

砷污染微生物修复的进展研究

吴佳, 谢明吉*, 杨倩, 涂书新*

(华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070)

摘要:随着工业的快速发展, 砷污染成为全世界尤其是发展中国家面临的主要环境问题之一。微生物修复是砷污染修复的重要技术, 本文在微生物对砷的专性吸附, 微生物对砷的形态转化及含砷化合物的降解和挥发, 微生物-根系互作对土壤砷污染的影响, 及微生物砷修复的分子生物学等 4 个方面阐述了微生物砷修复机制的研究进展。文章还对微生物砷污染修复进行了展望, 并讨论了进一步研究的问题和领域。

关键词:砷污染; 土壤; 水体; 微生物修复; 机制

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2011)03-0817-08

Current Researches in Microbial Remediation of Arsenic Pollution

WU Jia, XIE Ming-ji, YANG Qian, TU Shu-xin

(College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Along with the rapid development of industries, arsenic contamination emerges as one of the world's most urgent environmental problems, especially for the developing countries. Microbial remediation of arsenic polluted environments is a key technique in practice, four aspects, i. e., the special adsorption of arsenic by micro-organisms, the transformation of arsenic speciation and the degradation and volatilization of arsenic compounds by micro-organisms, the effects to arsenic contamination of soil by the interactions between micro-organisms and plant roots, and the molecular biological mechanism of bioremediation for arsenic were reviewed in this paper. In the final section of this paper, the outlook of bioremediation for arsenic and the issues and realms which call for more researches in the future were discussed.

Key words: arsenic pollution; soil; water; microbial remediation; mechanism

砷在地壳中含量占第 20 位, 是普遍存在的一种非金属元素。砷主要以硫化物的形式存在, 如雄黄 (As_4S_4)、雌黄 (As_2S_3)、砷黄铁矿 (FeAsS) 等^[1]。因其特殊的类金属性和韧性^[2], 砷主要用于与铜、铅及其他金属形成合金。此外, 砷的化合物还广泛用于制造防腐剂、染料、农药和医药等。

随着社会经济和工业的发展, 全球许多国家面临严重的砷污染威胁, 砷污染已成为人们普遍关注的环境污染问题之一。据统计, 在美国国家环保局超级基金计划的污染场地中, 有 41% 的污染场地存在砷污染问题^[3]。在澳大利亚, 共有超过 10 000 多个土壤砷污染场地^[4]。在印巴次大陆的孟加拉国, 以含砷地下水浇灌的水稻田中土壤平均砷含量高达 101 mg/kg^[5], 超过国际标准 3 倍^[6]。中国也是受砷污染最为严重的国家之一, 新疆、内蒙、陕西、湖南、云南、贵州、广西、广东、台湾等省区的砷污染均比较严重。

环境中的砷污染导致作物产量降低及质量和品质下降, 直接威胁到人畜健康。目前, 因砷污染引起的砷中毒事件也已成为世界关注的焦点, 地方性慢性砷中毒成为大多数国家社会公共卫生面临的严峻挑战。据世界卫生组织官员公布, 目前全球至少有

5 000 多万人口正面临着地方性砷中毒的威胁^[7]。印度、孟加拉国、澳大利亚、南美、日本、中国等国家上亿人长期面临饮用高砷水的危险^[8,9]。

砷污染影响人民身体健康的同时, 也给国家经济带来了巨大的损失。按 1995 年的 GDP 和人均收入计算, 中国砷污染区的国家经济损失为 181 元/(人·a)⁻¹, 个人经济损失为 164 元/(人·a)⁻¹^[10]。2008 年 6 月发现的云南阳宗海砷污染事件, 在短短的几个月中国家带来了数十亿元的经济损失^[11]。

砷污染土壤和水体的修复一直受到众多研究者的关注, 目前, 传统的物理修复和化学修复技术已取得一定成效, 并形成了部分成熟的工艺流程。对于砷污染土壤的修复传统方法主要采用固定技术, 而对水体则主要采用膜分离、离子交换、凝聚沉淀等方法去除砷, 这些方法工程量大、投资费用高, 同时还可能导致二次污染^[12]。

收稿日期: 2010-03-27; 修订日期: 2010-08-12

基金项目: 农业部农业公益性行业科研专项 (200803034); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2007AA06Z332)

作者简介: 吴佳 (1987 ~), 女, 硕士, 主要研究方向为环境污染生物修复, E-mail: wujia2008@webmail.hzau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: xmjjjandan@yahoo.com.cn; stu@mail.hzau.edu.cn

微生物修复是利用微生物,如细菌、真菌、放线菌和原生动物的生命代谢活动富集、分解或清除生长介质中的污染物。近年来,微生物修复技术因其环境友好性和低投入等优点得到迅速发展,大量高效降解菌株被筛选和研究,这给生物修复技术进行污染修复带来了活力与希望。

本文回顾了近年来砷污染土壤和水体的微生物修复研究,对微生物修复砷污染的机制进行总结并对今后的研究方向进行预测。

1 微生物修复砷污染的作用机制

微生物是自然界中形体微小、单细胞或个体结构简单的多细胞、甚至无细胞结构的低等生物的通称。作为土壤中重要的活性胶体组分,微生物数量众多,比表面积大,带电荷多,且代谢旺盛;同时,土壤中的微生物与重金属(砷)间存在吸收和富集、溶解和沉淀、氧化和还原等作用的动态平衡^[13~15],这对重金属包括砷的化学行为和生物有效性都会产生深刻的影响。

