



重金属对微生物的毒性效应*

张 甲 耀

(武汉大学生物系)

微生物参与许多生态系统的物质循环和能量转换过程,对维持生态平衡、消除环境污染有极其重要的作用。有关专家认为,当前要加强生态毒理学的研究^[1]。本文简要综述重金属(主要是汞、镉、铜、铅、锌)对微生物的毒性作用。

一、对微生物群体的影响

(一) 抑制生长、群体数量减少,组成和数量发生变化

在受到重金属污染的叶面上,微生物的数量和多样性均比未受污染的叶面少^[2]。Bowrey研究重金属对栎树叶面微生物的影响,发现在成熟的叶子中,受污染叶子的细菌数量较未受污染的少,而耐受性真菌在污染的叶子上比未受污染的叶子上多。有色酵母在受污染和喷洒重金属的叶子比对照的要多。另外受污染的叶子上有大量的出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)和枝孢(*Cladosporium* sp.)^[3]。从受到许多金属化合物污染的植物叶面上分离出来的真菌,体外试验表明它们不同程度地受到加入液体或固体培养基中某些重金属的影响。造成最大和最广泛生长抑制的金属包括 Ni、Zn、Pb、Al、Fe 和 Mn^[4]。

土壤中的重金属尘埃使土壤中的微生物区系数量减小,酶活性降低^[5]。加入镉会减少微生物的群体,降低呼吸速率^[6]。金属冶

炼厂附近受重金属污染的水中,细菌数量减少,自净能力降低^[7]。Lester 等研究了重金属对从活性污泥中分离出来的产碱杆菌(*Alcaligenes*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、短杆菌(*Brevibacterium*)和未鉴定的革兰氏阴性杆菌所组成的混合群体连续培养的影响,群体的稀释速率为 $0.166h^{-1}$ 。发现铜和铝的作用相同,加入后 2 小时,总群体从 $4.5 \times 10^8 m^{-1}$ 减少到 $3.5 \times 10^5 m^{-1}$ ^[8]。

(二) 对群体中不同种属有不同的影响

在受重金属污染的群体中,一些细菌菌株在高浓度的 Cd 下能生长,而有些受到抑制^[9]。混合培养中产碱杆菌(*Alcaligenes*)对重金属毒性最敏感,而短杆菌(*Brevibacterium*)抗性最强^[8]。Bagdasarian 等用模型实验检查铜、锌、铅和烷基硫酸钠(SAS)对混合微生物群体的影响。混合群体包括嗜水气杆菌(*Aerobacter hydrophila*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、*Pseudomonas fragi*、大肠杆菌、弗氏柠檬酸细菌(*Citrobacter freundii*)、阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)、屎链球菌(*Streptococcus faecium*)、坚韧链球菌(*Streptococcus durans*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)和脊髓灰质炎病毒 I 型。发现微生物

* 本文在王德铭先生指导下写成的,并蒙他审阅修改,谨此致谢。

的存活和繁殖动力学取决于化合物的不同类型、浓度和作用的持续时间,也取决于各类微生物的性质和群落。腐生菌的抗性最强,而其他微生物抗性相应减少的顺序是脊髓灰质炎病毒、大肠杆菌和沙门氏菌^[40]。

各种叶面真菌对重金属的反应也不同,一般出芽短梗霉 (*Aureobasidium pullulans*)、附球菌 (*Epicoccum* sp.) 和疣状瓶霉 (*Phialophore verrucosa*) 对重金属的混合物耐受性较强,悬铃木日规壳 (*Gnomonia platani*)、枝孢 (*Cladosporium* sp.) 和 *Pleurophomella* sp. 是中等程度,而 *Pestalotiopsis* 和毛壳 (*Chaetomium* sp.) 相应较敏感^[4]。

