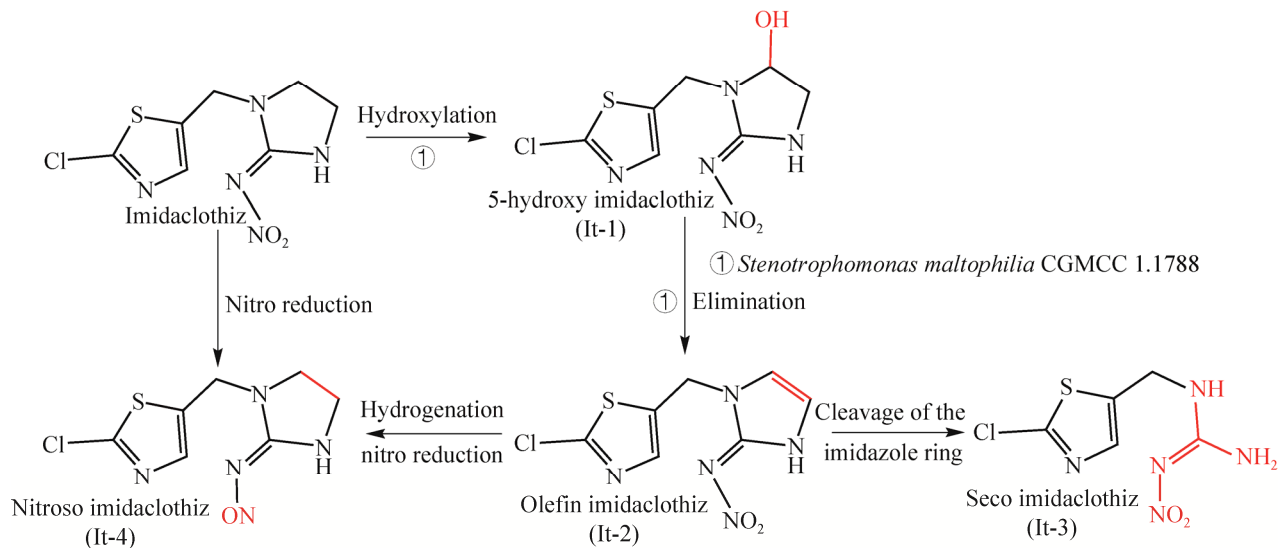
图3 微生物降解啉虫脒途径^[69-74]Figure 3 Proposed catabolic pathway of acetamiprid^[69-74].

解的关键机制，而介导甲基化、去甲基化、脱氯等过程的其他酶亟待阐明^[10,50,125]。

4.3 氯噁啉 (IMT)

IMT 微生物降解过程如图 4 所示。IMT 生物修复过程可从羟基化生成 It-1 和脱水产生

It-2 开始,通过咪唑环开环生成代谢物 It-3 并随后矿化。比如, *S. maltophilia* CGMCC 1.1788 能将 IMT 羟化后再消除羟基, 转化为 It-1 与 It-2^[82-83]。It-2 的氢化和硝基还原导致了代谢产物 It-4, 此外 IMT 直接将硝基还原也能得到

图4 微生物降解氯噁啉途径^[82-83]Figure 4 Proposed catabolic pathway of imidaclothiz^[82-83].

It-4。需要注意的是，土壤如含有 IMT，无论灭菌与否，IMT 都能在土壤中一定程度地自发降解，生成 It-2、It-3 与 It-4^[82]。

4.4 噻虫胺 (CLO)

噻虫胺生物降解的 3 种途径见图 5。第 1 种途径是 CLO 发生脱硝并水解后生成 CI-1，进一步脱卤生成脲类化合物 CI-2。第 2 种途径为 CLO 去甲基化生成毒性比母体化合物小的 CI-3，随后噻唑甲基与硝基胍结构之间的 C-N 键断裂，转化为 CI-4 和 CI-6。前者可参与矿化或甲基化形成 CI-5 可后续矿化，而后者可直接进入矿化过程。第 3 种途径是 CLO 进行脱硝和脱氯后产生 CI-7，随后胍裂解形成可直接矿化的 5-amino-methylthiazol (CI-8) 或经历水解形成 CI-2，在其脲结构裂解后能形成 CI-8。*Phanerochaete sordida* 通过第 1 种和第 3 种途径降解 CLO，而 *Pseudomonas*

stutzeri smk 能介导 CI-7 胍基裂解形成 CI-8 实现 CLO 降解^[84]。

4.5 噻虫啉 (THI)

噻虫啉的生物降解途径见图 6。*S. maltophila* CGMCC 1.1788 可将 THI 水解，接着噻唑环羟基化后形成 Th-2。该物质在酸性条件下无法转化，在碱性条件下能脱氨基和氧化形成 4-ketone thiacloprid imine (Th-7)^[92]。THI 还可脱氯生成(((2Z)-3-((pyridin-3-yl) methyl)-1,3-thiazolidin-2-ylidene) amino) formonitrile (Th-4)。THI 还可脘还原裂解转化为亚胺化合物 Th-3。Th-5 可由 Th-1 直接氧化生成，也可水解通过 N-氰亚胺基团生成。THI 硫氧化促进形成(((2Z)-3-((6-chloropyridin-3-yl) methyl)-1-oxo-1λ-4,3-thiazolidin-2-ylidene) amino) formonitrile (Th-6)，进一步水解可得 Th-5。THI 还可经过脘还原裂解后转化为 Th-3 并后续实现矿化^[12,80,89]。

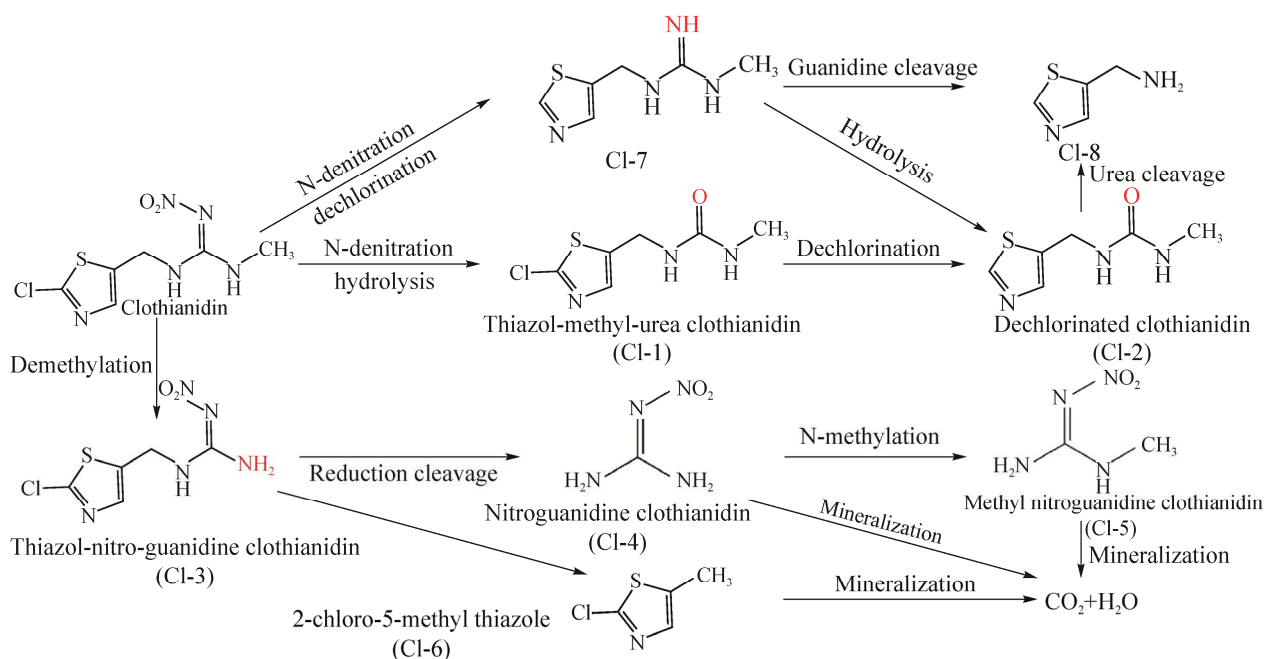
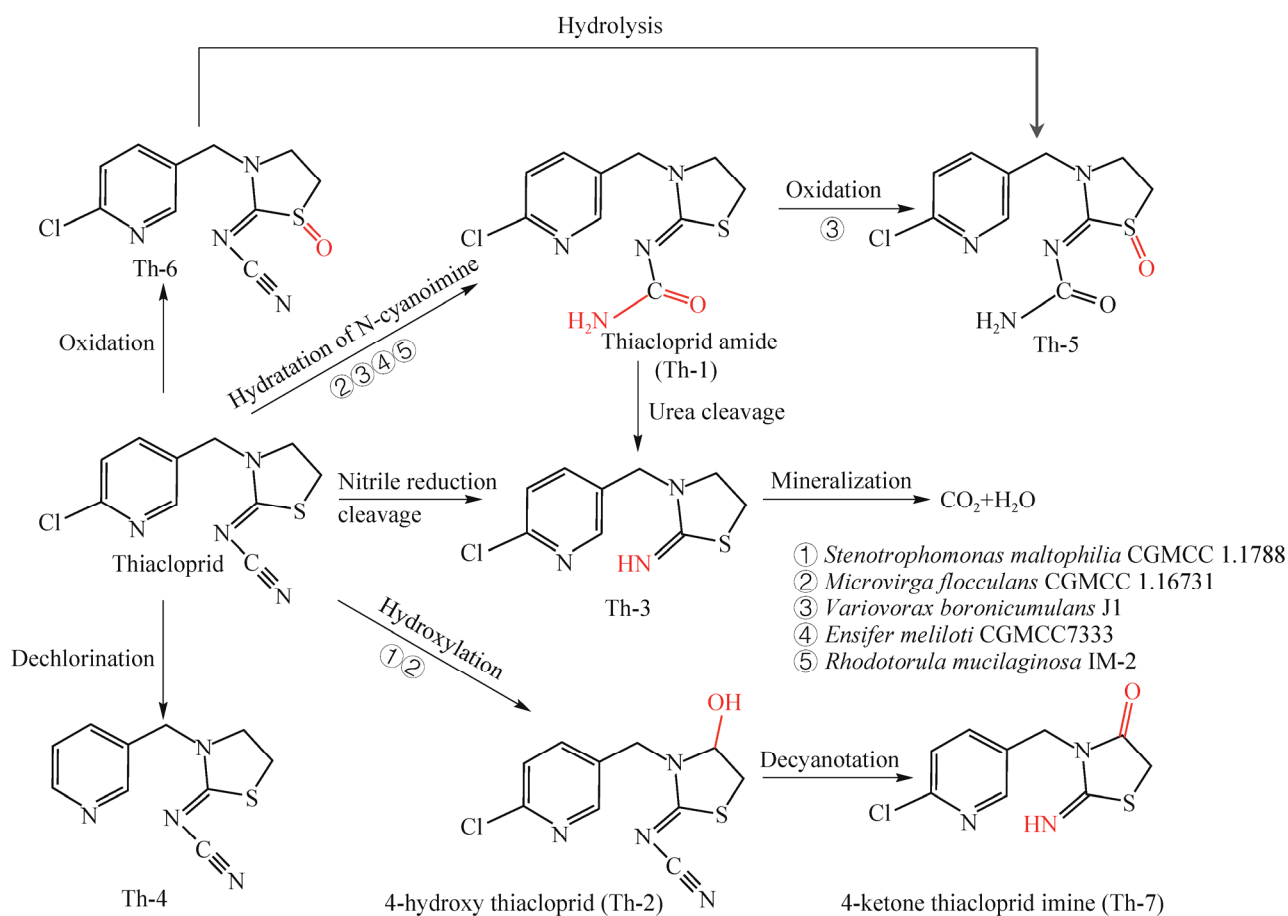