1.1 微生物对砷的专性吸附

存在于微生物表面的多种极性官能团能够通过和重金属,包括砷离子发生定量化合反应(如离子交换、配位结合或络合等)而达到固定重金属的目的。如微生物细胞壁表面的 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{PO}_4^{3-}$ 、 $-\text{SH}$ 等基团都是结合重金属离子的重要结合位点^[16]。研究发现,死菌也可以吸附重金属,主要是由于细胞壁表面一些化学基团的络合、配位作用与金属离子形成离子键、共价键^[17]。Takeuchi等^[18]研究发现,生长在含有 5mg/L As(V) 的培养基中的 *Marinomonas communis*,其吸附砷可达 $2\,290\text{mg/kg}$ (干重)。

廖敏^[19]用菌藻共生体去除废水中砷的研究表明,菌藻共生体能够很好地吸附砷,积累砷可以达到 7.47g/kg (干重),对于无营养源的含 As(III) 、 As(V) 的废水砷吸附率达 80% 以上;对于含营养源的含砷的废水 As(III) 和 As(V) 吸附率也分别在 50% 和 70% 以上。研究者认为这主要是由于藻类和细菌表面存在许多功能团,如羟基、氨基、羧基等。这些功能团可与水中砷共价结合,从而将砷吸附在菌藻共生体上。

在砷污染废水的治理中,活性污泥法是比较常用的一种方法,采用污泥浓度 MLSS (mixed liquor suspended solids)为 100mg/L ,停留时间为 10h 的动态模拟实验处理 72h 后,污泥(干重)的砷吸附量

分别为 18.64mg/g 和 76.91mg/g ^[20]。

研究认为,在微生物吸附砷的过程中,pH、砷的原始浓度、磷酸根浓度及预处理技术等都会影响微生物对砷的吸附效率^[21~22]。当溶液中磷酸根的浓度为 0.5mg/L 时有利于砷的吸附, $>10\text{mg/L}$ 会抑制微生物对砷的吸附。Murugesan等^[23]将1种从茶树(*Melaleuca alternifolia*)上分离得到的真菌(tea fungus)用 FeCl_3 (15mg/L)浸泡 30min ,然后用于对砷的生物吸附实验发现,溶液中砷的去除率接近 100% ,较对照组高出 40% 。说明经过化学预处理,可以显著提高真菌对砷的吸附能力。

1.2 微生物对砷的形态转化及含砷化合物的降解和挥发

水体中的砷,通常以无机态的三价砷 $[\text{As(III)}]$ 和五价砷 $[\text{As(V)}]$ 2种化学价态存在。土壤中砷的形态复杂,既有无机砷也有有机砷^[24],其中大多为无机砷,包括三价砷 $[\text{As(III)}]$ 和五价砷 $[\text{As(V)}]$,又以 As(V) 为主。 As(III) 和 As(V) 之间可以通过氧化-还原反应而发生价态转变,二者之间保持着动态平衡^[25];有机砷主要包括一甲基砷酸(盐)(MMAA或MMA)和二甲基砷酸(盐)(DMAA或DMA),占土壤总砷的比率极低^[26,27]。 As(V) 较 As(III) 的附着能力强,移动性弱,毒性相对较小^[28]。相对于土壤动物和微生物而言,有机砷的毒性要小于无机砷^[26]。

研究表明,在土壤和水体中砷的形态转化中,微生物发挥了重要作用。早在1918年,Green等^[29]就从畜牧废水中分离得到了第1株 As(III) 氧化菌,证明了微生物对砷形态的转化能够产生作用。张雪霞等^[30]从一处有砷污染历史的冶炼厂废址采集土壤样品,在厌氧环境中对其中的微生物进行富集培养,观察其对砷的还原能力,发现在 21h 之内, As(V) 就被完全转化为 As(III) 。

Valenzuela等^[31]也从智利北部一条高砷污染河流($\text{As}\geq 1100\mu\text{g/L}$)的沉积物中分离得到9种假单胞菌株,并且证实这些菌株能将 As(III) 氧化为更加稳定的 As(V) 。Fan等^[32]也从沉积物中分离得到了砷氧化菌和砷还原菌,而且他们发现砷氧化菌分布在从地表到 7m 深的地下水中,而砷还原菌分布在 $0\sim 41\text{m}$ 的区域。目前发现能够氧化 As(III) 的菌株主要有两大类:化能无机自养型(Chemolithoautotroph)和化能有机异养型(Chemoorganoheterotrophic)。这2种菌都均有解毒作用,其中化能无机自养型菌株在生长中还能将

As(Ⅲ)作为电子供体.研究较多的化能自养型 As(Ⅲ)氧化菌主要是 *Rhizobium* sp. NT-26; *Thiomonas* sp. 3As. 异养型 As(Ⅲ)氧化菌主要有: *Alcaligenes faecalis*、*Cenibacterium arsenoxidans* (ULPAsI)、*Agrobacterium albertimagni*、*Thermus thermophilus* HB8 和 *Pseudomonas putida*^[33].

本课题组通过对蜈蚣草-微生物联合修复土壤砷的研究也发现微生物能够显著影响砷的形态,从而影响砷的有效性.其中砷酸还原菌 *Delftia* sp. Ts33 和 *Streptomyces lividans* 能够显著增加铁结合态砷的含量,同时减少闭蓄态砷的含量.另外 *Comamonas* sp. Ts37 和 *Delftia* sp. Ts41 也能显著减少闭蓄态砷的含量.菌根 *Acaulospora mellea*、*Glomus etunicatum*、*Glomus hoi*、*Glomus tortuosum* 和 *Glomus coronatum* 都能够显著提高土壤有效砷的含量.

