



铅 污 染 与 微 生 物

陈 皓 文

(中国科学院海洋研究所)

一、铅的污染概况

铅是亲硫元素,多产于硫化矿氧化带。它是地球中藏量较多的元素之一。铅又是亲气元素,有大气污染和参与全球循环的特点,因而它也是环境中丰富的有毒污染物之一^[1]。长期来,铅矿的开采、铅的应用和扩散,使许多区域受到铅污染。主要来自海洋之外的海洋铅污染使河口、沿岸区和海岸带等污染较重。

河口等海岸带积聚的大量有机质和颗粒物,是铅等污染物、也是细菌等微生物的良好基物。海洋细菌可从基本海水培养基或海洋本身浓缩少量离子^[1,2]。这在浅海区域更为突出,因而海洋微生物干扰、影响铅等的迁移活动。各级生物也参与铅等的迁移和积累活动。人们食用海鲜,使铅等沿食物链进入人体,使人受害。

二、铅对生物影响的概述

铅对动物的影响主要是它在体内的蓄积抑制正常酶功能。紊乱一些生命元素在体内正常运行,造成各种铅中毒症状。

一些植物以铅作为一种必需微量元素。有些植物有耐铅力,能在体内积累、转移铅。这种性能可能与遗传有关。人们利用这一特性将一些植物作铅污染的指示者和净化器。

对微生物而言,铅常是有毒的。如无机 Pb^{++} 抑制海藻光合作用和真菌生长,抑制蓝细菌固氮,抑制真菌孢子萌发和菌丝生长。但许多证据也表明微生物能耐铅毒,有些与其固有特性相关^[6]。一些细菌,如节杆菌和丝细菌,能在铅矿上生长。有些菌能在不损害其生命活动时固定铅^[6]。

三、微生物与铅的相互作用

(一) 微生物对铅的反应

多数对铅敏感的细菌,当培养基中含低量铅时

就被抑制。大肠埃希氏菌(NCTC/0418)对 $0.001mol$ 铅离子很敏感。随铅浓度递增,大量铅敏感菌受抑,只少数能形成菌落。当平皿中铅浓度为 $200ppm$ 时,尚可见褐-赭色菌落。此色泽似与铅浓度有关。铅浓度低,该色菌落色浅。无铅则不见此色素,表明褐-赭色菌落是铅污染的结果^[1,4]。在铅浓度为 $400ppm$ 时,耐铅菌生存下来,经 $120h$ 铅培的好气异养菌数比空白对照时的大^[2,7]。Jensen 培养铅浓度为 $500ppm$ 的土样(含 2% 油)一月后,细菌数达 $2425 \times 10^6 \cdot g^{-1}$ (干土),占对照土样菌数的 85.4% , 4 月后占 74.02% 。表明耐铅菌对铅有强大耐力^[11]。

耐铅力又是有条件的。如用铅培养的海水菌适于铅污染,当耐铅的海水菌培养在无铅培养基后,便逐渐再次失去耐铅力。海洋沉积物菌也有类似现象。

(二) 微生物积累铅的能力及部位

1. 积累能力 在铅影响下生长起来的耐性菌株。其生理生化活性将发生相应变化。例如,它们可能产生出质粒以抗铅,金黄色葡萄球菌、一些肠菌即是^[14,22]。另一重要变化是铅的积累。Aickin 等试验的枯草芽孢杆菌、食爬虫假单胞菌、弱氧化葡萄糖杆菌、荧光假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌等能在醋酸铅培养基上摄取 $0.1-36\%$ (占生物干重)的铅,黑曲霉、炭黑曲霉等九株真菌的最高摄铅量达 19% ^[11]。

