

· 综 述 ·

汪劲松 博士，湖北师范大学教授，研究生导师。主要从事分子遗传学的教学与研究工作。湖北省生物物理学会理事、湖北省遗传学学会理事。曾主持省部级的项目4项，发表的国内外学术论文10余篇及授权专利两项。



产嗜铁素砷抗性微生物在砷污染环境中的作用

夏清强^{1,2}，汪劲松^{1,2}，万进^{1,2}

1 湖北师范大学 生命科学学院，湖北 黄石 435002

2 食用野生植物保育与利用湖北省重点实验室，湖北 黄石 435002

夏清强，汪劲松，万进. 产嗜铁素砷抗性微生物在砷污染环境中的作用. 生物工程学报, 2020, 36(3): 450–454.

Xia QQ, Wang JS, Wan J. Role of siderophore-producing and arsenic-resistant bacteria in arsenic-contaminated environment. Chin J Biotech, 2020, 36(3): 450–454.

摘 要: 在砷污染环境中，许多微生物进化出了砷抗性，对地球环境中砷的命运起着决定性的作用。其次，由于自然条件下铁有效浓度低，微生物一般会表达嗜铁素，协助微生物吸收铁。嗜铁素除了与铁结合外，还可与多种金属离子形成稳定的复合物，促进环境中砷酸盐的溶解和亚砷酸盐的氧化。最后，产嗜铁素微生物有促进植物生长和促进或减弱植物吸收砷的可能性。因此，产嗜铁素砷抗性微生物可能具有在砷污染环境的修复中发挥作用的潜力。

关键词: 嗜铁素，砷生物地球化学循环，砷污染修复，生物修复

Role of siderophore-producing and arsenic-resistant bacteria in arsenic-contaminated environment

Qingqiang Xia^{1,2}, Jinsong Wang^{1,2}, and Jin Wan^{1,2}

1 College of Life Sciences, Hubei Normal University, Huangshi 435002, Hubei, China

2 Hubei Key Laboratory of Edible Wild Plants Conservation & Utilization, Huangshi 435002, Hubei, China

Abstract: Arsenic-resistant microorganisms are abundant in surface and near-surface arsenic-contaminated environment,

Received: December 11, 2019; **Accepted:** February 16, 2020

Corresponding author: Jinsong Wang. E-mail: wangjinsong@email.hbnu.edu.cn

substantially affecting the fate and transport of arsenic in the environment. Siderophores produced by microorganisms under iron-limiting conditions have high affinity for ferric iron and enhance the uptake of iron to the microorganisms. Siderophores help sequester Fe, which is needed to activate AsIII oxidase as Fe is unavailable at physiological pH. Although the principal role of siderophores is to chelate ferric iron, they can also chelate wide array of toxic metals. Inoculation of plants with siderophore-producing bacteria has been found to either promote or reduce heavy metal uptake. Therefore, the siderophore-producing and arsenic-resistant bacteria might have the potential in the remediation of arsenic contamination environment.

Keywords: siderophore, arsenic biogeochemical cycle, arsenic remediation, bioremediation

随着工业和农业的发展,越来越多地区受到砷等重金属的污染,对环境质量产生了严重影响^[1-2]。2014年环境保护部和国土资源部对全国土壤污染状况调查显示全国土壤总超标率为16.1%,其中砷超标率为3%,在重金属污染中排在前5位。砷属于一类致癌物质,可以影响机体的生化反应,三价砷可以与蛋白质巯基结合,五价砷可以取代生化反应中的磷酸盐,从而破坏ATP^[3]的形成。

砷在地球化学环境中的命运主要是由微生物活动决定的^[4]。深入研究砷的微生物地球化学循环非常有利于开发高效的砷污染修复技术。在植物修复中,砷对植物的毒害作用较大,砷污染环境下植物的生物量一般较小,砷富集量低,严重影响修复效率。因此可表达金属有机配体且促进植物生长的耐砷微生物非常具有研究价值。嗜铁素(Siderophore)就是一类金属有机配体,对Fe³⁺有高亲和作用的水溶性小分子化合物,可以防治某些植物病原菌和促进植物生长。且嗜铁素可以与多种金属结合(如Cu、Ni、Mn、Co、Zn、Hg、Ag、Al、Cd、Pb、As、Fe等)^[5-6]。因此,产嗜铁素砷抗性微生物可能具有在砷污染环境的修复中发挥作用的潜力。