无机砷化物在微生物的作用下,可以被转化为毒性较低的一甲基砷酸(盐)(MMAA或MMA)、二甲基砷酸(盐)(DMAA或DMA)和三甲基砷氧(TMAO)以及无毒的芳香族化合物砷胆碱(AsC)和砷甜菜碱(AsB),而甲基砷酸可以在某些微生物的作用下将甲基(CH₃)取代 AsO(OH)₃ 中的羟基而形成砷化氢的甲基化衍生物 MMA、DMA 和 TMA^[34]. 吴剑等^[35]分离到了1株芽孢杆菌属的细菌,能将 DMAA 转为气态砷.但是这种细菌不能挥发亚砷酸盐,因此他们推测微生物可能通过共代谢的方式对砷的转化产生作用.有些微生物利用亚砷酸盐作为甲基受体,把亚砷酸盐转化为二甲基砷酸盐,然后再由芽孢杆菌转化为各类甲基砷.甲基砷的沸点较低^[36],很容易挥发进入到大气中. MacKenzie 等^[37]估计因微生物作用而挥发到大气中的 As 每年有 2.1×10^7 kg. 目前,已发现具有挥发 As 功能的细菌和真菌非常多,如甲烷杆菌(*Methanobacterium*)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)、变形杆菌(*Proteus* sp.)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、无色菌(*Achromobacter* sp.)、气单胞菌(*Aeromonas* sp.)、脱硫弧菌(*Desulfovibrio*)、假丝酵母(*Candida*)、曲霉(*Aspergillus*)、镰刀霉(*Fusarium*)、帚霉(*Sxopulariopsis*)、拟青霉(*Paecilomyces*)、土生假丝酵母(*Candida Humicola*)、粉红粘帚霉(*Gliocladium roseum*)和青霉菌(*Penicillium* sp.)等^[38~41].

在利用微生物挥发土壤中砷的时候,比较关注的是气态砷的毒性.有研究表明,甲基砷的毒性比砷酸盐或 As₂O₃ 小得多,TMA 的 LD₅₀ 为 8 000 mg/kg,

而 Na₃AsO₄ 和 As₂O₃ 的 LD₅₀ 分别为 14 ~ 18 mg/kg 和 34.5 mg/kg. 而且如果产生的甲基砷数量比较大,还可以通过覆盖薄膜的方式回收砷.虽然在产生有机砷的过程中,还可能产生一定数量有毒气态污染物砷化氢,但是其相当不稳定,容易被氧化^[36],在大气中不易积累到对环境构成危害的程度.

研究表明,As 甲基化不仅存在于土壤中,也存在于底泥和水中.另外土壤环境中还存在着脱甲基的微生物,它们把甲基化的砷氧化分解,脱甲基形成无机砷.甲基砷也可以脱甲基转化为砷化氢^[42]. 因此,在一般情况下,砷的甲基化和脱甲基化过程保持动态平衡.

从目前的研究进展看,微生物挥发 As 的能力还较弱,能够被挥发出来的 As 的比率也较低,普遍在 10% 以内^[35]. 研究认为,许多环境条件都影响土壤中 As 的挥发,如氧气条件、氧化还原电位、pH、含水率、温度和重金属离子等^[35,43~45].

对氨基苯砷酸(阿散酸)和 3-硝基-4-羟基苯砷酸(洛克沙砷)等有机砷制剂有促生长的作用,又因价格低廉被广泛运用于畜禽的饲养.进入动物机体的有机砷主要以原形从粪便排出.而现阶段我国大多数的畜禽粪便未经过无害化处理就直接进入环境,对环境造成了严重污染. Garbarino 等^[46]在使用过洛克沙砷的农场污水沟中检测到较高浓度的亚砷酸离子,因此推测在缺氧的条件下,细菌能将砷酸盐还原为亚砷酸盐或甲基化为 DMAA. 文献^[47,48]对家禽粪便在堆肥过程中洛克沙砷的降解变化进行了研究.结果显示洛克沙砷在干粪便中是稳定的,但进行堆肥后,在 30 d 中洛克沙砷主要转变为砷酸盐.降解反应直接与培养温度成比例,且高热杀菌后降解被抑制,更加说明了降解反应属于生物反应,微生物具有降解含砷制剂的作用.而生物降解可能的途径有氧化、甲基化/去甲基化和光降解等反应.

微生物的生长代谢过程中需要 C、N、P、K 等元素,在适当的水分条件下,通过添加营养元素等外在条件刺激土著降解性微生物的作用可以强化修复效果^[49,50]. Akins 等^[51]的实验证实,经过一段时间厌氧培养的土壤(添加 100 mg/kg MMAA),未添加有机质时砷挥发了 8.1%,而添加有机质处理时砷挥发了 11%. 宋红波等^[52]研究了不同环境条件对砷污染土壤生物挥发的影响,结果表明施加生物有机肥能促进砷的生物挥发.

土壤的理化性质,如质地、湿度、温度、pH、氧化还原电位等的变化对微生物的生长繁殖和代谢活动

有深刻的影响. 在生物修复的过程中, 可通过松土、保温、使用石灰调节 pH 值等农艺措施来改善土壤状况, 提高微生物修复效率. Hassler 等^[53]的研究显示在好氧条件下土壤的挥发量要高于厌氧条件. 另外, 砷的生物挥发速率也受到土壤含水量的影响, 过高或过低的含水量都不利于土壤中砷生物挥发的进行^[52].

1.3 微生物-根系互作对土壤砷污染的影响

微生物在根际微生态系统中, 对养分、重金属的转化吸收和植物的生长有其独特影响.