来自海洋、河口和陆地的细菌,包括海产碱菌 (*Alcaligenes marinus*)、海水浮游可变单胞菌 *Alteromonas haloplanktis*、大肠埃希氏菌、荧光假单胞菌、卵状假单胞菌、恶臭假单胞菌及其他假单胞菌、巨大芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、费氏弧菌等在海水中培养基上生长时,原子吸收分光光度计表明其细胞含铅量达 $10 \pm 3ppm \cdot 干重^{-1}$ 。这比 Mn 、 Ni 或 Cd 的积累量多,但比其他金属的少^[12]。藤黄微球菌和固氮细菌分别从含 $PbBr_2 2.5mg \cdot ml^{-1}$ 的肉汤培养基中固铅达 4.9 和 $3.1 \times 10^2 mg \cdot g^{-1}$ (细胞干重)。柠檬酸细杆的休眠细胞积铅达其干重的 10% 。当把它与荧光假单胞菌培养在以柠檬酸盐缓冲、磷酸甘油为

唯一磷源的醋酸铅培养基上培养时, 积铅达干重的 1/3。浮游球衣菌用 100ppm Pb[Pb(NO₃)₂] 培养 10 天, 最高积铅量为 9700ppm, 是开始加入培养基中铅量的 2.3%。0.1、1.0 和 100ppm 的铅刺激该菌。积铅量随铅浓度增加而增加, 随该菌数减少而减少^[20]。除细菌外, 藻类如斜生栅列藻积铅达干重的 137962 ppm。最大积累发生在 10ppm 铅培 5 天时。在这之前, 铅进入细胞的速度随铅浓度增加而加快^[13]。

2. 积铅部位及积铅物质 铅的积累主要与胞壁/胞膜相关。X 射线分析、扫描电镜和扫描透射电镜检查都证实此点。藤黄微球菌积累的铅有 99.3% 在胞壁+胞膜的片段上, 固氮细菌是 99.1%。柠檬酸细杆的休眠细胞表面有铅的集中化现象。浮游球衣菌的铅很大部分与粘液荚膜物质相关。表明在决定多少金属进入细胞上, 细胞外层很重要^[21]。将棕黄色小球菌用 100 mg · l⁻¹ 的 PbBr₂ 或 Pb(NO₃)₂ 培养基培养, 吸取的铅, 有 75—82% 在细胞类脂萃取物中。这种萃取物系积铅的天然混合物。类脂组分不为铅的专性稳定结合提供环境可适性, 但天然类脂混合物却为铅提供成核条件^[22]。

一些结果证实, 细胞表面沉积的铅是 PbHPO₄ 的形式。

有些菌的细胞质也积铅, 浮游球衣菌即是淡水的斜生栅列藻将部分铅均匀地分布在胞质和内质网上。棕黄色小球菌也有类似现象。这说明微生物积铅部位因细胞结构不同而异。此外, 还受一些条件制约。

四、铅的微生物毒理效应

(一) 破坏细胞

铅对质膜结构造成不利影响, 使一些原生质产生胞溶现象, 或使一些菌发生质壁分离, 并造成其间体结构膜破裂征象的变异。用三(羟甲基)氨基甲烷和 EDTA 处理萃取的脂类部分, 或用 *p*-氯汞基苯磺酸还原巯基, 对铅的存留影响较小^[23]。

(二) 抑制胞内酶活动

铅影响淀粉酶产生菌的蛋白质合成, 使淀粉酶合成受抑。淀粉酶合成的减少同对铅敏感的淀粉酶产生菌数减少相平行。淀粉酶合成的恢复与该菌数增加相关^[24]。Babich 等^[25]发现 2mg · g⁻¹(±) 的铅(醋酸铅)可减少 α-葡萄糖苷酶、液化酶和转化酶的微生物合成, 铅也抑制纤维素酶、脲酶等。