图 5 微生物降解噻虫胺途径^[84-86]

Figure 5 Proposed catabolic pathway of clothianidin^[84-86]

图 6 微生物降解噻虫啉途径^[89-92]Figure 6 Proposed catabolic pathway of thiacloprid^[89-92].

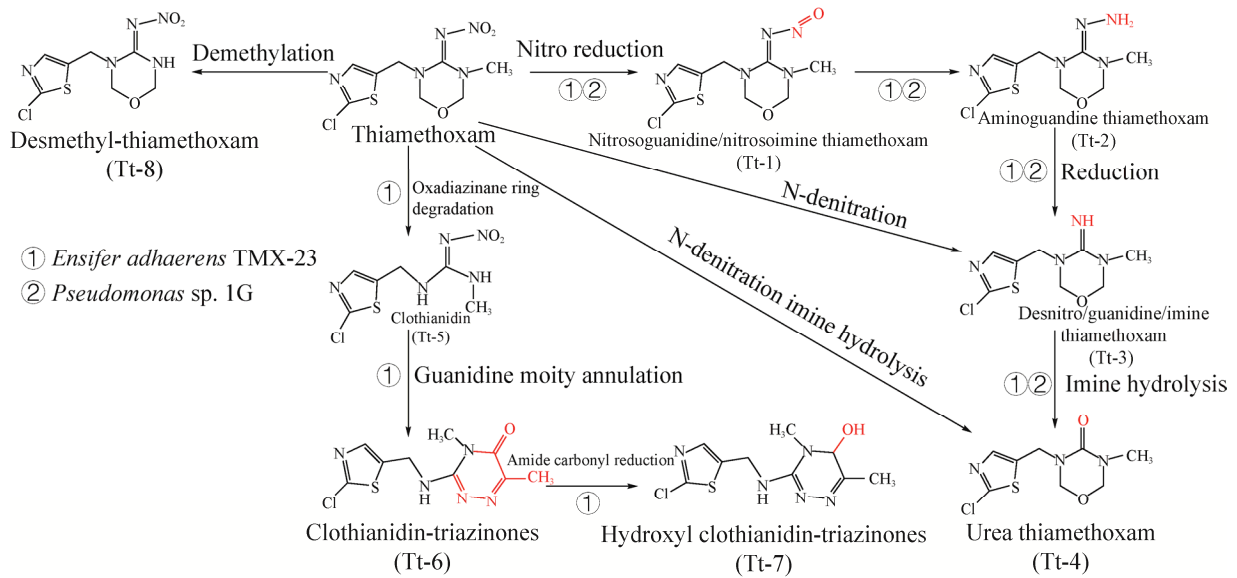
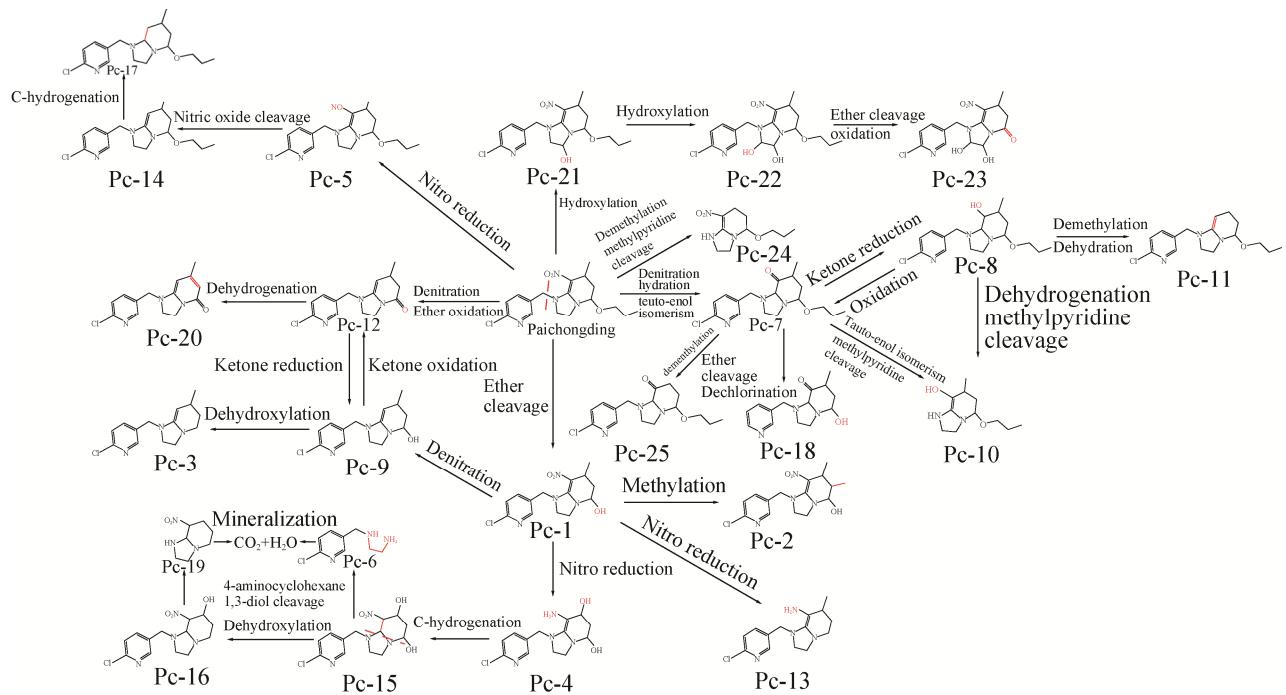
4.6 噻虫嗪 (TMX)

噻虫嗪的生物降解途径见图 7。TMX 通过硝基还原形成 Tt-1, 之后 -NO 还原并裂解生成胍代谢物 Tt-3, 再水解生成脲类代谢物 (urea thiamethoxam, Tt-4)。该途径在 *Pseudomonas* sp. 1G 与 *Ensifer adhaerens* TMX-23 等微生物中存在, 是微生物降解 TMX 的主要途径。E. adhaerens TMX-23 中可能还存在另一种降解途径, TMX 恶二嗪环 (oxadiazine ring) 开环后, 转化为三嗪类代谢物 (clothianidin-triazinones, Tt-6), 并最终降解为羟基三嗪衍生物 (hydroxyl clothianidin-triazinones, Tt-7)^[96]。TMX 还可通过去甲基化生成去甲基噻虫嗪 (desmethyl-thiamethoxam,

Tt-8), 但后续降解中间化合物尚未发现^[62]。

4.7 吡虫啉 (IPP)

IPP 通过微生物中一系列酶促级联反应实现降解 (图 8)。IPP 降解过程已鉴定众多代谢物, 其生物修复途径具有多样性。中间代谢物如 Pc-1、Pc-5、Pc-6、Pc-12、Pc-13、Pc-15、Pc-17、Pc-19、Pc-20 和 Pc-22、Pc-23、Pc-24、Pc-25 推测可进一步脱硝、硝基还原、氢化、脱氢。中间化合物可甲基化或去甲基化形成 Pc-2、Pc-11、Pc-24、Pc-25; 醚裂解和醚基氧化可形成 Pc-1、Pc-12、Pc-18、Pc-23; 脱羟基化和吡啶基团降解过程产生 Pc-3、Pc-11、Pc-13 和 Pc-16^[12]。

图 7 微生物降解噻虫嗪途径^[97-99]Figure 7 Proposed catabolic pathway of thiamethoxam^[97-99].图 8 微生物降解吡虫啉途径^[100-101]Figure 8 Proposed catabolic pathway of paichongding^[100-101].

