

微生物铬转化和抗性机制与生物修复研究进展

夏险 李明顺 武士娟 王革娇*

(华中农业大学生命科学技术学院 农业微生物学国家重点实验室 湖北 武汉 430070)

摘要: 铬(Chromium, Cr)是过渡金属元素, 在自然界中以六价[CrO₄²⁻, Cr₂O₇²⁻, Cr(VI)]和三价[Cr(OH)₃, Cr(III)]为主。很多微生物在长期铬胁迫的条件下, 进化出了一系列铬转化和抗性机制。微生物对铬的转化包括 Cr(VI)的还原和 Cr(III)的氧化。微生物的 Cr(VI)还原可以将毒性强的六价铬转化为毒性弱或无毒的三价铬, 这类微生物有较强的土壤和水体铬污染治理潜力。Cr(III)的氧化也在铬的生物地球化学循环过程中起着至关重要的作用。除了 Cr(VI)的还原, 微生物对铬的抗性机制还有: (1) 减少摄入; (2) 外排; (3) 清除胞内氧化压力; (4) DNA 修复。本文主要介绍微生物的铬转化和抗性机制, 以及其在铬污染生物修复中应用的最新研究进展。

关键词: 铬, 铬酸盐, 铬抗性, 铬还原细菌, 铬污染, 生物修复

Research progress in microbial chromium-transformation and resistance and bioremediation

XIA Xian LI Ming-Shun WU Shi-Juan WANG Ge-Jiao*

(State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: Chromium is a transitional metal mainly existing as hexavalent [CrO₄²⁻, Cr₂O₇²⁻, Cr(VI)] and trivalent [Cr(OH)₃, Cr(III)] forms in the natural environment. Several microorganisms have evolved various transformation and resistant mechanisms for chromium detoxification to resist the poisonous chromium. Microbial chromium-transformation contain Cr(VI) reduction and Cr(III) oxidation. Chromate-reducing microbes can transform high toxic Cr(VI) to low or non-toxic Cr(III). These microbes show a big potential to bioremediate chromium-contaminated soil and water. In addition, various microbes have been reported to participate in Cr(III) oxidation. These microorganisms play a key role in the chromium transformation and biogeochemical cycle. So far, four microbial chromium-resistant mechanisms have been found including: (1) reducing the uptake of Cr(VI); (2) Cr(VI) efflux; (3) removing intracellular oxidative stress; and (4) DNA repair. This review mainly focuses on summarizing the molecular mechanisms and new research progress in

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0800702)

*Corresponding author: Tel: 86-27-87281261; E-mail: gejiao@mail.hzau.edu.cn

Received: December 26, 2016; Accepted: January 20, 2017; Published online (www.cnki.net): January 20, 2017

基金项目: 国家重点研发计划项目(No. 2016YFD0800702)

*通讯作者: Tel: 86-27-87281261; E-mail: gejiao@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2016-12-26; 接受日期: 2017-01-20; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-01-20

chromate transformation and bioremediation of chromium contamination by microorganisms.

Keywords: Chromium, Chromate, Chromium resistance, Chromate-reducing bacteria, Chromium contamination, Bioremediation

铬是一种过渡金属元素, 位于元素周期表的第六副(VIB)族, 原子序数为 24。铬在自然界中稳定存在的化学形态主要是 Cr(III)和 Cr(VI)。微量的 Cr(III)在人体中有降低血糖、降低胆固醇、促进氨基酸吸收等作用, 但过量有毒^[1]。Cr(VI)一般以 CrO_4^{2-} 和 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 形式存在, 难以吸附或沉淀, 对生物体有较强的毒害作用。铬对生物体的毒害作用主要体现在以下四个方面^[2]: (1) Cr(VI)具有强氧化性, 对皮肤、眼睛、呼吸道等具有直接的腐蚀和刺激作用; (2) Cr(VI)进入细胞后被还原时会产生大量的活性氧, 导致 DNA 损伤进而诱发畸变、癌变; (3) Cr(V)和 Cr(III)与 DNA 的碱基和磷酸基团都有较强的亲和力, 可与 DNA 形成 Cr-DNA 复合体干扰 DNA 的复制、转录; (4) 细胞内被还原的 Cr(III)可以与酶的羧基或巯基反应而导致酶的结构和活性发生变化。Cr(III)容易形成难溶且易吸附和沉淀的氢氧化物和氧化物, 较之 Cr(VI)降低了生物有效性, 起到了钝化的作用^[3]。因而, 将高毒的 Cr(VI)还原成 Cr(III)是铬污染的修复方式之一, 也使铬还原型微生物在铬污染修复方面具有较好的应用前景。

由于铬在电镀、鞣革、钢铁、汽车制造、木材加工等现代工业中应用广泛, 使得封存在矿石中的铬在水体和土壤中大量积累^[4]。我国目前有 25 家铬盐生产的企业, 年产值超过 30 万 t^[5-6]。铬盐生产过程中积累的铬渣含量已超过 600 万 t, 而且以每年 60 万 t 的排放量在增加^[5-6]。据统计, 受铬污染的土壤已达 1 250–1 500 万 t^[6]。对铬污染的土壤和水体进行修复已刻不容缓。生物修复是铬污染的修复方式之一, 具有廉价、环保等特点^[7]。目前, 细菌、霉菌、酵母菌等微生物生均被报道出有 Cr(VI)的还原和抗性能力^[8]。这些微生物长期处在铬污染环境中, 进化出了相应的铬转化和抗性机制。本文旨在综述微生物对 Cr(VI)的转化和抗性机制, 并介绍了利用微生物技术进行铬污染修复的研究现状。