这篇综述的目的是简要阐述产嗜铁素抗砷微生物在砷污染环境中的作用及其在砷污染修复中的应用潜力。希望本综述可以为开发砷污染修复的微生物修复技术和农业用地土壤改良剂或重金属隔离剂提供一些思路。

1 微生物的砷生物地球化学循环

微生物是促使砷在地表环境中循环的主要因素,它们通过多种机制与砷相互作用,包括吸附-解吸、沉淀-溶解、氧化-还原和甲基化-去甲基化等活动影响着砷在环境中的命运^[4]。微生物细胞和砷之间直接相互作用的潜在途径,包括物理捕获和生物转化。某些微生物具有砷趋化作用,可吸附在砷矿石上,捕获环境中的砷,将砷隔离。在微生物细胞密度很高时,由于细胞表面官能团竞争和细胞表面吸附,可能已经改变了砷与矿物表面的吸附亲和力,使砷在环境中的流动性加强或减弱。生物转化是砷生物地球化学循环的主要驱动力。环境中的砷转化主要是生物驱动的,非生物转化过程非常缓慢,如硫化物对五价砷的还原作用在动力学上远远慢于微生物对五价砷的还原作用,因此砷的非生物转化被认为不如微生物介导的还原作用重要。许多元素的生物转化过程会影响砷的流动性,如Fe、S、Mn等元素的微生物转化过程一般会提高砷在自然界中的流动性。砷的还原和甲基化会提高砷的流动性,而氧化和去甲基化则降低砷的流动性。

2 产嗜铁素微生物

2.1 嗜铁素

硅酸盐矿物是地球表面生物活动所需的无机营养元素(如钙、钾和铁)储存库。在自然环境中,Fe²⁺易被氧化成Fe³⁺,自然pH下易沉淀,生物不可利用^[7]。然而,由于铁的氧化还原特性,可以参

与电子传递 (呼吸链、光合作用和 Fe-S 蛋白等), 使其成为许多生物的必要元素。为提高铁的生物可利用浓度, 许多生物以表达有机配体 (嗜铁素) 来促进铁的溶解^[8-9]。

根据嗜铁素螯合基团结构的差异可将其分为 4 类: 异羟肟酸型, 有 1 个 N-羟基鸟氨酸基团, 氧原子作为 Fe^{3+} 的配体; 儿茶酚型, 有 1 个儿茶酚基团, 其苯环上相邻的 2 个羟基作为 Fe^{3+} 的配体; α -羟基羧酸型, 是以羧基和羟基作为 Fe^{3+} 的螯合基团; 混合型, 是含有两类或两类以上上述基团。如多数假单胞菌能产生的一种复合缩氨酸并具有黄绿色荧光特性的嗜铁素 (Pyoverdine), 其同时具有异羟肟酸型、儿茶酚型及羧酸型嗜铁素的特征, 对铁有极高的亲和力^[10]。虽然嗜铁素的主要作用是螯合三价铁, 但它们也可以与多种金属结合形成稳定复合物, 在重金属污染样品的解毒中发挥重要作用^[5,11]。

2.2 嗜铁素对砷化学循环的影响

嗜铁素的表达一般受铁的调控。对铁敏感的 Fur 调节因子与 Fe^{2+} 结合后会调控参与嗜铁素胞内合成、膜间成熟、跨膜转运的蛋白基因的表达, 从而调节嗜铁素的表达和运输及载铁嗜铁素的转运^[12]。除铁离子会调控嗜铁素表达之外, 某些重金属也会影响嗜铁素的表达。在 Cd 污染环境中嗜铁素的相对表达量会增加^[13]。这可能是因为其他重金属和铁离子竞争与嗜铁素作用, 减少了载铁嗜铁素的形成, 铁离子进入细胞的量很少, 微生物仍然处于缺铁状态, 故进一步刺激嗜铁素表达。