4.8 氟啶虫胺胍 (SUL)

氟啶虫胺胍生物降解途径见图 9。氟啶虫胺胍通过胍水合酶降解，得到 S-1^[108]。

4.9 烯啶虫胺 (NIT)

NIT 的生物降解途径见图 10。NIT 还原后进行 (1) 脱亚硝基或脱氨基 (2) 羟化

脱水途径实现降解。P450 相关酶可参与 NIT 的两种生物降解途径。*P. sordida* YK-624 和 *R. ruber* CGMCC 17550 降解 NIT 研究表明:前者只产生 N-1,后者可生成 3 种代谢物^[112-113]。

4.10 呋虫胺 (DIN)

DIN 通过 *P. sordida* YK-624 介导其降解形成 D-1^[112], 途径见图 11。

5 微生物降解新烟碱类杀虫剂反应类型

新烟碱类化合物是通过化学修饰、人工合成非天然的烟碱类似物, 目前已知微生物对其实现降解的转化途径主要是依据液相质谱 (LC-MS)、气相质谱 (GC-MS) 检测到的中间化合物^[10-12]。新烟碱类化合物主要有桥链、杂环

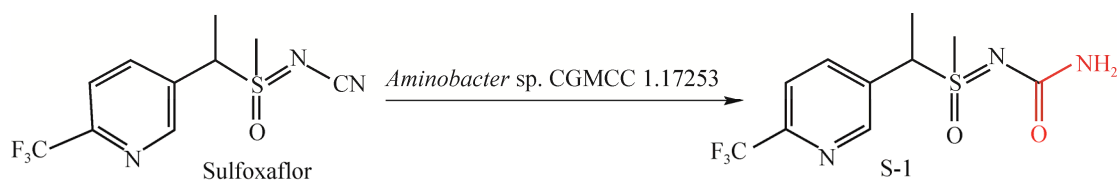


图 9 微生物降解氟啉虫胺途径^[108]

Figure 9 Proposed catabolic pathway of sulfoxaflor^[108].

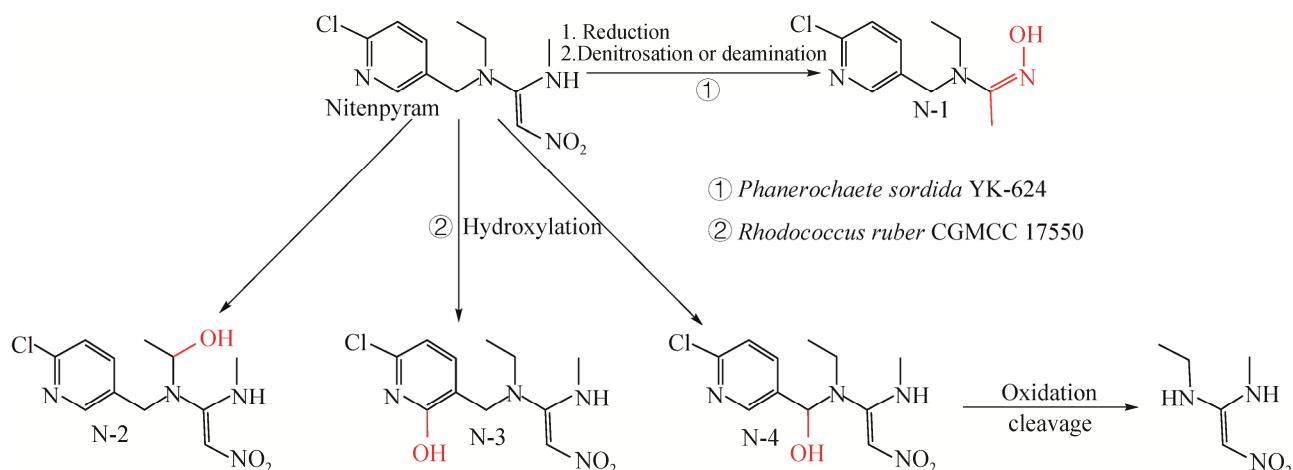


图 10 微生物降解烯啶虫胺途径^[112-113]

Figure 10 Proposed catabolic pathway of nitenpyram^[112-113]

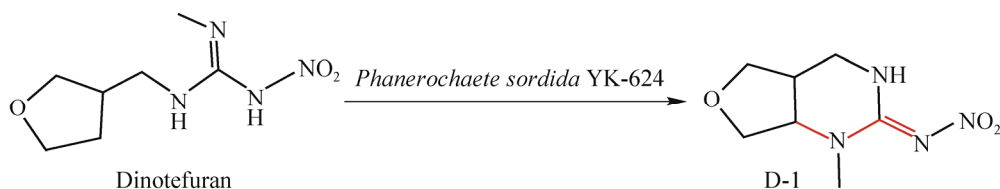


图 11 微生物降解呋虫胺途径^[112]

Figure 11 Proposed catabolic pathway of dinotefuran^[112].

以及药效基团组成, 微生物降解新烟碱类化合物并最终将其转化为生物体可利用的碳氮源和能源物质。新烟碱类是近十几年出现的新型污染物, 或许是因为土壤、水体和生物体中积累和残余形成的环境压力对微生物驯化尚不充分, 承担新烟碱类杀虫剂降解的酶及其对应基因目前知之甚少。当前, 脲水合酶和 P450 加氧酶是两类已知的关键酶, 推测分别发挥水解脱除药效基团氰基[-C≡N]和杂环氧化开环(吡啶、咪唑、嘧啶环等)的功能。

含有氰基的新烟碱类化合物(如 AAP、THI、SUL), 脲水解酶通常作用于氰基[-C≡N]形成酰胺键[-CO-NH-]并进一步脱除酰胺基, 产生脲类化合物和含有亚胺基[=N-H]的中间化合物^[70]。而 P450 加氧酶的鉴定主要根据反映体系添加胡椒基丁醚作为电子传供介质细胞色素 P450 的抑制剂阻遏了降解过程, 从而间接得出 P450 加氧酶参与了新烟碱类化合物的推测(如 IMT、CLO、INT、DIN)。此外, P450 酶也参与了 AAP 的降解过程, *P. sordida* YK-624

中介导 AAP 侧链的去甲基化产生 Ac-5^[78], 而 *P. chrysosporium* 的 P450 酶参与 AAP 脱烷基化生成 Ac-7 和 Ac-9^[79], 但具体酶及其性能差异尚未明确(表 3)。

微生物降解新烟碱类杀虫剂的过程可依据物质转化过程中的反应类型和效应基因进行分类, 如(杂环)开环、(去)甲基化、侧链断裂/水解、(反)硝化、脱氯(羟基)等(表 3)。这表明微生物中承担转化新烟碱类化合物的酶及基因尽管尚未明晰, 但是微生物降解过程的物质转化步骤是具有一定相似性的。这一发现暗示: 微生物降解新烟碱类化合物及其中间化合物的转化步骤可能是由功能近似的酶介导, 而且承担相应转化步骤的调控与效应单元是可以模块化并进一步改造提升效率的。随着组学、质谱等高通量方法逐渐被用于微生物环境修复的基础研究, 关键基因、酶的挖掘和鉴定过程将显著加速, 借助合成生物学技术将推动微生物资源的分子改造、应用转化和场景适应。

表 3 微生物降解新烟碱类化合物的反应类型

Table 3 Intermediate transformation involved in microorganisms capable of degrading neonicotinoids

| Classified reaction | Transformation process (note if applicable) | Representative enzyme if available (representative strain) |
|---------------------|--|--|
| Nitro reduction | IMI→Im-1→Im-2 | |
| | IMT→It-4 (-N=O) | |
| | It-2→It-4 (imidazole hydrogenation to -N=O) | |
| | TMX→Tt-1 (=N-N=O)→Tt-2 (=N-NH ₂)→Tt-3 (=NH) | |
| | IPP→Pc-5 (-NO) | |
| | IPP→Pc-7 (hydrogenation) | |
| | Pc-1→Pc-4 (-NH ₂ and -CH ₃ to -OH) | |
| =N-H hydrolysis | Pc-1→Pc-13 (dehydroxylation) | |
| | Cl-7→Cl-2 | |
| | Tt-3→Tt-4 | |
| Denitration | CLO→Cl-7 (N, dechlorination) | |
| | CLO-Cl-1 (N, hydrolyzation) | |
| | TMX→Tt-3 (N) | |
| | IPP→Pc-12 (C) (ether cleavage and oxidization) | |
| | Pc-1→Pc-9 (C) | |

(待续)