(三) 破坏微生物群体的稳定性

Singleton 和 Guthrie^[11] 研究了铜和汞对咸水和淡水细菌群体的影响。发现未加入重金属的对照系统维持稳定。把 Cu 加入咸水, 24 小时约增加一个对数周期, 而加入 Hg 时 24 小时内也增加一个对数周期。当同样量的 Cu 和 Hg 加到咸水中, 开始 24 小时菌落数减少, 2—4 天后稍高于原来的数量, 而后来增加到高于对照 1.5 个对数周期。单独将金属加进淡水情况多少有点不同, 把 Cu 和 Hg 一起加入时, 会出现和咸水一样的效应。把 Cu 加进咸水中, 菌落类型有少量的减少, 从 15 种减少到 11 种, 而加入 Hg 或 Cu + Hg 时, 10 天减少菌落类型 50%。Hg 加到淡水中菌落类型从 14 减少到 9。在各种试验系统中群体有色细菌种的比例在试验结束时均比对照低 5—15%。经 14 天试验后, 黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.) 和短杆菌 (*Brevibacterium*) 消失。八叠球菌 (*Sarcina* sp.)、肠杆菌 (*Enterobacter* sp.)、无色杆菌 (*Achromobacter* sp.) 和埃希氏菌 (*Escherichia* sp.) 减少或严重减少。

二、对微生物的毒性

(一) 低浓度的重金属可刺激微生物生长, 高浓度的重金属可抑制微生物的生长繁殖, 损害其呼吸作用, 使细胞形态异常, 甚至

被裂解。

受重金属影响的方面包括: 生长动力学、抗生生活性、孢子萌发、孢子形成、光合作用、转录、翻译、转化、适应、病毒-植物之间的关系、真菌-植物之间的关系、细菌-植物之间的关系、细菌和真菌之间的关系、土壤微生物活性^[6]。

Cd 0.6ppm 浓度使大肠杆菌有少量生长, 而 11.2ppm 完全抑制了肉汤中大肠杆菌的生长^[9]。0.5mM 的 Zn 可以抑制大肠杆菌的生长, 10mM 浓度的 Zn²⁺ 可以减少大肠杆菌的存活^[12]。冶炼厂的重金属尘埃可以抑制植物病原菌的酶活性, 降低其毒力^[13]。重金属可以延长微生物的增代时间, 当 Cd²⁺ 为 0.14 和 0.53mM 时, 增代时间为 240 分和 640 分, Zn 为 0.57 和 1.07mM 时, 增代时间为 180 分和 270 分, 而对照为 83 分。Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 的阈限量均为 0.015mM^[14]。Cd 还能抑制病毒的复制和感染^[6]。

Cd 5μg/ml 对真菌可发生大量的抑制, 到 50μg/ml 时生长停止。Zn 50—300μg/ml 对真菌可产生大量的抑制, 300μg/ml 以上时生长停止^[15]。Pb 10—500μg/ml 使菌丝生长受到抑制, 而在 500μg/ml 以上时, 菌丝生长停止^[15-16]。Hg 是一种毒性最强的金属, 对藻的致死范围在 10—50ppb 之间。0.5ppb 的 Hg 也可以抑制某些种的生长。2ppb 使崎呕鱼腥藻 (*Anabaena inaequalis*) 大大受到抑制^[17]。

Cd 影响真菌孢子形成和萌发。1.12mg CdCl₂ · H₂O/100 ml 的浓度完全抑制游动孢子的活性和某些孢子的形成。对菌丝生长的非抑制浓度可以抑制孢子的产生^[6]。

Cd 0.1—0.5ppm 使酵母生长受到抑制, 500ppm 生长完全受到抑制^[6]。

Duxbury 提出区分耐受和非耐受细菌的金属浓度是 Cd: 0.26mM; Cu: 1.33mM; Hg: 0.02mM; Ni: 1.70mM; Zn: 1.68mM^[18]。