砷污染环境中, 许多砷耐受菌会表达嗜铁素, 如气单胞菌 *Aeromonas* sp.^[14]、绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*^[15]、荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens*^[11,16]、假单胞菌 *Pseudomonas* sp.^[17]。在产嗜铁素微生物的作用下, 土壤中的矿物会被溶解, 如嗜铁素与水铁矿、雄黄矿等的铁螯合, 将铁矿石溶解, 同时吸附在矿石上的砷酸盐被释放出来^[14,18]。其次, 砷氧化酶

的激活需要 Fe^{3+} , 因此嗜铁素可以促进环境中的亚砷酸盐氧化成砷酸盐, 而砷酸盐又易被环境中的矿物吸附固定^[16]。另外, 嗜铁素也会通过其他元素间接影响微生物的砷还原^[14]。所以, 嗜铁素在砷生物地球化学循环中有重要作用, 参与维持环境中砷酸盐的动态平衡。

3 砷污染的微生物修复

环境砷污染修复主要目的就是恢复环境原有功能和作用, 使其重新具备原有利用价值。微生物修复包含生物富集和生物转化两大类。生物富集主要表现在胞外络合、沉淀以及胞内累积。微生物对重金属的生物转化主要指微生物对重金属进行溶解、生物氧化与还原、矿化、甲基化与去甲基化以及改变重金属价态以达到改变重金属形态、降低重金属毒性的目的。利用微生物在砷生物地球化学循环中的作用, 根据微生物对砷的物理隔离和生物转化, 发现有许多可用于砷污染修复的微生物。如, Yang 等使用伯克霍尔德氏菌 *Burkholderia* sp. Z-90 发酵液对重金属污染土壤进行生物淋滤, 砷的去除率为 31.6%。这是因为 Z-90 可以分泌生物表面活性剂, 能与重金属污染矿物形成稳定的金属络合物, 将固定的固相砷转化为可流动的液态砷^[19]。Nair 等的研究表明, 使用微生物产的嗜铁素对砷污染土壤进行 5 次洗涤, 可除去土壤中 92.8% 的砷^[15]。

4 产嗜铁素抗砷菌在植物修复中的作用

植物修复技术主要包含 6 种类型: 根际过滤、植物萃取、根际修复、植物稳定、植物挥发、植物转化等技术。如陈同斌等发现蜈蚣草对砷有超富集的现象, 在砷污染环境的修复方面有良好的应用前景^[20-21]。植物修复能在原位修复生态环境, 可以在不改变土壤生物活性和土壤结构的情况下, 通过植物的根系直接将大量的重金属元素吸收, 通过植物地上部分的收获来修复被污染土壤。

但是植物富集土壤中重金属的效率低,常见的重金属超富集植物生物量较小、植株矮小、生长周期长,这就造成了植物修复的实际应用价值低,是制约植物修复技术发展的瓶颈。重金属抗性根际微生物可以促进植物生长,加大重金属富集量,提高植物修复效率^[22]。因此重金属抗性根际微生物常被用来与植物联合修复重金属污染。

嗜铁素作为一种植物促生因子,可以提高植物吸收营养的效率,促进植物生长。Jeong 等通过盆栽试验,研究了嗜铁素作为微生物铁螯合剂对蕨类植物吸收砷的影响^[6]。大叶井边草分别在嗜铁素和 EDTA 处理的土壤中生长期 10 周后,嗜铁素处理的大叶井边草的砷含量 (5.62 mg/g (As/plant)) 是 EDTA 处理的 (1.51 mg/g (As/plant)) 3.7 倍。因此,产嗜铁素微生物可以促进砷从环境中向某些植物细胞内流动,故产嗜铁素微生物可以作为联合修复中一种潜在菌株。