(续表 3)

| Classified reaction | Transformation process (note if applicable) | Representative enzyme if available (representative strain) |
|------------------------------------|---|--|
| Hydroxylation of heterocyclic ring | IMI→Im-6 | Cytochrome P450 (<i>Rhodococcus ruber</i> CGMCC 17550, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> CGMCC 1.1788) |
| | IMT→It-1 | |
| | THI→Th-2 | |
| Hydroxyl elimination | IPP→Pc-21→Pc-22 | Cytochrome P450 (<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624, <i>Rhodococcus ruber</i> CGMCC 17550) |
| | NIT→N-2, N-3, N-4 | |
| | Im-6→Im-7 | |
| Dehydroxylation | It-1→It-2 | Cytochrome P450 |
| | Pc-8→Pc-11 (demethylation) | |
| | Pc-9→Pc-3 | |
| Dehydrogenation | Pc-1→Pc-13 (nitro reduction) | Cytochrome P450 |
| | Pc-15→Pc-16 | |
| Decyanotation | Pc-12→Pc-20 | Cytochrome P450 |
| | AAP→Ac-1 (amide)→Ac-11 | |
| -C≡N to amide | THI→Th-1 (amide)→Th-3 | Nitrile hydratase (<i>Aminobacter</i> sp. CGMCC 1.17253, <i>Variovorax boronicumulans</i> CGMCC 4969, <i>Pseudaminobacter salicylatoxidans</i> CGMCC 1.17248 [AnhA/AnhB], <i>Streptomyces canus</i> CGMCC 13662 [AnhA/AnhD/AnhE], <i>Ensifer adhaerens</i> CGMCC6315 [CnhA/PnhA]) |
| | Th-2→Th-7 | |
| | THI→Th-3 | |
| Ring cleavage | AAP→Ac-1 | Nitrile hydratase (<i>Aminobacter</i> sp. CGMCC 1.17253, <i>Variovorax boronicumulans</i> CGMCC 4969, <i>Pseudaminobacter salicylatoxidans</i> CGMCC 1.17248 [AnhA/AnhB], <i>Streptomyces canus</i> CGMCC 13662 [AnhA/AnhD/AnhE], <i>Ensifer adhaerens</i> CGMCC6315 [CnhA/PnhA]) |
| | AAP→Ac-3 | |
| | THI→Th-1 | |
| Ring formation | SUL→S-1 | Nitrile hydratase (<i>Aminobacter</i> sp. CGMCC 1.17253, <i>Variovorax boronicumulans</i> CGMCC 4969, <i>Pseudaminobacter salicylatoxidans</i> CGMCC 1.17248 [AnhA/AnhB], <i>Streptomyces canus</i> CGMCC 13662 [AnhA/AnhD/AnhE], <i>Ensifer adhaerens</i> CGMCC6315 [CnhA/PnhA]) |
| | Ac-11→Ac-12 (pyridine) | |
| Cleavage of side chain | It-2→It-3 (imidazole) | Cytochrome P450 (<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624) |
| | TMX→Tt-5 (oxadiazinane) | |
| Cleavage of side chain | DIN→D-1 (pyrimidine) | Cytochrome P450 (<i>P. chrysosporium</i>) |
| | Im-4→Im-3 | |
| | Im-7→Im-3/Im-9 | |
| | AAP→Ac-9 + Ac-7 | |
| | Ac-1→Ac-4+Ac-10 | |
| | Cl-7→Cl-8 (guanidine) | |
| | Cl-3→Cl-4 + Cl-6 | |
| | IPP→Pc-24 | |
| | Pc-8→Pc-10 (dehydrogenation) | |
| | Pc-16→Pc-19 | |
| N-4 → glucuronide conjugate | | |

(待续)

(续表 3)

| Classified reaction | Transformation process (note if applicable) | Representative enzyme if available (representative strain) |
|---------------------|---|--|
| Ether cleavage | Pc-7→Pc-18 (dechlorination) Pc-22→Pc-23 (oxidation) IPP→Pc-12 (nitro removal) IPP→Pc-1 | |
| Dechlorination | Im-4→Im-5 AAP→Ac-2 THI→Th-4 CLO→Cl-7 (nitro removal) Cl-1→Cl-2 Pc-7→Pc-18 (ether cleavage) | |
| Demethylation | AAP→Ac-5 (N) CLO→Cl-3 (N) TMX→Tt-8 (N) IPP→Pc-24 (side chain cleavage) Pc-8→Pc-11 Pc-7→Pc-25 | Cytochrome P450 (<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624) |
| Methylation | Ac-4→Ac-6 (N) Cl-4→Cl-5 (N) Pc-1→Pc-2 (C) | |
| Hydrogenation | It-2→It-4 (nitro reduction) Pc-14→Pc-17 | |
| Ketone reduction | Pc-7→Pc-8 Pc-12→Pc-9 | |
| Ketone oxidation | Pc-8→Pc-7 Pc-9→Pc-12 | |

6 展望

新烟碱类杀虫剂是在烟碱基础上修饰基团而获取的非天然异生质^[5-7]，是一类效率高、具有选择性、对哺乳动物相对安全低毒的含氮杂环杀虫剂，故而年产量和使用量较高。近年来由于该类杀虫剂不合理施用导致的潜在毒力和生态效应被逐渐揭示，如引发蜜蜂种群失调、脊椎动物急慢性中毒，其在土壤中残余稳定性、降解动力学受到了广泛的关注和研究^[8-9]。萃取、光解、水解等物理化学方法，预处理成本高、操作复杂，不能直接消除这一类新型的环境污染物，而且中间代谢物稳定性和毒性不明确。故而，借助微生物资源，实现绿色、高效新烟碱类杀虫

剂具有迫切性^[10-12]。

烟碱作为新烟碱类杀虫剂的类似物，其微生物降解研究进展对探明新烟碱类相关机制及其多样性具有重要的参考价值。目前，微生物降解烟碱方式主要根据第一步反应位置和类型分类，主要包括：吡咯烷途径 PRL 假单胞菌 (*Pseudomonas*)、吡啶途径 PD-节杆菌 (*Arthrobacter*)、吡啶-吡咯烷变异途径 VPP-苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp.) SJY1 和农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) S33 以及脱甲基途径-真菌米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 112822，上述转化过程通过一系列酶介导的转化提供营养成分实现微生物以烟碱为唯一碳氮源生长代谢^[126-128]。烟碱的氧化、脱氢、开环、还原等步骤及其代谢中间体与通过质谱方法检测到的

新烟碱降解中间化合物及推测转化过程高度相似^[128-130]。降解新烟碱类化合物的微生物,广泛分布于土壤、堆肥、水体等自然环境中,其最适条件、影响因素和代谢机制存在多样性和复杂性。故而,研究新烟碱类杀虫剂降解过程可以同为含氮杂环的烟碱生物转化过程为参照,结合酶、基因、中间化合物以及转化步骤的规律性,考察新烟碱类化合物降解模式的保守性和多样性。

已有多种细菌、真菌被发现可用于新烟碱类的降解,众多中间代谢物也被分离鉴定,涉及的反应过程包括氧化还原、硝化脱氨、(去)甲基化、开环成环、裂解水解等一系列复杂转化。此外,微生物共代谢尤其添加优势碳源促进了微生物对难降解有机物的转化效率。故而,阐明共代谢营养物质的调控模式对新烟碱类杀虫剂降解的影响机制,对于在复杂环境实际应用以期消除农药残留具有重要的参考意义。前期,烟碱降解过程中葡萄糖作为优势碳源限制了微生物利用尼古丁^[131],而新烟碱类杀虫剂降解过程添加优势碳源培养大多可以促进微生物对其转化。需要注意的是,更换共代谢基质可以促进或抑制微生物降解新烟碱。如假黄单胞菌 *P. indica* CGMCC 6648 采用丙酮酸与 IMI 共代谢,能显著强化菌体转化 IMI;而蔗糖与 IMI 共代谢则抑制菌体降解 IMI^[58]。此外,黏着剑菌 (*E. adhaerens*) TMX-23 在含有 TMX 为唯一碳氮源的培养基中降解率为 38.6%,而加入 1%葡萄糖后 TMX 降解率仅为 15%^[96]。这充分表明茄科植物合成的烟碱由于在自然界长期存在,可充分驯化微环境中的相应微生物;菌体可以烟碱为唯一碳氮源生长代谢,而基因水平转移或参与推动形成了代谢机制的多样性。基于此,可降解烟碱假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) JY-Q 已通过基因

敲除实现对糖酵解和 ED 途径的修饰,使突变菌可专一性降解混合底物(烟碱和葡萄糖)中的烟碱^[126,131]。但是,新烟碱类杀虫剂创制是近几十年在农业领域的重要进展,其残余对土壤和水体环境中的微生物驯化或许还不够充分,加之新烟碱类杀虫剂家族由于功能基团修饰一直处于更新换代中,导致功能菌株往往不能实现对新烟碱类完全降解,故需要共代谢基质中优势碳源作为营养物质可强化菌体的生物量或者诱导合成特异酶,促进菌体响应新烟碱类化合物并使之降解转化满足菌体能源需求与代谢前体。总而言之,已知的功能菌株对新烟碱类杀虫剂的代谢机制呈现多样性,甚至某一菌株对不同污染物呈现多种潜在的分解转化机制。土壤或水体“微环境”中的微生物可能形成了类似共生、互生的“共代谢机制”形成功能菌群协作转化杀虫剂,暗示编码代谢新烟碱类农药的功能传感和效应元件的遗传物质是处于动态变化之中的(即元件与模块具备可移动性、可插拔性)。