冯莉等^[54]通过盆栽试验研究发现, 用荧光假单胞菌处理烟草根际土壤后, 烟草根系生长和根干重明显增加, 侧根数量增多, 根系发达, 根长而粗, 根系活力显著提高. 另外, 微生物还能促进植物的生长, 有利于植物对重金属的吸收. Yang 等^[55]的研究发现, 在砷超富集植物蜈蚣草根际施用砷酸还原菌 (Ts1、Ts33、Ts37、Ts41 和 PSQ22) 能够显著促进蜈蚣草的生长, 与对照相比, 加 Ts1、Ts33、Ts37 处理的效果尤其明显, 蜈蚣草羽叶干重增加了 148% ~ 153%. 同时, 蜈蚣草羽叶中砷浓度也显著升高, 与对照相比增加了 6% ~ 44%, 其中施用 Ts33 的蜈蚣草羽叶中砷的浓度是对照 (886.47 mg/kg) 的 144%.

在自然界中植物根系和真菌共生的现象十分普遍, 陆地植物中大约有 90% 存在共生菌根的现象. 植物向真菌提供糖类, 而真菌向植物提供矿质营养元素尤其是 P 元素^[56]. 丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizae, AM) 是自然界中分布最广的一类菌根, 因此在砷的相关研究中, 受关注较多的是丛枝菌根共生植物, 包括乔木、灌木和草本植物. 大量研究表明, 在砷污染土壤中存在 AM 菌根, 进而与植物形成共生体^[57,58].

烟草盆栽实验发现, 在 *G. versiforme* 处理下, 叶子和植物的总干重比对照要高很多^[59]. Liu 等^[60]研究了 AM 菌根对蜈蚣草根际的影响, 结果表明, AM 菌根使蜈蚣草根的长度增加了 50%, 砷的转运系数提高了 43%. 在 As 浓度为 75 mg/kg 时, 有菌根侵染的番茄的根和叶的生物量与对照的番茄至少要高 30%^[61]. 菌根的这种对植物生长的促进作用主要是与其能促进植物对养分的吸收有关. 众所周知, 外生菌丝作为菌根的主要吸收器官, 可穿过根际范围的“贫磷区”, 深达贫磷区以外的其它土壤中吸收 P 素等营养物质, 供植物生长利用^[62]. 有研究表明, 未接种菌根的植物每盆只能吸收 P 素 36.3 mg, 而接种菌根的植物每盆吸收 P 素 257 mg^[58]. 另外, 菌丝体

在土壤中的寿命超过根毛, 外生菌丝数量上也超过根毛, 更加显著地提高了植物根系的吸收面积^[63].

接种 AM 菌根不但可以提高植物地上部生物量, 而且还能增加植物地上部对 As 的吸收量^[60,64~68]. Leung 等^[58]研究发现接种 AM 菌根能促进蜈蚣草对砷的富集, 在砷浓度为 50 mg/kg 和 100 mg/kg 的处理中, 接种 AM 菌根的植物富集砷分别为 58.3 mg/kg 和 88.1 mg/kg, 而未接种 AM 菌根的对照植物富集砷分别为 42.5 mg/kg 和 60.4 mg/kg. 同时, AM 菌根还能对砷从土壤到根、从根到叶的迁移和形态变化过程以及植物中砷酸盐还原酶和抗氧化酶的活性产生影响. Yu 等^[69]的盆栽实验发现 *G. mosseae* 接种处理能够降低玉米根和地上部分中总砷的浓度, 减少玉米根中 As(III) 的浓度和比例, 减少根际土壤和根中 MMA 和 AsB 的浓度和比例, 提高叶中 DMA 的浓度和比例. 同时接种处理降低了高浓度 As 处理的玉米根中砷酸盐还原酶 (arsenate reductase) 活性, 降低了根和地上部分 POD 酶和 SOD 酶的活性.

目前有关于微生物在植物修复砷污染机制方面详尽和深入的研究和报道还比较少, 而其他非特定的微生物与植物方面的研究开展较多.

不少研究证实, 微生物本身能够产生生长素、赤霉素等植物激素, 促进植物的生长^[70,71]. 连翠飞等^[70]发现一假单胞菌属的菌株能同时产生生长素和赤霉素, 使小麦平均苗高增加 10.54%、干重增加 17.29%、鲜重增加 19.81%.

同时, 微生物能够改变植物根系分泌有机酸的种类和含量. 用 AM 真菌侵染三叶草根系, 发现根系分泌的有机酸组分和含量都有改变, 表现出菌根化三叶草分泌的有机酸总量低于非菌根化三叶草的趋势^[72]. Phillips 等^[73]的研究也表明菌根侵染能改变植物根系分泌物, 他们的研究发现 *Pseudomonas bacteria* 和 *Fusarium fungi* 可显著加强苜蓿、玉米、小麦根系氨基酸的分泌, 而在无菌条件下, 上述植物根系对氨基酸的摄取量则远远超过其分泌量.

参考这些研究成果, 笔者认为在提高植物修复土壤重金属污染方面, 微生物-根系互作可能主要是通过下面 3 个方面产生影响: ①借助改变根形态等方式, 增加植物与土壤的接触面积, 不仅促进植物吸收土壤养分, 而且有益于植物吸收重金属. ②微生物通过产生一些次生代谢产物或促进有机物形成腐植酸, 对植物的生长发育发挥刺激作用. ③通过改变根细胞膜透性和根的代谢活动改变根系分泌物种类和

数量.