另外,产嗜铁素重金属抗性微生物也可作为土壤调理剂或重金属隔离剂,阻断重金属在经济作物或农产品上富集。目前还没有发现关于产嗜铁素砷抗性微生物在这一方面的应用。但是有产嗜铁素镉耐受菌在这方面的研究报道,如 Tripathi 等使用产嗜铁素镉抗性的恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* KNP9 可以使绿豆在镉污染土壤下的镉富集量减少^[23], Ganesan 使用产嗜铁素镉抗性的 *Pseudomonas aeruginosa* MKRh3 可以使黑豆科植物生长势增强,生根粗大,且镉富集量减少^[24]。这可能是因为嗜铁素可与镉相互作用,使镉性质发生改变,阻断镉进入植物的通道,或者镉改变嗜铁素的微结构,使之没有相应的受体,最终降低植物的镉富集量。产嗜铁素微生物对植物重金属的吸收是促进还是减弱取决于植物、微生物和重金属之间的相互作用^[25]。

5 总结与展望

产嗜铁素微生物在砷的地球环境命运中起着

重要作用。一方面,微生物本身是砷生物转化的主要动力,其中微生物表达的嗜铁素也可以参与砷的地球化学循环。另一方面,微生物可以促进植物生长,提高砷富集量,为提高微生物-植物修复效率提供了可能。

虽然微生物转化可能有助于将固相的砷释放到流动相中变成气态或液态,但对后续可流动砷的去除或处理没有很好的方法。相比之下将微生物直接作为土壤调理剂,改变土壤理化性质,使砷矿化或将砷吸附固定,操作更简单,处理成本更低。另外,嗜铁素可以降低镉在某些植物中的含量,那么是否存在在产嗜铁素微生物作用下砷富集量减少的植物呢?若存在的话,产嗜铁素微生物就可作为砷进入植物果实的隔离剂,使砷污染土壤重新变得有经济价值。因此,对植物、细菌和重金属的相互作用开展更广泛和深入的研究,有利于开发更多可以用于土壤改良剂或重金属隔离剂的微生物-植物组合,可能有助于开发高效的重金属污染处理办法,提高砷污染修复效率,使其可与非生物方法相媲美。

REFERENCES

- [1] Yan Y, Wang YP, Sun XY, et al. Optimizing production of hydroxyapatite from alkaline residue for removal of Pb^{2+} from wastewater. *Appl Surf Sci*, 2014, 317: 946–954.
- [2] Liang JH, Liu PP, Chen Z, et al. Rapid evaluation of arsenic contamination in paddy soils using field portable X-ray fluorescence spectrometry. *J Environ Sci*, 2018, 64: 345–351.
- [3] Simeonova DD, Lièvremon D, Lagarde F, et al. Microplate screening assay for the detection of arsenite-oxidizing and arsenate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 2004, 237(2): 249–253.
- [4] Huang JH. Impact of microorganisms on arsenic biogeochemistry: a review. *Water Air Soil Pollut*, 2014, 225(2): 1848.
- [5] Patel PR, Shaikh SS, Sayyed RZ. Modified chrome azurol S method for detection and estimation of siderophores having affinity for metal ions other