(二) 不同类属的微生物对重金属的敏

感性因其不同的生理特性而不同,同种微生物的不同发育阶段对重金属敏感性也不同。

对从海洋沉积物中分离出来的细菌的研究表明,革兰氏阴性菌对重金属的抗性比阳性菌强。不同类属的细菌抗性也不同,顺序是付溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)/*V. alginolyticus* > 发光细菌 > 芽孢杆菌^[19]。大肠杆菌对重金属最敏感,敏感性减少的顺序是固氮菌、假单胞菌和沙雷氏菌^[6]。瘤胃微生物中,对重金属最敏感的是产琥珀酸拟杆菌 (*Bacteroides succinogenes*)、白色瘤胃球菌 (*Ruminococcus albus*)、嗜淀粉拟杆菌 (*Bacteroides amylophilus*) 和啮齿真杆菌 (*Eubacterium ruminantium*)。中等敏感程度的是溶纤维丁酸弧菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*)、反刍月型单胞菌 (*Selenomonas ruminantium*) 和埃氏巨球形菌 (*megasphaera elsdenii*)、而牛链球菌 (*Streptococcus bovis*) 对所有重金属不起反应^[20]。细菌对 Hg^{2+} 或 $HgCl_3^-/HgCl_4^{2-}$ 混合物的敏感性顺序是草生欧文氏菌 (*E. herbicola*) > 根癌土壤杆菌 (*A. tumefaciens*) > 气单胞菌 (*Aeromonas* sp.) > 不动杆菌 (*Acinetobacter* sp.)。金黄色葡萄球菌的 $\phi 11M15$ 噬菌体对 Hg^{2+} 或 $HgCl_3^-/HgCl_4^{2-}$ 混合物比大肠杆菌的 P_1 噬菌体更敏感^[21]。假单胞菌对 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 的敏感性比枯草杆菌要低^[14]。一般放线菌对 Cd 的耐受性高于细菌,革兰氏阴性菌对 Cd 的抗性高于阳性菌。同一属的细菌对 Cd 的敏感性也不同。例如巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*) 在 50ppm Cd 不能生长,而蜡状芽孢杆菌 (*B. Cereus*) 在 100ppm 下仍能生长。同样石蜡诺卡氏菌 (*N. pareffinae*) 对 Cd 的耐受性高于珊瑚诺卡氏菌 (*N. Corallina*)^[6]。

各种真菌对 Pb 的敏感性也不同。其敏感性顺序是立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) > 巨大曲霉 (*Aspergillus giganteus*) > 马特腐皮镰孢霉 (*Fusarium Solani*) > 绿色木霉 (*Trichoderma viride*)、刺孢小克银汉霉 (*Cu-*

nninghamella echinulata)、灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*) > 布雷青霉 (*Penicillium brefeldianum*) > 黑曲霉 (*Aspergillus niger*)^[16]。对 Zn 的敏感性顺序是立枯丝核菌 > 马特腐皮镰孢霉 > 刺孢小克银汉霉 > 黑曲霉、绿色木霉^[12]。真菌的不同发育阶段,即营养菌丝、生殖组织和孢子表现出对 Cd 的不同敏感性^[6]。

一般细菌对重金属比真菌敏感^[3]。

(三) 重金属毒性的强弱顺序

可以用指数函数 $y = ae^{-bx}$ 来说明重金属对微生物的毒性。这里 x 为培养基中重金属的浓度 (mM), y 为重金属浓度为 x (mM) 时的培养基中生长的细菌数, a 是不含重金属时培养基中生长的细菌数, e 为自然对数的底数, b 是一个测定毒性的指数, b 值越大,毒性越大。用重金属含量在常规范围的土壤分离出来的土壤细菌所测得的 b 值,发现其毒性次序是 $Hg > Cd > Cu > Ni = Zn$ ^[19]。对大肠杆菌的毒性顺序是 $Hg > Cd > Al > Pb > Co > Fe > Cu > Zn$ ^[6]。用真菌试验的结果是 $Cu > Cd > Pb > Zn$ ^[6]。细菌细胞的重金属含量范围: Cu : 8—84 ppm, 平均 23 ppm; Zn : 44—308 ppm, 平均 135 ppm; Cd : 0.4—10.4 ppm, 平均 3.15 ppm; Pb : 1—96 ppm, 平均 19 ppm。顺序是 $Cd < Pb < Cu < Zn$ 。如果积累越少,毒性越大,则毒性顺序是 $Cd > Pb > Cu > Zn$ ^[22]。真菌 *Agaricus* sp. 的重金属含量分别是: Hg : 0.7—80 mg/kg, 大部分少于 10 mg/kg; Pb 在 7—21 之间; 镉在 1.2 和 75 之间。相应的毒性为 $Hg > Cd > Pb$ ^[23]。

一般认为毒性最强的是汞,其后是镉、铅、铜、锌^[15,18,23]。

(四) 不同的组成形式或各种重金属的复合物有不同的毒性

许多重金属元素对微生物的毒性相应较低,与有机基团结合后毒性有明显的增强。这或与金属结合的有机基团的类型和数量有关。如甲基汞、甲基镉、甲基铅的毒性就较

强^[24]。金属离子镉、锌、镍、汞和它们的四氰盐化合物对非适应的活性污泥的毒性研究中发现,镉和锌的化合物的毒性高于相应的金属^[25]。重金属尘埃中,Cu-Pb-Zn 毒性最强,Pb-Zn, Pb-Cu 毒性较小,而毒性最弱的是 Pb-Cu^[25]。