1.4 砷污染微生物修复的分子生物学机制

高浓度的砷对微生物具有毒害效应, 砷污染土壤中微生物数量呈现下降趋势, 并且有研究显示, 砷污染土壤中的微生物数量与砷浓度呈显著负相关^[74,75], 砷污染也能影响土壤微生物多样性, 改变土壤微生物群落结构, Turpeinen 等^[76]采用磷酸脂脂肪酸分析(PLFA)法和 16S rRNA 末端限制性片段多态性分析(t-RFLP)法研究了砷、铬、铜复合污染土壤中的微生物群落结构, 发现微生物多样性降低, 群落结构发生改变, 一些具有较强抗性的种群如 *Acinetobacter*、*Edwardsiella*、*Enterobacter*、*Pseudomonas*、*Salmonella* 和 *Serratia* 的数量和活性增强. 长期生活在砷胁迫环境下的微生物通常具有砷抗性. 目前, 从高砷环境中分离抗性种和抗性基因的多态性研究也成为热点. Achour 等^[77]从 2 个土壤样品中筛选出 41 个砷抗性种并克隆出其亚砷酸盐转运子基因片段, 其中, 70.7% 的抗性种包含 *arsB* 或 *ACR3* 基因, 系统发生学分析显示, *arsB* 基因主要出现在 *Firmicutes* 和 *Gammaproteobacteria* 中, 而 *ACR3* 则主要出现在 *Actinobacteria* 和 *Alphaproteobacteria* 中. Anderson 研究了新西兰 2 个砷污染场地土壤中的微生物群落并从中分离出了 17 个抗性种, 16S rDNA 序列分析发现, 这些种分属于 *Exiguobacterium*、*Aeromonas*、*Bacillus*、*Pseudomonas*、*Escherichia* 和 *Acinetobacter*^[78].

在微生物修复砷污染方面的研究, 在机制上也越来越深入. 微生物对砷氧化过程常被认为是一种解毒机制, 近年来, 对砷氧化酶和相关编码基因的研究也已取得了一定的成绩. 目前, 对于 NCIB8687 的 As(III) 氧化酶研究比较透彻, 其是由一个相对分子质量约 85×10^3 的 Mo-蛋白大亚基和一个小的 Rieske 亚基组成的异形二聚体($\alpha_1\beta_1$)^[79], 属于二甲基亚砷(DMSO)还原酶家族^[80]. *Rhizobium* NT-26 的砷氧化酶是由 AsoA 和 AsoB 构成的异形四聚体($\alpha_2\beta_2$)^[81]. 另外, 还有异形六聚体($\alpha_3\beta_3$)结构的砷氧化酶^[82]. As(III) 氧化酶基因的表达不仅受由结构基因和上下游基因组成的 As(III) 氧化酶操纵子的控制, 而且还受到密度感应系统的影响^[83].

在微生物体内广泛地存在 As(V) 的还原, 主要有 2 种形式: ①非特异性地由细胞内的谷胱甘肽(GSH)以非酶促反应形式还原; ②通过砷酸盐还原酶, 以 GSH 作为电子源, 通过酶促反应特异性地还原. 后者是微生物体内 As(V) 的主要还原形式^[84].

目前发现的砷还原酶有 3 类: ①ArsC, 是 Ars 操纵子中结构基因 *ArsC* 编码的蛋白, 成熟蛋白是一个相对分子质量约 16×10^3 的单体, 以谷胱甘肽和谷氧还蛋白作为电子供体. 这类还原酶首先是在 *E. coli* 773 质粒中的 Ars 操纵子上发现的^[85]. ②ArsC, 与第一类同名, 是 P1258 质粒 Ars 操纵子结构基因 *ArsC* 的蛋白, 成熟蛋白也是和第一类差不多大小的单体, 以硫氧还蛋白作为电子供体. 这类还原酶首先是在 *Staphylococcus aureus* P1258 质粒中发现的^[86]. ③Acr2P, 位于啤酒酵母第 16 号染色体上^[87], 成熟蛋白是一个相对分子质量约 34×10^3 的同型二聚体, 以谷胱甘肽和谷氧还蛋白作为电子供体.

As(III) 的甲基化也是微生物对环境砷的一种重要的解毒机制. 近年来对砷的微生物甲基化遗传学基础的研究正在逐步展开. 研究发现 As(III) 甲基化细菌 *Rhodopseudomonas palustris* CGA009 的 As(III) 甲基化活性是由转甲基酶(methyltransferase, ArsM)催化的, 最终产生气态的三甲砷气体[trimethylarsine, $(\text{CH}_3)_3\text{As}$]. 研究者从细菌 *Rhodopseudomonas palustris* 中克隆了位于 *arsRM* 操纵子上的砷甲基化相关基因 *arsM*, 整合到砷敏感的 *E. coli* 基因组中后, 发现 ArsM 能赋予 As(III) 敏感菌株砷抗性. *arsM* 基因编码一个约 29 656 的蛋白质酶腺苷甲硫氨酸甲基转移酶[As(III)-S-adenosylmethionine], 可以连续地甲基化 As(III), 同时它的表达受 *arsRM* 操纵子上的基因 *ArsR* 编码的阻遏蛋白的调控^[88].

2 存在问题和展望

微生物修复是生物修复技术的核心技术, 在污染物治理, 尤其是有机污染物的降解转化及水体污染修复方面展现了广阔的前景. 但是, 虽然生物修复作为环境友好型的治理技术深得人心, 但它本身也存在还没克服的问题. 随着科学技术的发展和人类环保意识的提高, 对环境污染认识的深入让人们们污染修复也提出了更高的要求.

(1) 土壤和水体砷污染微生物修复包括物理的、化学的和生物学的过程, 是一个复杂的多元系统, 然而目前多数研究是输入-输出研究, 对各个过程中微生物与砷及其环境的相互作用机制尚不清楚. 如不同微生物对砷专性吸附的机制及微生物对砷不同形态生物有效性的影响等.

(2) 对微生物参与砷的生物地球化学循环的途径和机制还缺乏深入的了解. 应加强微生物对新型

含砷化合物转化、降解机制与途径的研究,并对微生物转化的环境风险和安全进行评价。

(3)单独采用砷污染微生物修复的效率往往不高.生物修复本身受其载体的生物学特性限制,微生物需要一定的生长条件和生活环境,才能保证生长代谢和生命周期的正常进行,从而保证修复周期的完成.这限制了微生物修复的大范围运用或推广.实践证明,采用植物-微生物联合修复技术是提高生物修复效率的最有效途径之一.今后的研究不仅要着眼于高效降解微生物的筛选,还应深入探讨植物-微生物的联合修复机制与途径.

