

ХАЛОГЕНОВЪГЛЕВОДОРОДНИ ЗАМЪРСИТЕЛИ И ТЯХНОТО БИОРАЗГРАЖДАНЕ

Евгения Василева, Венко Бешков

*Институт по инженерна химия, Българска Академия на Науките,
Ул. "Акад. Г. Бончев", бл. 103, п.к. 1113, София, България
e-mail: jenivasileva96@gmail.com*

HALOGENATED HYDROCARBON POLLUTANTS AND THEIR BIODEGRADATION

Evgenia Vasileva, Venko Beschkov

*Institute of Chemical Engineering, Bulgarian Academy of Sciences
Acad. G. Bontchev str. bl. 103, 1113 Sofia, Bulgaria
e-mail: jenivasileva96@gmail.com*

АБСТРАКТ

Halogenated hydrocarbons are important chemicals for industry. They are xenobiotics and cause considerable environmental pollution and human health problems as a result of their toxicity and transformation into hazardous metabolites. Pollutants degraded by bacteria and fungi are grouped into three classes – aliphatic, polycyclic and aromatic. An understanding of the metabolic pathways for degradation of halogenated compounds is the reason for widely application of soil and aquatic microorganisms.

Key words: *halogenated hydrocarbon pollutants, aliphatic, polycyclic and aromatic compounds, biodegradation*

ВЪВЕДЕНИЕ

Халогеновъгледородните съединения се произвеждат в големи количества от химическата промишленост и са част от основните замърсители на околната среда. Те са широко разпространени като индустриални химикали, инсектициди, хербициди, пестициди, лекарства и антибиотици, примеси в хранителни продукти, консерванти, набухватели и др. Цел на биологичните изследвания е да се изолират и охарактеризират такива микроорганизми, които култивирани в съответната хранителна среда могат да използват халогенираните субстрати като въглеродни източници. Те разкъсват връзката въглерод-халогенен елемент и спомагат за отделяне на съответните йони в свободно състояние [8,25,26,37]. Някои от ксенобиотиците се срещат в природата с много ниски концентрации от порядъка на мкг/л. Поради тази причина, стандартните методи за пречистване са неприложими и за разграждането на замърсители с такива концентрации, се прилагат биологични методи. Познаването на метаболитните пътища на разграждане на тези съединения е причина за широкото приложение на биоразграждането от почвени и водни микроорганизми. Химичната и биологична трансформация е контролируема и е зависима от законовите разпоредби и спазване на изискванията за опазване на околната среда. Генетичната и молекулярна информация за биопроцесите също така оказва значително влияние и върху популацията на микроорганизмите в околната среда.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Публикувани са няколко обзорни статии, свързани с биоразграждането на халогеновъгледородните съединения [1,2,10,14,16,19,20,21,22,23,27,28,33,35,38,40,41,44]. В по-голямата си част публикациите отразяват аеробното биоразграждане. В сравнение с анаеробните методи, тези процеси са много по-ефективни и приложими. Халогенираните въгледороди, които се разграждат от бактерии и гъби са групирани в три категории:

алифатни, полициклични и ароматни [6]. В таблици 1, 2 и 3 са илюстрирани различните видове халогенирани съединения и микроорганизмите, които могат да ги разграждат.