三、对微生物致毒的机理

重金属对活的微生物作用分两个阶段进行,第一是伴随着离子结合和 ζ 电势增加的生化吸附,第二是离子被吸附在随着电荷减少而发生阴性改变的细胞表面^[26]。重金属对微生物的最重要毒性作用是使带有机能基团巯氢基的酶的失活。许多重金属表现出对其他生物配位体如磷酸、嘌呤、嘧啶和核酸的强烈亲和力,有的还可以作为抗代谢物,或成为与细胞膜结合的物质^[24]。Hg 对微生物的毒性主要是能损害三羧酸循环和呼吸链^[27],进行氧化磷酸化^[27]。

细胞膜是绿藻汞中毒的主要位置。光合作用是毒性最敏感的指示系统。进入细胞内的 Hg 与许多酶系相互作用,能抑制 C 化合物的转移和色素的合成,还抑制光合作用的电子传递和许多酶的活性^[27]。对乙炔还原的毒性原理可能是:(1)直接作用于固 N 酶的复合物;(2)影响提供 ATP 和还原剂(光合作用是 ATP 和还原剂的主要来源,这个过程的抑制减少了 ATP 和还原剂);(3)细胞裂解增加了溶解氧使酶失活^[27]。

四、环境因素对重金属毒性的影响

重金属对微生物的毒性受到环境中许多物理的、化学的以及生物的因素影响,包括 pH、粘土物质、可溶性有机物、无机阴离子、水的硬度、金属离子、络合物、其他污染物、细胞浓度及微生物的自身物质等。

在酸性条件下(pH 5—6),铅的毒性增强^[46]。汞对番茄萎萎座镰孢霉(*Fusarium lycopersici*)孢子和菌丝的毒性因 pH 增加而

增加,推测是由于减少了质子(H⁺)和 Hg²⁺对细胞表面位置的竞争^[21]。Cd 对真菌(黑曲霉、绿色木霉)和细菌的毒性在碱性条件下增强^[6]。粘土包括高岭土和胶岭石可以降低重金属对微生物的毒性作用。这是由于重金属和粘土中的阳离子(如 H⁺, K⁺, Na⁺, Mg²⁺和 Ca²⁺)的置换作用,粘土可以从溶液中去除了有毒离子,因此减少了微生物对重金属的吸附和摄取^[6,16]。可溶性有机物,如胰液、肠液、酵母浸出液、半胱氨酸、琥珀酸、谷胱甘肽可以降低重金属的毒性^[46,21]。磷酸盐和碳酸盐能降低铅的毒性,可能是由于形成难溶的铅盐的结果^[46]。Zn²⁺和 Cl⁻形成的不同化合物 ZnCl⁺、ZnCl₂、ZnCl₃⁻和 ZnCl₄²⁻对微生物产生不同的毒性^[22]。Hg²⁺在高浓度氯的环境中形成 HgCl₃⁻/HgCl₄²⁻的复合物,可以降低 Hg²⁺的毒性^[21]。Hg 对混合的瘤胃微生物群体的毒性由于加入 Na₂S 而降低,推测可能是形成 HgS 的结果^[21]。Hg 对 *Tetrahymena pyriformis* 的毒性在硬水中(即 400 mg/l CaCO₃)是软水的 2 倍^[21]。Cd 对黑曲霉的毒性因增加 Mg 或 Zn 离子浓度而降低。在 Cd 和 Zn 以及 Cd 和 Mg 之间有双重的拮抗作用^[6]。有的研究证明,Cd²⁺和 Zn²⁺对假单胞菌和芽孢杆菌的毒性有一种协同作用^[44]。络合物(天冬氨酸盐、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸)的加入可以消除 Cd²⁺和 Zn²⁺的致死作用^[44]。重金属和其他污染物如二氧化硫、氧化氮产生相互协同作用,提高相应重金属的毒性^[3]。限制生长营养物也影响重金属对微生物的毒性^[44]。

藻类的胞外层和 Hg²⁺相互作用,降低汞对这类生物的毒性^[27]。在 10ppm 或更少的镉时,产气克雷伯氏菌(*Klebsiella aerogenes*)形成荚膜的菌株比不形成荚膜的突变株存活能力要强。加入胞外多糖使暴露在铜和镉之下的不形成荚膜的菌株增加存活,荚膜多糖和这二种金属形成一种复合物^[28]。

(下转第64页)