(4)微生物修复技术受环境因子影响很大.土壤生态系统的结构与组成均具有复杂性和多样性,土壤 pH、Eh、土壤矿物和有机质的吸附性、土壤生物对重金属的活性和有机污染物的降解性均有影响.在微生物修复技术实验室研究的基础上,应注重与现场修复相结合,研究田间复杂、不稳定的条件下,环境因子对微生物修复的影响及提高微生物修复效应的途径.

(5)目前发现和筛选出来的特效微生物菌剂多属于专一型,只对某种固定污染物或少数几种污染物有积累或降解作用,但现实中的污染多为复合污染,这限制了生物修复的效率和利用价值.今后的研究可望采用分子生物学手段,筛选具有多功能的“超细菌”,以提高微生物修复的实用价值.

(6)制定微生物修复砷污染土壤和水体的技术标准,完善相关法规和政策.根据我国实际,参考国际标准,制定适合于我国的相关技术标准和规程,同时,制定相关政策法规,完善砷污染治理奖惩政策,将砷污染的治理纳入法制化的轨道.

参考文献:

[1] 何振立,周启星,谢正苗. 污染及有益元素的土壤化学平衡 [M]. 北京:中国环境科学出版社,1998.

[2] 王箴. 化工词典[M]. 北京:化学工业出版社,1993.

[3] Agency U S E P. Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils[M]. Washington D C: 1997. 1-12.

[4] Fitz W J, Wenzel W W. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation[J]. Journal of Biotechnology,2002,99(3): 259-278.

[5] Norra S,Berner Z,Agarwala P. Impact of irrigation with As rich groundwater on soil and crops: a geochemical case study in West Bengal Delta Plain,India[J]. Applied Geochemistry, 2005,20(10): 1890-1906.

[6] Ahsan D,Delvalls T,Blasco J. Distribution of arsenic and trace metals in the floodplain agricultural soil of bangladesh [J].

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,2009, 82(1): 11-15.

[7] 王利红,尹西翔,段桂兰,等. 生物体砷代谢解毒机制的研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(17):8144-8147

[8] Mandal B,Suzuki K. Arsenic round the world: A review[J]. Talanta,2002,58(1): 201-235.

[9] Ohno K,Yanase T,Matsuo Y,et al. Arsenic intake via water and food by a population living in an arsenic-affected area of Bangladesh[J]. Science of the Total Environment,2007,381(1-3): 68-76.

[10] 尚琪,任修勤,李晋蓉. 环境砷污染区人群健康危害经济损失分析[J]. 环境与健康杂志,2003,20(2):72-74.

[11] 水富县环保信息 [EB/OL]. http://ztsf.xxgk.yn.gov.cn/canton_model2/newsview.aspx,2008.

[12] Wang S,Zhao X. On the potential of biological treatment for arsenic contaminated soils and groundwater [J]. Journal of Environmental Management,2009,90(8):2367-2376.

[13] 施积炎,陈英旭,林琦,等. 根分泌物与微生物对污染土壤重金属活性的影响[J]. 中国环境科学,2004,24(3): 316-319.

[14] 郭学军,黄巧云,赵振华,等. 微生物对土壤环境中重金属活性的影响[J]. 应用与环境生物学报,2002,8(1): 105-110.

[15] Robert M,Berthelin J. Role of biological and biochemical factors in soil minerals weathering [A]. In: Huang P M, Schnizer M, Division. (ed). Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes [M]. Soil Science Society of America, 1986,Special Publication. 453-465.

[16] Unzr F, Shuttteworthk L, Microbial mobilization and immobilization of heavy metals[J]. Biotechnology,1996,7(3): 307-310.

[17] 刘云国,冯宝莹,樊雯,等. 真菌吸附重金属离子的研究[J]. 湖南大学学报(自然科学版),2008,35(1): 71-74.

[18] Takeuchi H,Kawahata P,Gupta L,et al. Arsenic resistance and removal by marine and non-marine bacteria [J]. Journal of Biotechnol,2007,127(3): 434-442.

[19] 廖敏. 菌藻共生体去除废水中砷初探[J]. 环境污染与防治, 1997,19(2): 11-13.

[20] 许晓路. As(Ⅲ)对活性污泥处理城市污水影响的动态模拟研究[J]. 环境科学学报,1995,15(4): 416-422.

[21] 苏廷芝,顾国维. 活性污泥法处理含砷废水初探[J]. 四川环境,2006,25(4): 68-71.

[22] 许晓路,申秀英. 半联系活性污泥法对污水中五价砷的去除 [J]. 环境科学与技术,1995,70(3): 31-34.

[23] Murugesan G,Sathishkumar M,Swaminathan K. Arsenic removal from groundwater by pretreated waste tea fungal biomass[J]. Bioresource Technology,2006,97(3): 483-487.

[24] Quaghebeur M, Rengel Z. Arsenic speciation governs arsenic uptake and transport in terrestrial plants[J]. Microchimica Acta, 2005,151(3-4): 141-152.

[25] Smith E, Smith J, Naidu R. Distribution and nature of arsenic along former railway corridors of South Australia[J]. Science of the Total Environment,2006,363(1-3): 175-182.