阐明新烟碱类化合物与共代谢基质对菌体生长代谢的影响及其调控机制,并借助代谢工程分子改造功能菌的基因组,修饰代谢流及其通量以强化菌体对新烟碱类的降解是一个重要的研究方向。多套氧化还原酶、异构酶、水解酶、小分子辅酶、细胞色素 c 和 P450 等参与杀虫剂转化,但这些信息较为碎片化,微生物降解新烟碱类污染物的关键酶和调控机制亟待阐明。鉴于污染物类型、微生物及其降解中间化合物的多样性,功能基因和代谢机制的研究存在一定难度。除此之外,来源于含有杀虫剂环境的微生物通常抗逆性较强,造成基因组编辑和功能基因挖掘技术层面的现实困难。未来面向新烟碱类化合物的微生物降解,实现污染物高效、绿色转化将面临诸多客观问题:(1) 功

能基因及对应酶、调控因子的筛选、鉴定与改造；(2) 兼具通用型且污染物耐受能力的功能底盘的选择与修饰；(3) 代谢元件的标准化和模块化，及采用大片段基因组编辑方法实现组装与适配；(4) 设计分子开关（传感器）和工程化措施改善生物降解速率缓慢和底物耐受差的客观问题，推动单菌与菌群制剂在恶劣苛刻的实际环境转化污染物。得益于宏基因组学技术发展，使得广大学者可摆脱细菌纯培养的繁重束缚，深入挖掘被污染的土壤和水体中的微生物适应机制。这便于我们借助基因组学精准解析策略和宏基因组大数据筛选来实现途径挖掘和过程解析。在推测和鉴定功能基因的基础上，我们可以采用代谢工程、合成生物学策略，重点解决功能菌对污染物可及性较差、复杂环境效果不佳等实际应用场景问题。

为解决关键基因预测和分子定向改造的现实困难，可考虑：(1) 借助（宏基因组/宏转录组）组学技术大数据动态精准挖掘微环境中的功能基因推测并验证其关键机制；(2) 开发面向普适功能底盘的 CRISPR-Cas 大片段序列的高效编辑技术；(3) 以合成生物学为理念构建代谢模块及精细调控通路；(4) 多菌体系在降解新烟碱类杀虫剂已展现出稳定性、高效率并可以降解多种异生质污染物^[85,125,132]，可在平衡代谢流分配和生长负担的基础上，菌群间实现智能化适配代谢或者分配物质转化压力，最终实现降解过程定量高效可控，是未来重要的研究方向和解决问题的关键方式。比如，基于基因组测序并采用比较基因组学和比较转录组学，烟碱降解菌 JY-Q 代谢烟碱的特殊基因架构被解析（基因组内可移动遗传元件携带 2 套基因，其编码产物承担吡咯烷降解途径）^[118]。但在复杂的废烟草水提液中，受制于菌体耐受和转化烟碱能力不足，JY-Q 降解烟碱效果不佳。后期

为突破这一瓶颈，我们通过内源性启动子的组合性置换的代谢工程策略，首先鉴定 JY-Q 代谢烟碱 3 个模块（上、中、下游）的调控因子和启动子，接着分别定向修饰了烟碱代谢途径上游（Nic1，承担烟碱转化为 3-琥珀酰吡啶）和中下游（Spm，3-琥珀酰吡啶羟化为 6-羟基-3-琥珀酰吡啶；Nic2，6-羟基-3-琥珀酰吡啶逐步转化为琥珀酸和延胡索酸进入三羧酸循环）^[133-134]，修饰菌相较野生型的烟碱降解率分别提升了 67%和 69%。以上成果得益于前期的比较基因组学研究和模块化设计思路^[135]，为深入挖掘新烟碱类杀虫剂代谢相关的功能基因、效应元件及其调控因子提供了可借鉴的思路。土壤中的污染类型呈现复杂性，如杀虫剂、除草剂、微塑料、增塑剂等^[136-137]。污染物的自发光解和水解存在不确定性和生态风险，挖掘并改造新型具备多重降解特性的微生物功能底盘具有迫切性。但是应用降解微生物及其代谢酶，处理处置废弃物和杀虫剂的成功范例较少。这要求深入理论研究明析其代谢机制并借助生物强化手段，缓解菌体压力同时提高生物降解过程的代谢速率。此外，该技术的应用还存在诸多需要解决的问题。比如，相对实验室环境野外田间试验效果不佳、研发成本高、单菌抗逆性差等。然而，预处理土壤创造适宜微环境强化生物降解，如改善温度、湿度、含氧量，成本高、操作复杂。随着研究的不断深入，筛选具有协同作用的改性功能菌并通过驯化配伍促进不同物种之间代谢耦联和压力分担，尽量避免上述缺陷，有望成为发挥功能菌优势实现生态修复的有效途径。综上，为应对新烟碱类杀虫剂引发的生态环境问题和累积毒力效应，（宏）基因组为代表的高通量技术和功能元件挖掘策略可有效推动功能菌株降解污染物的代谢途径及其多样性的研究。围绕新烟碱类杀虫剂

的生物降解,立足实验室基础理论研究和开发新型方法技术,系统掌握功能菌株的催化机制和调控模式,并采用合成生物学策略整合和优化标准化的功能元件提升微生物降解效果,是科学指导实际场景中消除污染物应用转化的可借鉴思路。

REFERENCES

- [1] 张超,孙艺夺,孙生阳,等.城乡收入差距是否提高了农业化学品投入?——以农药施用为例.中国农村经济,2019(1):96-111.
Zhang C, Sun YD, Sun SY, et al. Does the urban-rural income gap increase agricultural chemical input? A case study of pesticide use. Chin Rural Econ, 2019(1): 96-111 (in Chinese).
- [2] 秦萌,任宗杰,张帅,等.从“农药零增长行动”看“农药减量化”发展.中国植保导刊,2021,41(11):89-94.
Qin M, Ren ZJ, Zhang S, et al. The development of “pesticide reduction”: from the perspective of “action to achieve zero growth of pesticide use”. China Plant Prot, 2021, 41(11): 89-94 (in Chinese).
- [3] 杨吉春,李森,柴宝山,等.新烟碱类杀虫剂最新研究进展.农药,2007,46(7):433-438.
Yang JC, Li M, Chai BS, et al. Recent research advances in new neonicotinoids insecticides. Agrochemicals, 2007, 46(7): 433-438 (in Chinese).
- [4] Sparks TC, Nauen R. IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. Pestic Biochem Physiol, 2015, 121: 122-128.
- [5] Li J, Li SS, Xie LL, et al. Additional role of nicotinic acid hydroxylase for the transformation of 3-succinoyl-pyridine by *Pseudomonas* sp. strain JY-Q. Appl Environ Microbiol, 2021, 87(6): e02740-20.
- [6] Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005, 45: 247-268.
- [7] Wood TJ, Goulson D. The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. Environ Sci Pollut Res Int, 2017, 24(21): 17285-17325.
- [8] Pisa LW, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, et al. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. Environ Sci Pollut Res Int, 2015, 22(1): 68-102.
- [9] Cimino AM, Boyles AL, Thayer KA, et al. Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review. Environ Health Perspect, 2017, 125(2): 155-162.
- [10] Hussain S, Hartley CJ, Shettigar M, et al. Bacterial biodegradation of neonicotinoid pesticides in soil and water systems. FEMS Microbiol Lett, 2016, 363(23): fnw252.
- [11] Ahmad S, Cui DM, Zhong GH, et al. Microbial technologies employed for biodegradation of neonicotinoids in the agroecosystem. Front Microbiol, 2021, 12: 759439.
- [12] Anjos CS, Lima RN, Porto ALM. An overview of neonicotinoids: biotransformation and biodegradation by microbiological processes. Environ Sci Pollut Res Int, 2021, 28(28): 37082-37109.
- [13] Peña A, Rodríguez-Liébana JA, Mingorance MD. Persistence of two neonicotinoid insecticides in wastewater, and in aqueous solutions of surfactants and dissolved organic matter. Chemosphere, 2011, 84(4): 464-470.
- [14] 席培宇,李景壮,段亚玲,等.噻虫嗪在土壤表面及水中的光解特性.农药,2014,53(10):726-728,750.
Xi PY, Li JZ, Duan YL, et al. The photolysis characteristics of thiamethoxam in the water and soil surface. Agrochemicals, 2014, 53(10): 726-728, 750 (in Chinese).
- [15] De Urzedo APFM, Diniz MER, Nascentes CC, et al. Photolytic degradation of the insecticide thiamethoxam in aqueous medium monitored by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. J Mass Spectrom, 2007, 42(10): 1319-1325.
- [16] 李敏,赵会君,屈欢,等.新烟碱类杀虫剂潜在环境风险及光降解行为研究进展.农药,2019,58(3):170-173.
Li M, Zhao HJ, Qu H, et al. Research progress on potential environmental risks and photodegradation of neonicotinoids insecticides. Agrochemicals, 2019, 58(3): 170-173 (in Chinese).
- [17] Colombo V, Mohr S, Berghahn R, et al. Structural changes in a macrozoobenthos assemblage after imidacloprid pulses in aquatic field-based microcosms. Arch Environ Contam Toxicol, 2013, 65(4): 683-692.
- [18] Šojić D, Despotović V, Orčić D, et al. Degradation of thiamethoxam and metoprolol by UV, O₃ and UV/O₃ hybrid processes: kinetics, degradation intermediates and toxicity. J Hydrol, 2012, 472/473: 314-327.
- [19] 程浩森,成凌,朱腾义,等.新烟碱类农药在土壤环境中环境行为的研究进展.中国环境科学,2020,40(2):