种保存方法是可行的。例如, B厂30%丙酮-甲醇浓集物开始测定时,样品的比活性为180回变数/毫克浓集物,保存5个月左右仍为180回变数/毫克说明样品的致突变活性几个月之内可保持相对稳定。

根据本研究可以得出以下结论:

1. 本研究所采用的吸附、洗脱和浓缩方法是进行饮水中有机浓集物致突变性研究可行的适用的方法。

2. 某市自来水厂出厂水中有机浓集物对TA98菌株有致突变作用,含有移码型突变物。

3. 某市自来水厂出厂水中有机浓集物的

30%丙酮-甲醇、丙酮和二氯甲烷三种洗脱组份都有致突变性,致突变活力以丙酮组份为主,30%丙酮-甲醇组份次之,二者活性比为3:1,二氯甲烷组份可以忽略不计。

参 考 文 献

[1] Grimm-Kibalo, S. M. *et al.*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **26**, 188 (1981).
 [2] Wilkins, J. R., *Am. J. Epidemiology*, **110**(4),
 [3] 周世伟等,环境化学, **1**(2), 39 (1983).
 420 (1979).
 [4] Ames, B. N. *et al.*, *Mut. Res.*, **31**, 347 (1975).
 [5] McMahon, R. E. *et al.*, *Cancer, Res.*, **39**, 682 (1979).
 [6] Loper, J. C. *et al.*, *J. Toxicol. Environ. Health*, **4**, 919 (1978).

(上接第74页)

参 考 文 献

[1] 王德铭,环境保护, **3**, 26—27 (1980).
 [2] Bewley, R. J. F., *J. G. Microbiology*, **110**(2), 247—254 (1979).
 [3] Bewley, R. J. F., *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**(6), 1053—1059 (1980).
 [4] Smith, W. H. *et al.*, *Microbiol. Ecology*, **3**(3), 231—239 (1977).
 [5] Greszta, J. *et al.*, *Ekol. Pol.* **27**, 397 (1979).
 [6] Babich, H. *et al.*, *Adv. Appl. Microbiol.*, **23**, 55—117 (1978).
 [7] Goulder, R. *et al.*, *Mar. Pollut. Bull.*, **10**(6), 170—173 (1979).
 [8] Lester, J. N. *et al.*, *Water Res.*, **13**, 1055 (1979).
 [9] Houba, C. *et al.*, *Microbiol. Ecol.*, **6**, 55 (1980).
 [10] Bagdasarian, G. A. *et al.*, *Gig. Sanit.*, **7**, 59—62 (1980).
 [11] Singleton, F. L. *et al.*, *Water Res.*, **11**(8), 639—642 (1977).
 [12] Babich, H. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**(6), 906—914 (1978).
 [13] Balicka, N. *et al.*, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsky. Hyg.*, **II**, 132, 607—612 (1977).
 [14] Dean, A. C. R. *et al.*, *Microbios*, **24**(95), 51—64 (1979).

[15] Rosenzweig, W. D. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**(4), 649—696 (1980).
 [16] Babich, H. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(3), 506—513 (1979).
 [17] Stratton, G. W. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(3), 537—543 (1979).
 [18] Duxbury, T. *et al.*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **11**(2—3), 217—220 (1981).
 [19] Thormann, D. *et al.*, *Veroff Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, **17**(2), 163—188 (1979).
 [20] Forsberg, C. W. *et al.*, *Can. J. Microbiol.*, **24**(3), 298—306 (1978).
 [21] Babich, H. *et al.*, *Can. J. Microbiol.*, **25**(11), 1252 (1979).
 [22] Jones, G. E. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(5), 800—805 (1979).
 [23] Bhat, P. K. *et al.*, *Curr. Sci.*, **48**(12), 571—573 (1979).
 [24] Iverson, W. P. *et al.*, *Microbial Metabolism of Heavy Metals*, in *Water Pollution Microbiology*, Vol. II, R. Mitchell, Ed. (pp. 201—232, 1978).
 [25] Morozzi, G. *et al.*, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsky. Hyg.*, **I**, Abt. B. 167(5—6), 478—488 (1978).
 [26] Kul'sky, L. A., *Kolloidn. Zh.*, **42**(4), 755—758 (1980).
 [27] Brunker, R. L., *Microbios*, **26**(105/6), 147—152 (1979).
 [28] Bitton, G. *et al.*, *Microbiol. Ecol.*, **4**(2), 119—125 (1978).