(三) 影响细菌生长、能代谢和离子运输

三乙基铅和三丙基铅阳离子对大肠埃希氏菌有这些影响, 还程度不等地抑制细胞生长和完整、细胞

及膜颗粒的摄氧。较高浓度的三乙基铅明显抑制整个细胞的呼吸速率^[7]。

(四) 改变生长规律

当浮游球衣菌生长在含 Pb(NO₃)₂ 培养基中时, 迟滞期消失, 生物量增加。但因铅刺激而迅速生长的细胞后来却很快死亡了, 大肠埃希氏菌在临界 Pb²⁺ 浓度 (45μm) 中生长时, 活力减了 89%, 迟滞期延长了。

(五) 影响铅毒的若干因素

1. pH 和培养期 用气单胞菌、假单胞菌、产碱菌、不动杆菌、黄杆菌在 0.5% 营养肉汤和 0.1% 酵母膏中培养, 其转变 Me₃PbOAC 为 Me₄Pb 的过程决定于 pH。pH 5 时, Me₄Pb 最多; pH 9 时减少。在化学上限定培养基中, 上述菌无一株能将无机铅转化。

在特定铅浓度下, 摄铅量一般随培养期的延长而增加。Pb²⁺ 对酶的抑制常出现于培养末期, 表明铅效慢, 随时间延长而铅毒增加。耐性菌群系也不断发展起来。

2. 培养基中含铅量 一般是铅浓度高, 入胞的渗透作用快, 最高积累发生得早。如斜生栅列藻、浮游球衣菌等即是。但积铅量增减, 与铅浓度不始终成比例。

3. 铅的化学形式及其与细胞接触的时间 铅的化学形式不同, 对酶合成的抑制程度也不同。四甲基铅比四乙基铅毒性小。烷基铅毒性比无机铅毒高几个量级。PbS、氧化铅类、特别是 PbO₂ 比 PbBr₂、Pb(NO₃)₂ 和金属 Pb 不易被微生物攻击。三丙基铅比三乙基铅易脂溶, 抑制作用大, 但三乙基铅浓度大时, 抑制作用也十分明显。

Greco 等(1979)列出不同金属联合对土壤微生物的毒性次序是: Cd-Pb-Zn > Pb-Cu、Pb-Zn > Pb-Cu。

不同形式的铅接触细胞的方式和条件不同。同一形式的铅盐随与细胞接触时间加长而增毒。

4. 胞壁成分 不同的胞壁成分不同地选择吸收金属盐, 这是胞壁的屏障作用。含多糖多, 选择结合的金属也多。胞壁结构和组成限制入胞金属的化学形式和数量, 因而能减低某些金属的毒害作用^[20]。

5. 培养基成分 许多培养基能大量结合重金属离子。酪蛋白、氨基酸结合所有金属。一些阳离子对许多配位体有亲和力, 它们在 Irving-Williams 系列中的顺序为: Hg²⁺ > Pb²⁺ >> Cu²⁺ >> Cd²⁺^[18]。非发酵性碳源比葡萄糖更能使三乙基醋酸铅 (5μM) 发挥抑制力^[7]。

6. 其他 铅毒还决定于介质的理化性质和生物

性状。铅的氯化物、硫酸盐和醋酸盐的毒性在土壤间有差异。这归之于它们在溶液中留存的量。但粘土的螯合作用减低铅毒。若土壤金属浓度已饱和,少加金属即会显著增毒,因为溶液中的浓度直接随所加金属量增而增^[19]。此外,水的硬度、腐殖酸等也有影响。

铅污染土中的微生物活动有时还决定于地面植物状况,其根际效应比铅污染状况还重要。

五、铅的微生物生态效应

铅的性质使它与环境颗粒物、有机质密切相关。一些结果表明它们间有正相关。许多微生物也有类似性质。如 Humber 河口(英)的附着细菌、附着细菌/悬浮固体与颗粒铅间均有正相关,细菌数含量与有机质含量有关^[9,10],因而耐铅菌与铅污染必定相互作用。当铅污染导入境内后,一个明显的生态效应便是耐铅菌的选择效应。其淘汰作用使铅敏感菌减少乃至消失,耐铅菌适应并增多。微生物群体这种朝耐铅方向移动所需时间甚至不会太长。适应下来的活菌数有时甚至比对照的更多^[11]。