- 736-747.
Cheng HM, Cheng L, Zhu TY, et al. Research progress on environmental behaviors of neonicotinoids in the soil. *China Environ Sci*, 2020, 40(2): 736-747 (in Chinese).
- [20] 谢国红, 刘国光, 孙德智, 等. 啮虫脒水解动力学研究. *安徽农业科学*, 2007, 35(30): 9629-9630.
Xie GH, Liu GG, Sun DZ, et al. Study on hydrolysis kinetics of acetamiprid. *J Anhui Agric Sci*, 2007, 35(30): 9629-9630 (in Chinese).
- [21] 庾琴, 周华, 王静, 等. 啮虫脒在环境中的降解代谢及其安全性的研究进展. *农药*, 2007, 46(4): 223-226.
Yu Q, Zhou H, Wang J, et al. Research progress on degradation of acetamiprid and safety to environment. *Agrochemicals*, 2007, 46(4): 223-226 (in Chinese).
- [22] 管欢, 黄慧俐, 行艳景, 等. 噻虫胺在甘蔗和土壤中的残留分析及消解动态. *现代农药*, 2015, 14(2): 42-45.
Guan H, Huang HL, Xing YJ, et al. Residue and degradation dynamics of clothianidin in sugarcane and soil. *Mod Agrochem*, 2015, 14(2): 42-45 (in Chinese).
- [23] 张鹏, 金芬, 杨莉莉, 等. 噻虫胺在番茄和土壤中的残留及消解动态. *农药学报*, 2016, 18(4): 490-496.
Zhang P, Jin F, Yang LL, et al. Residue and dissipation of clothianidin in tomatoes and soil. *Chin J Pestic Sci*, 2016, 18(4): 490-496 (in Chinese).
- [24] European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on the science behind the development of a risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA J*, 2012, 10(5): 2668.
- [25] 苍涛, 王彦华, 吴长兴, 等. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评价. *生态毒理学报*, 2017, 12(4): 285-292.
Cang T, Wang YH, Wu CX, et al. Acute toxicity and risk assessment of neonicotinoid insecticides to honeybees (*Apis mellifera* L.). *Asian J Ecotoxicol*, 2017, 12(4): 285-292 (in Chinese).
- [26] Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu Rev Entomol*, 2007, 52: 81-106.
- [27] Krischik VA, Landmark AL, Heimpel GE. Soil-applied imidacloprid is translocated to nectar and kills nectar-feeding *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae). *Environ Entomol*, 2007, 36(5): 1238-1245.
- [28] Forister ML, Cousens B, Harrison JG, et al. Increasing neonicotinoid use and the declining butterfly fauna of lowland California. *Biol Lett*, 2016, 12(8): 20160475.
- [29] Hallmann CA, Foppen RPB, Van Turnhout CAM, et al. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature*, 2014, 511(7509): 341-343.
- [30] Lopez-Antia A, Ortiz-Santaliestra ME, Mougeot F, et al. Imidacloprid-treated seed ingestion has lethal effect on adult partridges and reduces both breeding investment and offspring immunity. *Environ Res*, 2015, 136: 97-107.
- [31] Finnegan MC, Baxter LR, Maul JD, et al. Comprehensive characterization of the acute and chronic toxicity of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam to a suite of aquatic primary producers, invertebrates, and fish. *Environ Toxicol Chem*, 2017, 36(10): 2838-2848.
- [32] 张琪, 赵成, 卢晓霞, 等. 新烟碱类杀虫剂对非靶标生物毒性效应的研究进展. *生态毒理学报*, 2020, 15(1): 56-71.
Zhang Q, Zhao C, Lu XX, et al. Advances in research on toxic effects of neonicotinoid insecticides on non-target organisms. *Asian J Ecotoxicol*, 2020, 15(1): 56-71 (in Chinese).
- [33] Sumon KA, Ritika AK, Peeters ETHM, et al. Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater microcosms. *Environ Pollut*, 2018, 236: 432-441.
- [34] Liu T, Wang XG, Xu JL, et al. Biochemical and genetic toxicity of dinotefuran on earthworms (*Eisenia fetida*). *Chemosphere*, 2017, 176: 156-164.
- [35] Qi SZ, Wang DH, Zhu LZ, et al. Effects of a novel neonicotinoid insecticide cycloxaprid on earthworm, *Eisenia fetida*. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2018, 25(14): 14138-14147.
- [36] Kapoor U, Srivastava MK, Srivastava LP. Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(12): 3086-3089.
- [37] Babel'ová J, Šefčíková Z, Čikoš Š, et al. Exposure to neonicotinoid insecticides induces embryotoxicity in mice and rabbits. *Toxicology*, 2017, 392: 71-80.
- [38] Lonare M, Kumar M, Raut S, et al. Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochem Int*, 2014, 78: 122-129.
- [39] Şekeroğlu V, Şekeroğlu ZA, Kefelioğlu H. Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on wistar rat bone marrow cells. *Environ Toxicol*, 2013, 28(9): 524-531.

- [40] Vohra P, Khera KS, Sangha GK. Physiological, biochemical and histological alterations induced by administration of imidacloprid in female albino rats. *Pestic Biochem Physiol*, 2014, 110: 50-56.
- [41] Caron-Beaudoin É, Viau R, Sanderson JT. Effects of neonicotinoid pesticides on promoter-specific aromatase (CYP19) expression in Hs578t breast cancer cells and the role of the VEGF pathway. *Environ Health Perspect*, 2018, 126(4): 047014.
- [42] Koureas M, Tsezou A, Tsakalof A, et al. Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. *Sci Total Environ*, 2014, 496: 358-364.
- [43] Hernández AF, Casado I, Pena G, et al. Low level of exposure to pesticides leads to lung dysfunction in occupationally exposed subjects. *Inhal Toxicol*, 2008, 20(9): 839-849.
- [44] Carmichael SL, Yang W, Roberts E, et al. Residential agricultural pesticide exposures and risk of selected congenital heart defects among offspring in the San Joaquin Valley of California. *Environ Res*, 2014, 135: 133-138.
- [45] Keil AP, Daniels JL, Hertz-Picciotto I. Autism spectrum disorder, flea and tick medication, and adjustments for exposure misclassification: the CHARGE (CHildhood Autism Risks from Genetics and Environment) case-control study. *Environ Health*, 2014, 13(1): 3.
- [46] Acero JL, Real FJ, Benitez FJ, et al. Degradation of neonicotinoids by UV irradiation: kinetics and effect of real water constituents. *Sep Purif Technol*, 2019, 211: 218-226.
- [47] Lin ZQ, Zhang WP, Pang SM, et al. Current approaches to and future perspectives on methomyl degradation in contaminated soil/water environments. *Molecules*, 2020, 25(3): 738.
- [48] Ye SJ, Yan M, Tan XF, et al. Facile assembled biochar-based nanocomposite with improved graphitization for efficient photocatalytic activity driven by visible light. *Appl Catal B Environ*, 2019, 250: 78-88.
- [49] Li HY, Qiu YZ, Yao T, et al. Evaluation of seven chemical pesticides by mixed microbial culture (PCS-1): degradation ability, microbial community, and *Medicago sativa* phytotoxicity. *J Hazard Mater*, 2020, 389: 121834.
- [50] Pang SM, Lin ZQ, Zhang WP, et al. Insights into the microbial degradation and biochemical mechanisms of neonicotinoids. *Front Microbiol*, 2020, 11: 868.
- [51] Wang GL, Chen X, Yue WL, et al. Microbial degradation of acetamiprid by *Ochrobactrum* sp. D-12 isolated from contaminated soil. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82603.
- [52] Dai YJ, Yuan S, Ge F, et al. Microbial hydroxylation of imidacloprid for the synthesis of highly insecticidal olefin imidacloprid. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 71(6): 927-934.
- [53] Hussain S, Siddique T, Arshad M, et al. Bioremediation and phytoremediation of pesticides: recent advances. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 2009, 39(10): 843-907.
- [54] 张国生, 侯广新. 烟碱类杀虫剂的应用、开发现状及展望. *农药科学与管理*, 2004, 25(3): 22-26.
Zhang GS, Hou GX. Present status of development and prospect of nicotinoid insecticides. *Pestic Sci Adm*, 2004, 25(3): 22-26 (in Chinese).
- [55] Ferreira L, Rosales E, Danko AS, et al. *Bacillus thuringiensis* a promising bacterium for degrading emerging pollutants. *Process Saf Environ Prot*, 2016, 101: 19-26.
- [56] Phugare SS, Kalyani DC, Gaikwad YB, et al. Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*). *Chem Eng J*, 2013, 230: 27-35.
- [57] Gupta M, Mathur S, Sharma TK, et al. A study on metabolic prowess of *Pseudomonas* sp. RPT 52 to degrade imidacloprid, endosulfan and coragen. *J Hazard Mater*, 2016, 301: 250-258.
- [58] Ma Y, Zhai S, Mao SY, et al. Co-metabolic transformation of the neonicotinoid insecticide imidacloprid by the new soil isolate *Pseudoxanthomonas indica* CGMCC 6648. *J Environ Sci Health B*, 2014, 49(9): 661-670.
- [59] Guo LL, Dai ZL, Guo JJ, et al. Oligotrophic bacterium *Hymenobacter latericoloratus* CGMCC 16346 degrades the neonicotinoid imidacloprid in surface water. *AMB Express*, 2020, 10(1): 7.
- [60] Akoijam R, Singh B. Biodegradation of imidacloprid in sandy loam soil by *Bacillus aerophilus*. *Int J Environ Anal Chem*, 2015, 95(8): 730-743.
- [61] Chen T, Dai YJ, Ding JF, et al. N-demethylation of neonicotinoid insecticide acetamiprid by bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC 1.1788. *Biodegradation*, 2008, 19(5): 651-658.
- [62] Pandey G, Dorrian SJ, Russell RJ, et al.