Халогенираните алифатни съединения са широко разпространени в подпочвените води и са в значителни количества във филтрите за пречистване на отпадъчни води. Част от хлорните и бромирани алкани и алкени са използвани за промишлени, комерсиални и селскостопански нужди. Такива са халогенираните алканоидни киселини, халоалканите, трихлоретиленът, трихлоретанът (ТСА) и етилендибромидът. Хлоретаните и хлорираните етери често се срещат като охладители в промишлеността, като разтворители за химическо пречистване на метали и пластмаси, като лакиращи покрития и в производството на полупроводници. Те оказват вредно влияние върху здравето на човека, поради което са направени редица изследвания за унищожаването им в замърсената околна среда. Измежду всички видове хербициди, 2,2-дихлорпропионовата и D,L-2-дихлорпропионова киселини широко се използват за унищожаване на непознати и трудно достъпни плевели и целогодишни насаждения [3,11]. Хлоретаните като винилхлорида, трихлоретилена и тетрачлоретилена, често могат да се открият в чистата вода. Трихлоретиленът е един от най-значимите промишлени разтворители, който се използва за почистване на метали и електронни елементи. Друг важен елемент от групата на халогенните алифатни съединения е етилендибромидът. Той се използва като дезинфекционно средство и е важна добавка към бензина. През последните десетилетия е изследван обширно, поради огромните проблеми за замърсяване на околната среда, които произтичат от употребата му. Pignateiro [30] съобщава за микробно разграждане на 1,2-дихлоретана във водна среда. Монохалогеноцетните киселини са широко разпространени в промишлеността и в селското стопанство. Сходните на тях монохлорацетати се използват за производство на тиогликолова киселина (междинен продукт в производството на органични стабилизатори за поливинилхлорид), хербициди, карбоксиметилцелулоза, консерванти за напитки и други химикали [42]. Монобромоецетната киселина се използва както за производството на разнообразни продукти, приложими в аграрното производство и фармацевтиката, така и като страничен продукт от дезинфекцията на водите [31]. Употребата на монофлуорацетати и монофлуороецетна киселина е строго ограничено поради високата токсичност, която те оказват върху животните. От цялата група дихалогенацетати, които са намерили голямо приложение в производството на антибиотици, сулфонамиди и препарати за растителна защита [34], само дихлороецетната киселина се произвежда в големи количества. В таблица 1 са показани тези халогенирани алифатни съединения, които се използват за субстрати от почвени и водни микроорганизми. Janssen et al. [15] съобщават за клетки на бактериалния щам *Xanthobacter autotrophicus (GJ10)*, които могат да разграждат 1,2-дихлоретан. Трихлоретиленът се разгражда както от анаеробни [4,18], така и от аеробни микроорганизми [43,24]. Разграждането на халогенни алкани като 1-хлорбутан, 1,3-дихлорпропан и 1,9-дихлорнонан е описано от Yokota et al. [45]. Изолирани са няколко бактериални щамове, които представляват метан-разграждащи бактерии. Sholtz et al. [36] съобщават за *Arthrobacter sp.*, която е в състояние да разгради поне 18 вида монохлор-, бром- и йодалкани, но не е в състояние да разгради 1-флуороалкан. Разграждането на 2-монохлорпропионова киселина и 2-монохлороецетна киселина се осъществява от 4 щамове *Pseudomonas* и два щамове *Alcaligenes* [12,13].

Таблица 1. Халогенирани алифатни съединения и разграждащите ги микроорганизми

Съединение	Микроорганизми
2-монохлорпропионова киселина	<i>Pseudomonas sp.</i>
2-монохлороцетна киселина	<i>Alcaligenes sp.</i>
1,2-дихлоретан	<i>Xanthobacter autotrophicus GJ10</i> <i>Ancylobacter aquaticus</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> Метан - разграждаща бактерия <i>P. fluorescens</i>
1,1,1-трихлоретилен	<i>Methanotrophs</i>
Перхлоретан	<i>Methanosarcina sp.</i>
1,2-дихлорпропан	<i>P. fluorescens</i>
Трихлоретилен	Метан – разграждаща бактерия <i>P. putida</i> Метан-окисляваща бактерия <i>P. fluorescens</i>
Хлорлигнин	<i>Sporotrichum pulverulentum</i>
Монохлоро-, бром-, йодоалкани	<i>Arthrobacter sp.</i>