铅污染进入环境的另一生态效应是原来群落组成的变化,种的多样性将要减少,严重时甚至导致群落结构失稳。如荷兰的一些土壤便有此情况。随着培养基中铅的增加,革兰氏阴性杆菌比例增高,棒形菌数比例减少^[6]。这表明革兰氏阴性杆菌是耐性菌数增加的主要贡献者,它占耐性株数的 74%。棒形菌占 19%,其他杆形菌占 5%。敏感株中相应比例分别为 58、38 和 3%。所以,耐铅菌有生物化学和形态学上的特点^[12]。

在含铅量正常或较低的环境中,仍然有相当比例的耐铅菌。这与其分类特点及遗传学性质有关。但一般而言,含铅多的环境,耐铅菌比例高,耐重金属性最终也是获得性的^[19,23]。这种筛选作用在一定程度上带有间接性。反之,在后一环境中,仍可发现为数不少的铅敏感菌。这意味着铅在环境中分布的不均匀性。如土壤团粒结构在一些方面是内外有别的。相应含铅量及其有关微生物也是内外不一的^[6]。

对铅的感应也决定于微生物的地理学起源,北大西洋 Iberia/NW 非洲的菌比 Spitzbergen 的菌更耐铅^[23]。

在某一环境测得相当严重的铅污染,也有相当数量和活力的微生物,这还意味着铅毒仍不致于危及有关微生物。因为铅与控制细菌的参数有关。这些参数可能减毒,表现出细菌与铅在一定程度上互

不影响,而只对共同因子发生感应。尽管如此,耐铅菌比例仍不失为特定条件下反映铅污染水平的重要指标之一^[8,9,12,16]。

六、耐铅菌的生态意义及应用

耐铅菌在江、河、湖、海等环境中参与铅等元素的地球化学过程,对铅在环境中的定位和富集起重要作用。它们的活动促使铅等重金属在河口等环境中停留,反过来又增加金属溶解度,促进金属的流动化^[17]。一些耐铅菌积累铅,并经食物链传递,其中包括铅的甲基化作用。因而耐铅菌的活动具有一定的生态意义。人们利用这些特性,赋予耐铅菌以一些应用价值:

(一) 检测和净化铅污染等。耐铅菌积累大量铅,甚至耐、抗其他污染。显出多重抗性,因而可用于净化环境。此外铅敏感菌和耐铅菌都以一定意义对铅污染起指示作用。

(二) 一些微生物与铅关系密切。已发现一些方铅矿结晶中的许多古细菌可用于研究成岩作用早期晶体生长上。已用于贫矿浸出。已提出了商业规模应用微生物浸出技术处理复杂 Pb-Zn 硫化矿的流程图和工艺学。

(三) 一些含质粒的耐铅菌是当今兴起的生物工程材料之一。

参 考 文 献

- [1] Aickin, R. M. et al., *Microb. Lett.*, **5**(19-20), 129(1977).
- [2] Algright, L. J. et al., *Water Res.*, **6**, 1589(1972).
- [3] Babich, H. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(3), 506 (1979).
- [4] Chau, Y. K. et al., In: "Lead in the marine environment", p. 225. Branica, M. & Konrad, I (eds.), Oxford, Pergamon Press, 1980.
- [5] Cole, M. A., *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**(2), 262 (1977).
- [6] Doelman, P. et al., *Soil Biochem.*, **11**(5), 487 (1979).
- [7] Gibrom, J. P. et al., *J. Gen. Microbiol.*, **116**(1), 99 (1980).
- [8] Goneye, E. R. et al., In: "Estuarine microbial ecology," p. 245 (1973).
- [9] Goulder, R. et al., *Water Res.*, **14**(6), 591 (1980).
- [10] Harvey, R. W. et al., *J. Mar. Res.*, **40**(4), 1201 (1982).
- [11] Jensen, V., *Oikos*, **28**(2-3), 220(1977).
- [12] Jones, G. E. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(5), 800(1979).