- than iron. *Environ Sustainabil*, 2018, 1(1): 81–87.
- [6] Jeong S, Moon HS, Nam K. Enhanced uptake and translocation of arsenic in Cretan brake fern (*Pteris cretica* L.) through siderophore-arsenic complex formation with an aid of rhizospheric bacterial activity. *J Hazard Mater*, 2014, 280: 536–543.
- [7] Saha M, Sarkar S, Sarkar B, et al. Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23(5): 3984–3999.
- [8] Liang JG, Hao ZN, Wang LP, et al. Research progress on the function of siderophore. *Chin Agric Sci Bull*, 2011, 27(5): 284–287 (in Chinese).
梁建根, 郝中娜, 王连平, 等. 嗜铁素功能研究概述. *中国农学通报*, 2011, 27(5): 284–287.
- [9] Wang W, Xiao M. Siderophore-mediated iron uptake of microorganisms. *J Biol*, 2005, 22(4): 11–13, 15 (in Chinese).
王伟, 肖明. 微生物嗜铁素介导的铁摄取. *生物学杂志*, 2005, 22(4): 11–13, 15.
- [10] Liu YP. Purification of siderophore produced by rhizobacteria and its role in plant growth promotion[D]. Ji'nan: Shandong Normal University, 2012 (in Chinese).
刘艳萍. 植物根际促生菌嗜铁素的纯化及其促生机制的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2012.
- [11] Ghosh P, Rathinasabapathi B, Ma LQ. Phosphorus solubilization and plant growth enhancement by arsenic-resistant bacteria. *Chemosphere*, 2015, 134: 1–6.
- [12] Ringel MT, Brüser T. The biosynthesis of pyoverdines. *Microb Cell*, 2018, 5(10): 424–437.
- [13] Singh A, Kaushik MS, Srivastava M, et al. Siderophore mediated attenuation of cadmium toxicity by paddy field cyanobacterium *Anabaena oryzae*. *Algal Res*, 2016, 16: 63–68.
- [14] Uhrynowski W, Debiec K, Sklodowska A, et al. The role of dissimilatory arsenate reducing bacteria in the biogeochemical cycle of arsenic based on the physiological and functional analysis of *Aeromonas* sp. O23A. *Sci Total Environ*, 2017, 598: 680–689.
- [15] Nair A, Juwarkar AA, Singh SK. Production and characterization of siderophores and its application in arsenic removal from contaminated soil. *Water Air Soil Pollut*, 2007, 180(1/4): 199–212.
- [16] Ghosh P, Rathinasabapathi B, Teplitski M, et al. Bacterial ability in AsIII oxidation and AsV reduction: relation to arsenic tolerance, P uptake, and siderophore production. *Chemosphere*, 2015, 138: 995–1000.
- [17] Drewniak L, Matlakowska R, Rewerski B, et al. Arsenic release from gold mine rocks mediated by the activity of indigenous bacteria. *Hydrometallurgy*, 2010, 104(3/4): 437–442.
- [18] Liu X, Fu JW, Da Silva E, et al. Microbial siderophores and root exudates enhanced goethite dissolution and Fe/As uptake by As-hyperaccumulator *Pteris vittata*. *Environ Pollut*, 2017, 223: 230–237.
- [19] Yang ZH, Zhang Z, Chai LY, et al. Bioremediation of heavy metal-contaminated soils using *Burkholderia* sp. Z-90. *J Hazard Mater*, 2016, 301: 145–152.
- [20] Xie JQ, Lei M, Chen TB, et al. Phytoremediation of soil co-contaminated with arsenic, lead, zinc and copper using *Pteris vittata* L.: A field study. *Acta Sci Circumst*, 2010, 30(1): 165–171 (in Chinese).
谢景千, 雷梅, 陈同斌, 等. 蜈蚣草对污染土壤中 As、Pb、Zn、Cu 的原位去除效果. *环境科学学报*, 2010, 30(1): 165–171.
- [21] Chen TB, Wei CY, Huang ZC, et al. Cretan brake (*Pteris cretica* L.): an arsenic-accumulating plant. *Chin Sci Bull*, 2002, 47(3): 207–210 (in Chinese).
陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春, 等. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的富集特征. *科学通报*, 2002, 47(3): 207–210.
- [22] Ma Y, Prasad MNV, Rajkumar M, et al. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(2): 248–258.
- [23] Tripathi M, Munot HP, Shouche Y, et al. Isolation and functional characterization of siderophore-producing lead-and cadmium-resistant *Pseudomonas putida* KNP9. *Curr Microbiol*, 2005, 50(5): 233–237.
- [24] Ganesan V. Rhizoremediation of cadmium soil using a cadmium-resistant plant growth-promoting rhizopseudomonad. *Curr Microbiol*, 2008, 56(4): 403–407.
- [25] Sharma RK, Archana G. Cadmium minimization in food crops by cadmium resistant plant growth promoting rhizobacteria. *Appl Soil Ecol*, 2016, 107: 66–78.

(本文责编 陈宏宇)