- Biotransformation of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam by *Pseudomonas* sp. 1G. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(3): 710-714.
- [63] Shettigar M, Pearce S, Pandey R, et al. Cloning of a novel 6-chloronicotinic acid chlorohydrolase from the newly isolated 6-chloronicotinic acid mineralizing *Bradyrhizobiaceae* strain SG-6C. *PLoS One*, 2012, 7(11): e51162.
- [64] Sabourmoghaddam N, Zakaria MP, Omar D. Evidence for the microbial degradation of imidacloprid in soils of Cameron Highlands. *J Saudi Soc Agric Sci*, 2015, 14(2): 182-188.
- [65] Sharma S, Singh B, Gupta VK. Biodegradation of imidacloprid by consortium of two soil isolated *Bacillus* sp. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2014, 93(5): 637-642.
- [66] Encarnaç o T, Santos D, Ferreira S, et al. Removal of imidacloprid from water by microalgae *Nannochloropsis* sp. and its determination by a validated RP-HPLC method. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2021, 107(1): 131-139.
- [67] Zhang P, Ren C, Sun HW, et al. Sorption, desorption and degradation of neonicotinoids in four agricultural soils and their effects on soil microorganisms. *Sci Total Environ*, 2018, 615: 59-69.
- [68] Yao XH, Min H. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of a bacterial strain capable of degrading acetamiprid. *J Environ Sci (China)*, 2006, 18(1): 141-146.
- [69] Shi ZK, Dong WL, Xin FX, et al. Characteristics and metabolic pathway of acetamiprid biodegradation by *Fusarium* sp. strain CS-3 isolated from soil. *Biodegradation*, 2018, 29(6): 593-603.
- [70] Zhou LY, Zhang LJ, Sun SL, et al. Degradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid via the N-carbamoylimine derivat (IM-1-2) mediated by the nitrile hydratase of the nitrogen-fixing bacterium *Ensifer meliloti* CGMCC 7333. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(41): 9957-9964.
- [71] Yang HX, Wang X, Zheng J, et al. Biodegradation of acetamiprid by *Pigmentiphaga* sp. D-2 and the degradation pathway. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2013, 85: 95-102.
- [72] Wang GL, Yue WL, Liu Y, et al. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid by bacterium *Pigmentiphaga* sp. strain AAP-1 isolated from soil. *Bioresour Technol*, 2013, 138: 359-368.
- [73] Tang HZ, Li J, Hu HY, et al. A newly isolated strain of *Stenotrophomonas* sp. hydrolyzes acetamiprid, a synthetic insecticide. *Process Biochem*, 2012, 47(12): 1820-1825.
- [74] Sun SL, Yang WL, Guo JJ, et al. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid in surface water by the bacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 and its enzymatic mechanism. *RSC Adv*, 2017, 7(41): 25387-25397.
- [75] Wang GL, Zhao YJ, Gao H, et al. Co-metabolic biodegradation of acetamiprid by *Pseudoxanthomonas* sp. AAP-7 isolated from a long-term acetamiprid-polluted soil. *Bioresour Technol*, 2013, 150: 259-265.
- [76] Phugare SS, Jadhav JP. Biodegradation of acetamiprid by isolated bacterial strain *Rhodococcus* sp. BCH₂ and toxicological analysis of its metabolites in silkworm (*Bombax mori*). *CLEAN Soil Air Water*, 2015, 43(2): 296-304.
- [77] 姬微微, 陈婷, 桑琪, 等. 草酸青霉菌 *Penicillium oxalicum* IM-3 对氯代吡啶烟碱类杀虫剂的代谢作用. *生态与农村环境学报*, 2010, 26(3): 246-250.
- Ji WW, Chen T, Sang Q, et al. Metabolism of chloronicotinyl neonicotinoid insecticides by fungi *Penicillium oxalicum* IM-3. *J Ecol Rural Environ*, 2010, 26(3): 246-250 (in Chinese).
- [78] Wang JQ, Hirai H, Kawagishi H. Biotransformation of acetamiprid by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93(2): 831-835.
- [79] Wang JQ, Ohno H, Ide Y, et al. Identification of the cytochrome P450 involved in the degradation of neonicotinoid insecticide acetamiprid in *Phanerochaete chrysosporium*. *J Hazard Mater*, 2019, 371: 494-498.
- [80] Dai YJ, Ji WW, Chen T, et al. Metabolism of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and thiacloprid by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain IM-2. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(4): 2419-2425.
- [81] Gupta S, Gajbhiye VT. Persistence of acetamiprid in soil. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2007, 78(5): 349-352.
- [82] Dai YJ, Zhao YJ, Zhang WJ, et al. Biotransformation of thianicotinyl neonicotinoid insecticides: diverse molecular substituents response to metabolism by bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC 1.1788. *Bioresour Technol*, 2010, 101(11): 3838-3843.
- [83] Liu ZH, Dai YJ, Huang GD, et al. Soil microbial degradation of neonicotinoid insecticides imidacloprid,

- acetamiprid, thiacloprid and imidacloprid and its effect on the persistence of bioefficacy against horsebean aphid *Aphis craccivora* Koch after soil application. *Pest Manag Sci*, 2011, 67(10): 1245-1252.
- [84] Parte SG, Kharat AS. Aerobic degradation of clothianidin to 2-chloro-methyl thiazole and methyl 3-(thiazole-yl) methyl guanidine produced by *Pseudomonas stutzeri* smk. *J Environ Public Health*, 2019, 2019: 4807913.
- [85] Wang X, Xue LG, Chang SJ, et al. Bioremediation and metabolism of clothianidin by mixed bacterial consortia enriched from contaminated soils in Chinese greenhouse. *Process Biochem*, 2019, 78: 114-122.
- [86] Mori T, Wang JQ, Tanaka Y, et al. Bioremediation of the neonicotinoid insecticide clothianidin by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida*. *J Hazard Mater*, 2017, 321: 586-590.
- [87] Mulligan RA, Tomco PL, Howard MW, et al. Aerobic versus anaerobic microbial degradation of clothianidin under simulated California rice field conditions. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(38): 7059-7067.
- [88] 谭海军. 新烟碱类杀虫剂环氧虫啉及其开发. *世界农药*, 2019, 41(4): 59-64.
Tan HJ. New neonicotinoid insecticide cycloxyprid and its development. *World Pestic*, 2019, 41(4): 59-64 (in Chinese).
- [89] Zhang HJ, Zhou QW, Zhou GC, et al. Biotransformation of the neonicotinoid insecticide thiacloprid by the bacterium *Variovorax boronicumulans* strain J1 and mediation of the major metabolic pathway by nitrile hydratase. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(1): 153-159.
- [90] Ge F, Zhou LY, Wang Y, et al. Hydrolysis of the neonicotinoid insecticide thiacloprid by the N₂-fixing bacterium *Ensifer meliloti* CGMCC 7333. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2014, 93: 10-17.
- [91] Zhao YX, Jiang HY, Cheng X, et al. Neonicotinoid thiacloprid transformation by the N₂-fixing bacterium *Microvirga flocculans* CGMCC 1.16731 and toxicity of the amide metabolite. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2019, 145: 104806.
- [92] Zhao YJ, Dai YJ, Yu CG, et al. Hydroxylation of thiacloprid by bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC1.1788. *Biodegradation*, 2009, 20(6): 761-768.
- [93] Mori T, Ohno H, Ichinose H, et al. White-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* metabolizes chloropyridinyl-type neonicotinoid insecticides by an N-dealkylation reaction catalyzed by two cytochrome P450s. *J Hazard Mater*, 2021, 402: 123831.
- [94] Chen KY, Liu XG, Wu XH, et al. The degradation dynamics and rapid detection of thiacloprid and its degradation products in water and soil by UHPLC-QTOF-MS. *Chemosphere*, 2021, 263: 127960.
- [95] Maienfisch P, Huerlimann H, Rindlisbacher A, et al. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest Manag Sci*, 2001, 57(2): 165-176.
- [96] Zhou GC, Wang Y, Zhai S, et al. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam by the nitrogen-fixing and plant-growth-promoting rhizobacterium *Ensifer adhaerens* strain TMX-23. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(9): 4065-4074.
- [97] Rana S, Gupta V. Microbial degradation of second generation neonicotinoid: thiamethoxam in clay loam soils. *J Pharmacogn Phytochem*, 2019, 8(1S): 294-298.
- [98] Hegde D, Manoharan T, Sridar R. Identification and characterization of bacterial isolates and their role in the degradation of neonicotinoid insecticide thiamethoxam. *J Pure Appl Microbiol*, 2017, 11(1): 393-400.
- [99] Wang WF, Wan Q, Li YX, et al. Application of an endophyte *Enterobacter* sp. TMX13 to reduce thiamethoxam residues and stress in Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.). *J Agric Food Chem*, 2020, 68(34): 9180-9187.
- [100] Wang J, Chen J, Zhu WJ, et al. Isolation of the novel chiral insecticide paichongding (IPP) degrading strains and biodegradation pathways of RR/SS-IPP and SR/RS-IPP in an aqueous system. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(40): 7431-7437.
- [101] Cai ZQ, Zhang WJ, Li SS, et al. Microbial degradation mechanism and pathway of the novel insecticide paichongding by a newly isolated *Sphingobacterium* sp. P1-3 from soil. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(15): 3823-3829.
- [102] Fu QG, Zhang JB, Xu XY, et al. Diastereoselective metabolism of a novel *cis*-nitromethylene neonicotinoid paichongding in aerobic soils. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(18): 10389-10396.
- [103] Fu QG, Wang YC, Zhang JB, et al. Soil microbial effects on the stereoselective mineralization, extractable residue, bound residue, and metabolism of a novel chiral *cis* neonicotinoid, paichongding. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(32): 7689-7695.
- [104] Chen J, Zhou SM, Rong Y, et al. Pyrosequencing reveals bacterial communities and enzyme activities