Халогенираните полициклични съединения най-често са отпадъчни продукти от изгарянето на природните горива. Особен интерес предизвикват ДДТ (1,1,1-трихлоро-2,2,-бис(р-хлорфенил) етан), 4-хлоробифенил и ПХБ (полихалогениран бифенил), поради тяхното широко разпространение в природата. Въпреки, че ДДТ е основен замърсител, за неговата биодegradация има недостатъчна информация. Vumpus и Aust [5] изолират лигнин разграждащата гъба *Phanerochaete chrysosporium*, която е в състояние да разгради замърсителя в азотна среда. Furukawa и Chakrabarty [9] изолират *Acinetobacter sp.*, които разграждат 4-хлоробифенил. Това халогенирано съединение успешно се разгражда и от *Achromobacter sp.* и от клетки на щама *Bacillus brevis*. ПХБ (полихалогениран бифенил) притежава теоритично 209 изомера, но само около 100 имат търговско приложение. Тези съединения са водоустойчиви, инертни и разтворители на мазнини. Те са най-добрите флуиди, използвани в електронната промишленост и са основен конструктивен елемент за изолационните материали, лубрикантните масла, лекарства и антимикробни реактиви. Поради тяхната токсичност спрямо хората и животните, употребата им е законово регламентирана. От околната среда са изолирани както аеробни, така и факултативно анаеробни бактерии, способни да разграждат ПХБ. Щамът *Pseudomonas cruciviae* е изолиран от Takase et al. [39] и клетките му разграждат повече от 10 бифенилни съединения, включително и полихалогениран бифенил. За разграждането на други халогенирани полициклични съединения голямо приложение има *Pseudomonas sp.*, като подробна информация дадена в таблица 2.

Таблица 2. Халогенирани полициклически съединения и разграждащите ги микроорганизми

Съединение	Микроорганизми
ДДТ (1,1,1-трихлоро-2,2,-бис(р-хлорфенил) етан) Атразин 4-хлоробифенил	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Achromobacter sp.</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>Alcaligenes sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>A. eutrophus H 850</i> <i>P. cruciviae</i>
1,4-дихлоробифенил 3-хлоро-4-хидроксибифенил 1- и 2-хлоронафтаген ПХБ (полихалогениран бифенил)	<i>K. pneumoniae</i> <i>P. cruciviae</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Pseudomonas cruciviae</i>

Халогенираните ароматни съединения се срещат в природата в значителни количества и са едни от най-значимите замърсители. Те са токсични, устойчиви на биодegradация и се натрупват в утайките, флората и фауната. Направени са много проучвания за възможността на водни и почвени микроорганизми да разграждат хлорбензени, хлортолуени, хлорбензоати, хлорфеноли, хлорацетамид, хлорфенил ацетат, хлорфенокси ацетат и др. (Таблица 3). Халогенираните феноли се използват като препарати за дървесна и растителна защита, както и за защита на гъбите. С увеличаването на броя хлорни атоми, нараства тяхната токсичност, поради това, че малко микроорганизми могат да ги дехалогенират. *Arthrobacter sp.*, *Pseudomonas cepacia* и *Flavobacterium sp.* са в състояние да разградят само част от халогенираните феноли. Широката употреба на хлорбензените като разтворители, дезинфекционни средства и междинни суровини в производството на пестициди, са причина за широкото им разпространение в природата. Има оскъдна информация за възможностите на *Alcaligenes sp.* и *Pseudomonas sp.* да разграждат хлорбензен, 1,2-дихлорбензен, 1,3-дихлорбензен и 1,4-дихлорбензен. *Acinetobacter calcoaceticus* и *P. Putida* дехалогенират хлорбензоатите [32]. 2,4,5-трихлорфеноксиоцетна киселина се разгражда от *Pseudomonas cepacia AC1100* [17]. Chaudhry и Huang [44] изолират плазмид от *Flavobacterium sp.* за биоразграждането на 2,4-дихлорофенокси ацетат. Pierce et al.[29] съобщават, че *Pseudomonas cepacia* и някои други щамове на *Pseudomonas* могат да използват моно и дихалогенираните толуени за източници на въглерод и енергия.