[26] Pongratz R. Arsenic speciation in environmental samples of

- contaminated soil[J]. Science of the Total Environment,1998, **224**(1-3): 133-141.
- [27] Sadiq M. Arsenic chemistry in soils: An overview of thermodynamic predictions and field observations[J]. Water, Air, Soil Pollution,1997, **93**(1-4): 117-136.
- [28] Goh H, Lim T. Arsenic fractionation in a fine soil fraction and influence of various anions on its mobility in the subsurface environment[J]. Applied Geochemistry,2005, **20**(2): 229-239.
- [29] Creen H. Isolation and description of a bacterium causing oxidation of arsenite to arsenate in cattle-dipping baths[J]. Journal of the South African Veterinary Association-tydskrif Van Die Suid-a,1918, **34**(6): 593-599.
- [30] 张雪霞,贾永锋,陈亮,等. 砷还原菌群对砷的还原作用及菌群的多样性分析[J]. 生态学杂志,2009, **28**(1): 64-69.
- [31] Valenzuela C, Campos V, Yanez J, *et al.* Isolation of arsenite-oxidizing bacteria from arsenic-enriched sediments from Camarones River, Northern Chile[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,2009, **82**(5): 593-596.
- [32] Fan H, Su C, Wang Y, *et al.* Sedimentary arsenite-oxidizing and arsenate-reducing bacteria associated with high arsenic groundwater from Shanyin, Northwestern China[J]. Journal of Applied Microbiology,2005, **105**(2): 529-539.
- [33] 杨春艳,许琳,徐炎华. 亚砷酸盐氧化酶及其相关基因的研究进展[C]. 中国环境科学学会,2009.
- [34] Maeda S. In Arsenic in the Environment, Part 1: Cycling and Characterization[M]. New York: Wiley. 1994. 155-187.
- [35] 吴剑,杨柳燕,肖琳. 微生物挥发砷影响因素研究[A]. 见:第三届全国环境化学学术大会论文集[C]. 2005. 12-13
- [36] Kallio M, Korpela A. Analysis of gaseous arsenic species and stability studies of arsine and trimethylarsine by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2000, **410**(1-2): 65-70.
- [37] MacKenzie A, Logan E, Cook G, *et al.* A historical record of atmospheric depositional fluxes of contaminants in west-central Scotland derived from an ombrotrophic peat core[J]. Science of the Total Environment,1998, **222**(3): 157-166.
- [38] Qin J, Rosen B P, Zhang Y, *et al.* Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,2006, **103**(7): 2075-2080.
- [39] Shariatpanahi M, Anderson A, Abdelghani A, *et al.* Biotransformation of the pesticide, odium arsenate[J]. Journal of Environment Science and Health,1981, **16**(1): 35-47.
- [40] Cox D, Alexander M. Effect of phosphate and other anions on trimethylarsine formation by *Candida humicola* [J]. Applied Microbiology,1973, **25**(3): 408-413.
- [41] McBride B, Wolfe R. Biosynthesis of dimethylarsine by *Methanobacterium* [J]. Biochemistry, 1971, **10** (23): 4312-4317.
- [42] 杨柳燕,肖琳. 环境微生物技术[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 208-209.
- [43] Edvantoro B, Naidu R, Megharaj M, *et al.* Microbial formation of volatile arsenic in cattle dip site soils contaminated with arsenic and DDT[J]. Applied Soil Ecology,2004, **25**(3): 207-217.
- [44] Essema D, Wondimu T, Kosmus W. Study of the trend in the release of purgeable arsenic compounds from soil sample[J]. Trace and Microprobe Techniques,2001, **19**(2): 279-288.
- [45] Rodriguez R. Bioavailability and biomethylation of arsenic in contaminated soils and solid wastes[D]. 1998, USA: Oklahoma State University.
- [46] Garbarino J, Rutherford D, Wershaw R. Degradation of Roxarsone in Poultry Litter: In the Proceedings of Arsenic in the Environment Workshop[R]. Denver Colorado: U S Geological Survey,2001.
- [47] Arai Y, Lanzirotti A, Sutton S. Arsenic speciation and reactivity in poultry litter[J]. Environment Science and Technology,2003, **37** (15): 4083-4089.
- [48] Garbarino J, Bednar A, Rutherford D. Environmental fate of roxarsone in poultry litter - I: degradation of roxarsone during composting[J]. Environment Science and Technology,2003, **37** (8): 1509-1514.
- [49] Jackson W, Pardue J. Potential for enhancement of biodegradation of crude oil in Louisiana salt marshes using nutrient amendments [J]. Water Air and Soil Pollution,1999, **109**(1-4): 343-355.
- [50] Margesin R, Schinner F. Efficiency of indigenous and introduced cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in Alpine soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, **63**(7): 2660-2664.
- [51] Akins M, Lewis R. Chemical distribution and gaseous evolution arsenic-74 added to soils as DSMA- 74As [J]. Soil Science Society of America Journal,1976, **40**(5): 655-658.
- [52] 宋红波,范辉琼,杨柳燕,等. 砷污染土壤生物挥发的研究[J]. 环境科学研究,2005, **18**(1): 61-64.
- [53] Hassler R, Klein D, Meglen R. Microbial contributions to soluble and volatile arsenic dynamics in retorted oil shale [J]. Environmental Quality,1984, **13**(3): 466-470.
- [54] 冯莉,张玲华,田兴山. 荧光假单胞菌对烟草根际微生物种群数量及根系活力的影响[J]. 农业环境科学学报,2007, **26** (S2): 537-539.
- [55] 杨倩. 微生物提高植物修复砷污染土壤的效果和机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学,2009.
- [56] Smith S, Read D. Mycorrhizal Symbiosis[M]. New York: Academic Press,2008. 787.
- [57] Gonzalez-Chavez C, Harris P, Dodd J. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*[J]. New Phytologist,2002, **155**(1): 163-171.
- [58] Leung H, Ye Z, Wong M. Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils [J]. Environmental Pollution,2006, **139**(1): 1-8.
- [59] Hua J, Lin X, Yin R, *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on arsenic accumulation by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. Journal of Environmental Sciences,2009, **21** (9): 1214-1220.
- [60] Liu Y, Zhu Y, Chen B, *et al.* Influence of the arbuscular

- mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on uptake of arsenate by the As hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L. [J]. Mycorrhiza, 2005, **15**(3): 187-192.
- [61] Liu Y, Zhu Y, Chen B, *et al.* Yield and arsenate uptake of arbuscular mycorrhizal tomato colonized by *Glomus mosseae* BEG167 in as spiked soil under glasshouse conditions [J]. Environment International 2005, **31**(6): 867-873.
- [62] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇祿. 菌根研究及应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.
- [63] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [64] Agely A, Sylvia D, Ma L. Mycorrhizae increase arsenic uptake by hyperaccumulator (*Pteris vittata* L.) [J]. Journal of Environmental Quality, 2005, **34**(6): 2181-2186.
- [65] Ahmed F, Killham K, Alexander I. Influences of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and nutrition of lentil irrigated with arsenic contaminated water[J]. Plant Soil, 2006, **258**(1-2): 33-41.
- [66] Pope S, Smith S, Christophersen H. Arsenic uptake by *Medicago truncatula*: P supply and arbuscular mycorrhizal (AM) colonization do not reduce specific uptake from soil[A]. In: Zhu Y G, Lepp N, Naidu R, (eds). Biogeochemistry of Trace Elements: Environmental Protection, in Remediation and Human Health [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2007. 863-864.
- [67] Ultra V, Tanaka S, Sakural K, *et al.* Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on arsenic toxicity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and on the transformation of arsenic in the rhizosphere[J]. Plant and Soil 2007, **290**(1-2): 29-41.
- [68] Xia Y, Chen B, Christie P, *et al.* Arsenic uptake by arbuscular mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in an arsenic-contaminated soil with added phosphorus [J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, **19**(10): 1245-1251.
- [69] Yu Y, Zhang S, Huang H, *et al.* Arsenic accumulation and speciation in maize as affected by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, **57**(9): 3695-3701.
- [70] 连翠飞, 李社增, 晁春燕, 等. 产植物激素拮抗细菌 CX-5-2 的筛选、鉴定及其特性研究[J]. 植物病理学报, 2007, **37**(2): 197-203.
- [71] 蒋先军, 黄昭贤, 谢德体, 等. 硅酸盐细菌代谢产物对植物生长的促进作用[J]. 西南农业大学学报, 2000, **22**(2): 116-119.
- [72] 张玉凤, 冯固, 李晓林. 丛枝菌根真菌对三叶草根系分泌的有机酸组分和含量的影响[J]. 生态学报, 2003, **23**(1): 30-37.
- [73] Phillips D A, Fox T C, King M D, *et al.* Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots [J]. Plant Physiology, 2004, **136**(1): 2887-2894.
- [74] 段学军, 宋清涛. 土壤重金属污染的微生物生态效应[J]. 中原工学院学报, 2005, **16**(1): 1-4
- [75] Edvantoro B B, Naidu R, Megharaj M, *et al.* Changes in microbial properties associated with long-term arsenic and DDT contaminated at disused cattle dip sites[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, **55**(3): 344-351
- [76] Turpeinen R, Kairesalo T, Haggblom M M. Microbial community structure and activity in arsenic-, chromium- and copper-contaminated soils [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, **47**(1): 39
- [77] Achour A R, Bauda P, Billard P. Diversity of arsenite transporter genes from arsenic-resistant soil bacteria [J]. Research in Microbiology, 2007, **158**(2): 128-137.
- [78] Anderson C R, Cook G M. Isolation and characterization of arsenate-reducing bacteria from arsenic-contaminated sites in New Zealand[J]. Current Microbiology 2004, **48**(5): 341-347.
- [79] Ellis P, Conrads T, Hille R. Crystal structure of the 100 kDa arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis* in two crystal forms at 1.64 angstrom and 2.03 angstrom[J]. Structure, 2001, **9**(2): 125-132.
- [80] Inskeep W, Macur R, Hamamura N, *et al.* Detection, diversity and expression of aerobic bacterial arsenite oxidase genes [J]. Environ Microbiol, 2007, **9**(4): 934-943.
- [81] Santini J M, Sly L I, Schnagl R D, *et al.* A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold mine: phylogenetic, physiological, and preliminary biochemical studies [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(1): 92-97.
- [82] Hoven R V, Santini J. Arsenite oxidation by the heterotroph *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14: the arsenite oxidase and its physiological electron acceptor[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, **1656**(2-3): 148-155.
- [83] Kashyap D, Botero L, Franck W, *et al.* Complex regulation of arsenite oxidation in *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Journal of Bacteriology, 2006, **188**(3): 1081-1088.
- [84] Rosen B. Biochemistry of arsenic detoxification [J]. FEBS Letters, 2002, **529**(1): 86-92.
- [85] Ordóñez E, Letek M, Valbuena N, *et al.* Analysis of genes involved in arsenic resistance in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(10): 6206-6215.
- [86] Ji G, Silver S. Reduction of arsenate to arsenite by the AraC protein of the arsenic resistance operon of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 [J]. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, **89**: 9474-9478.
- [87] Bobrowicz P, Wysocki R, Owsianik G, *et al.* Isolation of three contiguous genes, ACR1, ACR2 and ACR3, involved in resistance to arsenic compounds in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Yeast, 1997, **13**(9): 819-828.
- [88] Qin J, Rosen B P, Zhang Y, *et al.* Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, **103**(7): 2075-2080.