- differences after application of novel chiral insecticide paichongding in aerobic soils. *Appl Soil Ecol*, 2017, 112: 18-27.
- [105] Cai ZQ, Ma JT, Wang J, et al. Aerobic biodegradation kinetics and pathway of the novel *cis*-nitromethylene neonicotinoid insecticide paichongding in yellow loam and Huangshi soils. *Appl Soil Ecol*, 2016, 98: 150-158.
- [106] Cai ZQ, Wang J, Ma JT, et al. Anaerobic degradation pathway of the novel chiral insecticide paichongding and its impact on bacterial communities in soils. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(32): 7151-7160.
- [107] 于福强, 黄耀师, 苏州, 等. 新颖杀虫剂氟啶虫胺胍. 农药, 2013, 52(10): 753-755.
Yu FQ, Huang YS, Su Z, et al. A novel insecticides sulfoxaflor. *Agrochemicals*, 2013, 52(10): 753-755 (in Chinese).
- [108] Yang WL, Dai ZL, Cheng X, et al. Sulfoxaflor degraded by *Aminobacter* sp. CGMCC 1.17253 through hydration pathway mediated by nitrile hydratase. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(16): 4579-4587.
- [109] Jeschke P, Nauen R. Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Manag Sci*, 2008, 64(11): 1084-1098.
- [110] Su WC, Zhou YH, Ma YQ, et al. N'-nitro-2-hydrocarbylidenehydrazine carboximidamides: design, synthesis, crystal structure, insecticidal activity, and structure-activity relationships. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(20): 5028-5034.
- [111] 唐振华. 新烟碱类杀虫剂的结构与活性及其药效基团. 现代农药, 2002, 1(1): 1-6.
Tang ZH. Structure - activity and pharmacophore of neonicotinoid insecticides. *Mod Agrochem*, 2002, 1(1): 1-6 (in Chinese).
- [112] Wang JQ, Tanaka Y, Ohno H, et al. Biotransformation and detoxification of the neonicotinoid insecticides nitenpyram and dinotefuran by *Phanerochaete sordida* YK-624. *Environ Pollut*, 2019, 252(Pt A): 856-862.
- [113] Dai ZL, Yang WL, Fan ZX, et al. Actinomycetes *Rhodococcus ruber* CGMCC 17550 degrades neonicotinoid insecticide nitenpyram via a novel hydroxylation pathway and remediates nitenpyram in surface water. *Chemosphere*, 2021, 270: 128670.
- [114] Sharma S, Singh B, Gupta VK. Assessment of imidacloprid degradation by soil-isolated *Bacillus alkalinitrilicus*. *Environ Monit Assess*, 2014, 186(11): 7183-7193.
- [115] Kandil MM, Trigo C, Koskinen WC, et al. Isolation and characterization of a novel imidacloprid-degrading *Mycobacterium* sp. strain MK6 from an Egyptian soil. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(19): 4721-4727.
- [116] Anhalt JC, Moorman TB, Koskinen WC. Biodegradation of imidacloprid by an isolated soil microorganism. *J Environ Sci Heal B*, 2007, 42(5): 509-514.
- [117] Hu GP, Zhao Y, Liu B, Song FQ, You MS. Isolation of an indigenous imidacloprid degrading bacterium and imidacloprid bioremediation. *J Microbiol Biotechnol*, 2013, 23(11): 1617-1626.
- [118] Mohammed YMM, Badawy MEI. Biodegradation of imidacloprid in liquid media by an isolated wastewater fungus *Aspergillus terreus* YESM3. *J Environ Sci Health B*, 2017, 52(10): 752-761.
- [119] Sun SL, Fan ZX, Zhao YX, et al. A novel nutrient deprivation-induced neonicotinoid insecticide acetamiprid degradation by *Ensifer adhaerens* CGMCC 6315. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(1): 63-71.
- [120] Guo L, Fang WW, Guo LL, et al. Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid by actinomycetes *Streptomyces canus* CGMCC 13662 and characterization of the novel nitrile hydratase involved. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(21): 5922-5931.
- [121] Kanjilal T, Bhattacharjee C, Datta S. Utilization of *S. aureus* strain 502A in biodegradation of insecticide acetamiprid from wetland wastewater. *Desalination Water Treat*, 2016, 57(28): 13190-13206.
- [122] Rana S, Jindal V, Mandal K, et al. Thiamethoxam degradation by *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from agricultural soils. *Environ Monit Assess*, 2015, 187(5): 300.
- [123] Lu TQ, Mao SY, Sun SL, et al. Regulation of hydroxylation and nitroreduction pathways during metabolism of the neonicotinoid insecticide imidacloprid by *Pseudomonas putida*. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(24): 4866-4875.
- [124] Akoijam R, Singh B. Metabolic degradation of imidacloprid in paddy field soil. *Environ Monit Assess*, 2014, 186(10): 5977-5984.
- [125] Xu B, Xue R, Zhou J, et al. Characterization of acetamiprid biodegradation by the microbial consortium ACE-3 enriched from contaminated soil. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1429.
- [126] Zhang ZL, Mei XT, He ZL, et al. Nicotine metabolism pathway in bacteria: mechanism, modification, and

- application. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022, 106(3): 889-904.
- [127] Li J, Qian SL, Xiong L, et al. Comparative genomics reveals specific genetic architectures in nicotine metabolism of *Pseudomonas* sp. JY-Q. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2085.
- [128] Tang HZ, Zhang KZ, Hu HY, et al. Molecular deceleration regulates toxicant release to prevent cell damage in *Pseudomonas putida* S16 (DSM 28022). *mBio*, 2020, 11(5): e02012-20.
- [129] Li J, Shen MJ, Chen ZY, et al. Expression and functional identification of two homologous nicotine dehydrogenases, NicA2 and Nox, from *Pseudomonas* sp. JY-Q. *Protein Expr Purif*, 2021, 178: 105767.
- [130] Dulchavsky M, Clark CT, Bardwell JCA, et al. A cytochrome *c* is the natural electron acceptor for nicotine oxidoreductase. *Nat Chem Biol*, 2021, 17(3): 344-350.
- [131] Zhang H, Zhao R, Huang CC, et al. Selective and faster nicotine biodegradation by genetically modified *Pseudomonas* sp. JY-Q in the presence of glucose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(1): 339-348.
- [132] Rodríguez-Castillo G, Molina-Rodríguez M, Cambrónero-Heinrichs JC, et al. Simultaneous removal of neonicotinoid insecticides by a microbial degrading consortium: detoxification at reactor scale. *Chemosphere*, 2019, 235: 1097-1106.
- [133] Li J, Yi FM, Chen GQ, et al. Function enhancement of a metabolic module via endogenous promoter replacement for *Pseudomonas* sp. JY-Q to degrade nicotine in tobacco waste treatment. *Appl Biochem Biotechnol*, 2021, 193(9): 2793-2805.
- [134] Huang CC, Shan LH, Chen ZY, et al. Differential effects of homologous transcriptional regulators NicR2A, NicR2B1, and NicR2B2 and endogenous ectopic strong promoters on nicotine metabolism in *Pseudomonas* sp. strain JY-Q. *Appl Environ Microbiol*, 2021, 87(3): e02457-20.
- [135] Li J, Wang J, Li SS, et al. Co-occurrence of functional modules derived from nicotine-degrading gene clusters confers additive effects in *Pseudomonas* sp. JY-Q. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(11): 4499-4510.
- [136] Liu TF, Li J, Qiu LQ, et al. Combined genomic and transcriptomic analysis of the dibutyl phthalate metabolic pathway in *Arthrobacter* sp. ZJUTW. *Biotechnol Bioeng*, 2020, 117(12): 3712-3726.
- [137] Tal O, Bartuv R, Vetcos M, et al. NetCom: a network-based tool for predicting metabolic activities of microbial communities based on interpretation of metagenomics data. *Microorganisms*, 2021, 9(9): 1838.

(本文责编 郝丽芳)