Таблица 3. Халогенирани ароматни съединения и разграждащите ги микроорганизми

Съединение	Микроорганизми
1,2-дихлорбензен	<i>Pseudomonas sp.</i>
1,3-дихлорбензен	<i>Alcaligenes sp.</i>
1,4-дихлорбензен	<i>Alcaligenes sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>P. putida</i>
2,6-дихлоротолуен	<i>P. cepacia HCV</i>
2-хлоробензоат	<i>P. cepacia</i>
3-хлоробензоат	<i>A. eutrophus</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Pseudomonas sp. strain B13</i> <i>P. putida</i>
4-хлоробензоат	<i>Flavobacterium sp.</i> <i>Arthrobacter sp.</i> <i>Pseudomonas sp. strain CBS3</i> <i>A. denitrificans NTB-1</i> <i>Corynebacterium sepedonicum</i>
3,5-дихлоробензоат	<i>Pseudomonas sp.</i>
2,4-дихлоробензоат	<i>Corynebacterium sepedonicum</i> <i>A. denitrificans NTB-1</i>
4-хлоро-2-нитрофенол	<i>Pseudomonas sp.</i>
2,4,5-трихлорфеноксиоцетна киселина	<i>P. cepacia AC1100</i>
4-хлорофенол	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Alcaligenes sp.</i>
2-,3-,4-хлорофенол и 2,4-дихлорофенол	<i>Alcaligenes sp.</i>
Пентахлорофенол	<i>Arthrobacter sp.</i> <i>P. cepacia AC1100</i> <i>Flavobacterium sp.</i> <i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>
3-,4-,5-хлоросалицилат	<i>Pseudomonas sp.</i>
3,4-дихлороанилин	<i>P. putida</i>
2-,3-,4-хлороанилин	<i>Pseudomonas sp.</i>
4-хлорофенилацетат	<i>Pseudomonas sp. strain CBS3</i>
α -хексахлороциклохексан	<i>Pseudomonas sp. strain CBS3</i>
2,4-дихлорофенокси ацетат	<i>A. eutrophus</i> <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alcaligenes sp.</i> <i>Arthrobacter sp.</i> <i>Flavobacterium sp.</i>
2-метил-4-хлорофенокси ацетат	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>A. eutrophus</i> <i>Flavobacterium sp.</i>
2,4,5-трихлорфеноксиоцетна киселина	<i>P. cepacia</i> <i>Pseudomonas sp.</i>
Хлоротолуен	<i>P. cepacia</i>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Халогенираните въглеродородни съединения широко се използват в селското стопанство като хербициди и инсектициди, и в промишлеността като разтворители и смазочни масла. Установения токсичен ефект на тези химикали върху хората и природата предизвиква сериозен интерес сред научните среди и е обект на задълбочени изследвания. Слабата разтворимост на някои от замърсителите затруднява разграждането им. Има установени микроорганизми, които са способни да дехалогенират някои от въглеродородните съединения. Голямо приложение имат различните видове *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Achromobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Alcaligenes sp.* и др. За да се намерят най-добрите пътища за биоразграждане се налага микроорганизмите непрекъснато да се променят генетично. През последните години с помощта на биохимични изменения и ДНК трансформации е възможно да се охарактеризират и изолират подходящи гени, които да се използват за транспортиране в клетки и за създаване на нови щамове, устойчиви към местната микрофлора и с повишена дехалогенираща активност към определени токсични компоненти.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alexander, M., "Biodegradation of chemicals of environmental concern", *Science*, 211, 1981, 132-138
2. Alexander, M., "Biodegradation of organic chemicals", *Environ. Sci. Technol.* 19, 1985, 106-111
3. Ashton, F.M. and A.S. Crafts, "Mode of Action of Herbicides", *Wiley and Sons*, New York, 1973
4. Bouwer, E. J., and P. L. McCarty., "Transformations of 1-and 2-carbon halogenated aliphatic organic compounds under methanogenic conditions", *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 1983, 1286-1294
5. Bumpus JA, Aust SD., "Biodegradation of DDT [1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane] by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*". *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(9), 1987, 2001-2008
6. Chaudhry G. R., Chapalamadugu S., "Biodegradation of halogenated organic compounds", *Microbiological reviews*, March 1991, 1991, 59-79
7. Chaudhry GR, Huang GH., "Isolation and characterization of a new plasmid from a *Flavobacterium sp.* which carries the genes for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetate", *J. Bacteriol.*, 170(9), 1988, 3897-3902
8. Fetzner, S. and F. Lingens, "Bacterial dehalogenases", *Microbiol. Rev.*, 58, 1994, 641-685
9. Furukawa K, Chakrabarty AM., "Involvement of plasmids in total degradation of chlorinated biphenyls", *Appl. Environ. Microbiol.* , 44(3), 1982, 619-626
10. Ghosal, D., I. S. You, D. K. Chatterjee, and A. M. Chakrabarty., "Plasmids in the degradation of chlorinated aromatic compounds, *Plenum Press*, New York, 1985, 667-686
11. Hammond, M.E.R. and A. Cooper, "Spartina anglica eradication and inter-tidal recovery in Northern Ireland estuaries. Turning the tide: Eradication of invasive species", *Proceedings of the International Conference on Eradication of Island Invasives, (EII'2)*, IUCN Publisher, 2002, 124-132
12. Hardman, D. J., and J. H. Slater, "Dehalogenases in soil bacteria", *J. Gen. Microbiol.* 123, 1982, 117-128
13. Hardman, D. J., P. C. Gowland, and J. H. Slater, "Plasmids from soil bacteria enriched on halogenated alkanolic acids", *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1986, 44-51
14. Harker, A. R., R. H. Olson, and R. J. Seidler. "Phenoxyacetic acid degradation by the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (TFD) pathway of plasmids pJP4: mapping and characterization of the TFD regulatory gene tfdR", *J. Bacteriol.* 171, 1989, 314- 320