表 1 彷徨试验检测污水结果

分 组	每组管数	1 天变色管数		2 天变色管数		3 天变色管数		4 天变色管数		5 天变色管数	
		TA98	TA100								
阴性对照	50	0	0	0	0	7	9	7	9	7	9
阳性对照	50	0	0	0	0	23**	27**	25**	30**	25**	30**
污 水	50	0	0	0	0	24**	20*	24**	26**	24**	26**

* P<0.05 ** P<0.01

二、实验结果

24 份污水混合液彷徨试验的细菌诱变结果见表 1。由此可见受试污水组及阳性诱变药物对照组从第三天开始均半数左右变色。而阴性对照组从第三天仅少数变色，污水组及阳性对照组的变色管数均多于阴性对照组($P < 0.05$ 或 0.01)，有显著差异，可判断受试污水致突变阳性。

三、讨 论

1. 该项试验所取 24 份污水混合标本，采取了上、下游纵向分段及左、右、中心横向分别采取的办法。有充分的代表性。经彷徨试验获得了致突变阳性结果，提示石家庄市污水有一定的致突变作用。用该污水直接灌溉农田将造成环境污染，该污水处理问题亟待解决。

(2) 彷徨试验是较 Ames 试验更敏感的微生物学快速筛选致突变物的先进手段^[5]。用于直接检测城市污水，能更好的反映污水中多种物质联合作用的效应。污水中的各种有机质及重金属混合存在，可发生相加，协同，互补，促进或者相减，颉颃等复杂作用，从而影响污水总的致突变性，使之增加或减弱，故这比分开测定污水中单一成份更具有实际意义，可测试出污水中各种成份的实际联合作用。

参 考 文 献

- [1] Dunlop, S. G., The Symposium on The Use of Sewage Effluent for Irrigation, Louisiana Polytechnic Institute, Ruston, P 107. 1968.
- [2] 蔡诗文, 劳动与环境医学, 5(4), 3(1982).
- [3] 蔡诗文, 卫生研究, 13(2), 25-29(1984).
- [4] 邵义隆, 中国环境科学, 3, 53-57(1983).
- [5] Green, M. H. L., et al. (张湘桥译), 用简化波动试验检测低水平致变物, 生物学短期试验。人民卫生出版社, 北京, 第一版, 第 137 页, 1982 年。
- (上接第 89 页)
- [13] Maria, P. S. et al., *Acta Microb. Polon.*, **30**, 79 (1981).
- [14] Mietz, J. A. et al., *Water Air Soil Pollut.*, **20**, 147 (1983).
- [15] Mills, A. L. et al., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**(1), 99(1977).
- [16] Nelson, J. D. et al., *Microb. Ecol.*, **1**, 191(1975).
- [17] Oppenheimer, C. H., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **19**, 244 (1960).
- [18] Ramamoorthy, S. et al., *Microb. Ecol.*, **2** 162 (1975).
- [19] Rother, J. A. et al., *Plant and Soil*, **69** (2), 239 (1982).
- [20] Slowik, J., *Acta Microb. Polon.*, **30** (2), 183 (1981).
- [21] Sterritt, R. M. et al., *Sci. Total Environ.*, **14**, 5 (1980).
- [22] Summers, A. O. et al., *Ann. Rev. Microbiol.*, **32**, 637 (1978).
- [23] Tan, T. L., *Microb. Ecol.*, **5**(4), 295 (1980).
- [24] Thormann, D., *Veroff. Inst. Meeresforsch Bremerh.*, **15** (3), 237 (1975).
- [25] *Ibid.*, **17**(2), 163 (1979).
- [26] Tornabene, T. G. et al., *Science*, **176** (4042), 1334 (1972).
- [27] Tornabene, T. G. et al., *Appl. Microbiol.*, **29** (5), 680 (1975).