15. Janssen, D. B., A. Scheper, L. Dikhuizen, and B. Witholt., “Degradation of halogenated aliphatic compounds by *Xanthobacter autotrophicus GJ10*”, *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1985, 673-677
16. Karns, J. S., J. J. Kilbane, D. K. Chatterjee, and A. M. Chakrabarty., “Microbial biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and chlorophenols,. In G. S. Omenn and A. Hollaender (ed.), Genetic control of environmental pollutants”, *Plenum Press*, New York., 1984, 3-22
17. Kilbane JJ, Chatterjee DK, Karns JS, Kellogg ST, Chakrabarty AM., “Biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by a pure culture of *Pseudomonas cepacia*.”, *Appl Environ Microbiol*, 44(1), 1982, 72–78
18. Kleopfer, R. D., D. M. Easley, B. B. Haas, Jr., T. G. Deihl, D. E. Jackson, and C. J. Wurrey., “Anaerobic degradation of trichloroethylene in soil”. *Environ. Sci. Technol.* 19, 1985, 277-280
19. Knackmuss, H.-J., “Degradation of halogenated and sulfonated hydrocarbons,. In T. Leisinger, A. M. Cook, R. Hutter, and J. Nuesch (ed.), “Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds”. *Academic Press, Inc.(London), Ltd.*, London., 1981, 189-212
20. Kobayashi, H., and B. E. Rittmann., “Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ. Sci. Technol*, 16, 1982, 170A-183A
21. Lal, R., and D. M. Saxena., “Accumulation, metabolism, and effects of organochlorine insecticides on microorganisms”, *Microbiol. Rev.*, 46, 1982, 95-127
22. Marks, T. S., A. R. W. Smith, and A. V. Quirk., “Degradation of 4-chlorobenzoic acid by *Arthrobacter* sp.” *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 1984, 1020-1025
23. National Research Council Committee on the Assessment of Polychlorinated Biphenyls in the Environment., Polychlorinated biphenyls in the environment. National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1979
24. Nelson, M. J. K., S. O. Montgomery, W. R. Mahaffey, and P. H. Pritchard. “Biodegradation of trichloroethylene and involvement of an aromatic biodegradative pathway”, *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1987, 949-954
25. Olaniran, A.O., D. Pillay and B. Pillay, “Haloalkane and haloacid dehalogenases from aerobic bacterial isolates indigenous to contaminated sites in Africa demonstrate diverse substrate specificities”, *Chemosphere*, 55, 2004, 27-33
26. Olaniran, A.O., G.O. Babalola and A.I. Okoh, “Aerobic dehalogenation potentials of four bacterial species isolated from soil and sewage sludge”, *Chemosphere*, 45, 2001, 45-50
27. O'Reilly, K. T., and R. L. Crawford., “Degradation of pentachlorophenol by polyurethane-immobilized *Flavobacterium cells*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1989, 2113-2118
28. Pemberton, J. M., “Degradative plasmids”, *Int. Rev. Cytol.* 84, 1983, 155-183
29. Pierce, G. E., J. B. Robinson, and J. R. Colaruotolo, “Substrate diversity of *Pseudomonas spp.* containing chlorotoluene degradative plasmids”, *Dev. Ind. Microbiol.*, 24, 1983, 499-507
30. Pignateilo, J. J., “Microbial degradation of 1,2-dibromoethane in shallow aquifer materials”, *J. Environ. Qual.* 16, 1987, 307-312
31. Pourmoghaddas H., A.A. Stevens, R.N. Kinman, R.C. Dressman, L.A. Moore, J.C. Ireland., “Effect of bromide ion on formation of HAAs during chlorination”, *JAWWA*, 85, 1993, 82-87
32. Reineke W, Knackmuss HJ., “Hybrid pathway for chlorobenzoate metabolism in *Pseudomonas sp. B13* derivatives”, *J. Bacteriol.*, 142(2), 1980, 467–473
33. Reineke, W., “Microbial degradation of halogenated aromatic compounds”, In D. T. Gibson (ed.), Microbial degradation of organic compounds. *Marcel Dekker, Inc.*, New York, 1984, 319-360
34. Riemenschneider W. “Carboxylic acids, Aliphatic”, *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry (Ed. W. Gerhartz)*, Weinheim, VCH, vol. A5, 1986, 235-248
35. Sayler, G. S., H.-L. Kong, and M. S. Shields., “Plasmidmediated biodegradative fate of monohalogenated biphenyls in facultatively anaerobic sediments”, In G. S. Omenn and A.

Hollaender (ed.), Genetic control of environmental pollutants. *Plenum Press*, New York, 1984, 117-136

36. Scholtz, R., A. Schmuckle, A. M. Cook, and T. Leisinger., “Degradation of eighteen 1-monohaloalkanes by *Arthrobacter sp. strain Hal*”, *J. Gen. Microbiol.* 133, 1987, 267-274

37. Schwarze, R., A. Brokamp and F.R.J. Schmidt, “Isolation and characterisation of dehalogenases from 2,2dichloropropionic acid degrading soil bacterium”, *Curr. Microbiol.*, 34, 1997, 103-109

38. Stucki, G., W. Brunner, D. Staub, and T. Leisinger. “Microbial degradation of C1 and C2 hydrocarbons”, In T. Leisinger, A. M. Cook, R. Hutter, and J. Nuesch (ed.), Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds. *Academic Press, Inc. (London), Ltd.*, London, 1981, 131-137

39. Takase, I., T. Omori, and Y. Minoda., “Microbial degradation products from biphenyl-related compounds”, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1986, 681-686

40. Tiedje, J. M., S. A. Boyd, and B. Z. Fathepure., “Anaerobic degradation of chlorinated aromatic hydrocarbons”, *Dev. Ind. Microbiol.* 27, 1987, 117-127

41. Timmis, K. N., P. R. Lehrbach, S. Harayama, R. H. Don, N. Mermod, S. Bas, R. Leppik, A. J. Weightman, W. Reineke, and H.-J. Knackmuss., “Analysis and manipulation of plasmidencoded pathways for the catabolism of aromatic compounds by soil bacteria”,. In D. R. Helinski, S. N. Cohen, D. B. Clewell, D. A. Jackson, and A. Hollaender (ed.), Plasmids in bacteria. *Plenum Press*, New York. 1985, 719-739

42. Wilson R.I., S.A. Mabury, “Hydrolysis Kinetics of Fenthion and Its Metabolites in Buffered Aqueous Media”, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2000, 944-950

43. Wilson, J. T., and B. H. Wilson., “Biotransformation of trichloroethylene in soil”, *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1985, 242-243

44. Wood, J. M., “Chlorinated hydrocarbons: oxidation in the biosphere”, *Environ. Sci. Technol.* 16, 1982, 291A-298A

45. Yokota, T., H. Fuse, T. Omori, and Y. Minoda., “Microbial dehalogenation of haloalkanes mediated by oxygenase or halidohydrolase”, *Agric. Biol. Chem.* 50, 1986, 453-460