1 Cr(VI)的还原

将高毒的 Cr(VI)还原成 Cr(III)是微生物在铬酸盐环境中很重要的解毒机制之一(图 1)。目前, 芽孢杆菌、(类)希瓦氏菌、大肠杆菌、产碱杆菌、放线菌、蓝细菌等细菌, 酵母菌、霉菌等真菌都被发现有 Cr(VI)还原能力^[8-14]。微生物的 Cr(VI)还原按微生物的需氧情况, 可分为好氧还原和厌氧还原; 按还原的空间位置, 可分为胞外还原和胞内还原; 按是否直接有酶的参与, 可分为酶促还原和非酶促还原。

1.1 好氧 Cr(VI)还原

好氧还原一般可以分为胞外还原和胞内还原。胞外还原能将 Cr(VI)抵挡在细胞外, 避免了摄入和外排的能量消耗, 也避免了 DNA 的损伤, 而且被还原的 Cr(III)被细胞壁上的肽聚糖或胞外多聚物(EPS)吸附后还能帮助抵御不良影响^[2]。好氧胞外还原主要包括分泌到胞外的还原酶的酶促还原、细胞表面活性基团的化学还原、细胞膜偶联的酶促还原。分泌至胞外的铬酸盐还原酶已在酵母菌 *Candida utilis* M20 和 *Candida maltosa* RRI 中被发现^[15]。*C. maltosa* RRI 的胞外铬酸盐还原酶利用 NADH 为电子供体还原 Cr(VI)至 Cr(III)^[9]。但是, 这些胞外的铬酸盐还原酶还没有被分离和鉴定, 有待进一步深入的研究。细胞壁上的表面活性基团如羧基、巯基、羟基、氨基、磷酸基团等可以与铬发生络合、还原、离子交换、吸附等反应起到解毒作用^[3,15]。在 *Thermus scotoductus* SA-01 中, 细胞膜上的二氢硫辛酰胺脱氢酶也被报道可以使用 NAD(P)H 作为电子供体还原 Cr(VI), 而且更偏向于使用 NADH^[8]。另外, 在 *Bacillus* sp. MSM1 和 *Serratia proteamaculans* CRB1 中也发现了膜偶联的铬酸盐还原酶, 但是还没有被进一步鉴定^[8]。

胞内还原则主要依赖一些可溶性还原酶和不依赖酶的还原性物质^[3]。胞内还原是好氧细菌进行 Cr(VI)还原的主要方式之一。细胞内的还原主要由

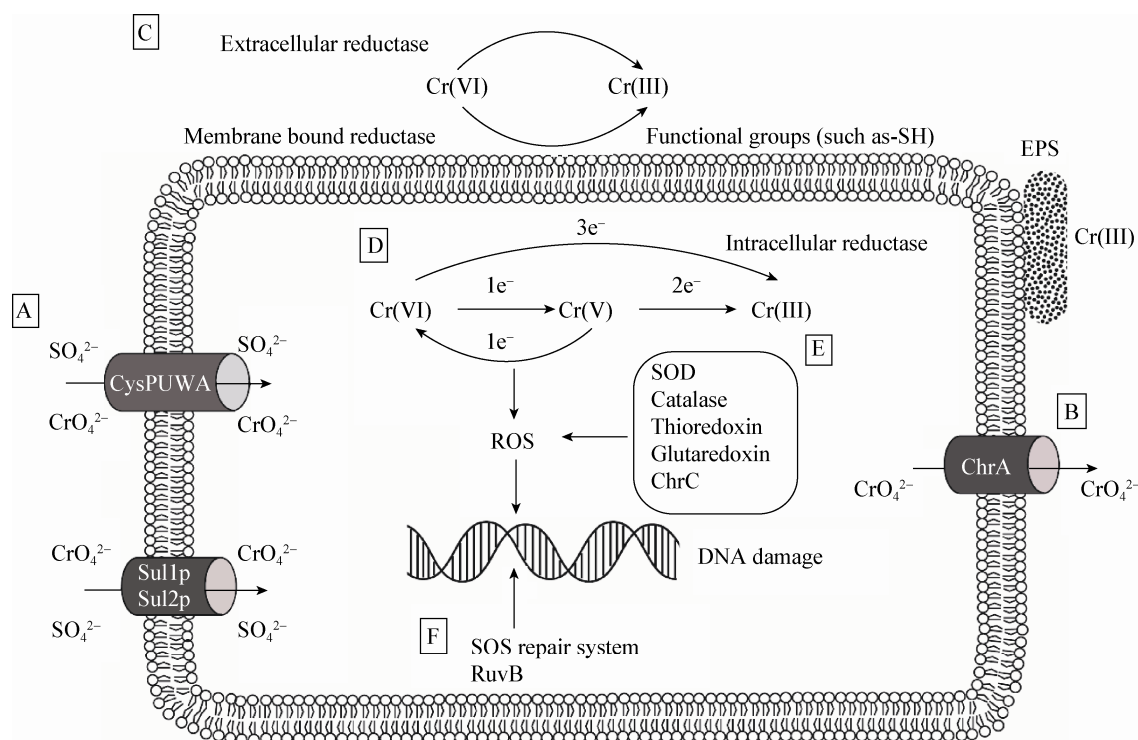


图 1 微生物铬酸盐抗性和还原机制

Figure 1 Microbial mechanism of chromate resistance and reduction

注: [A]: $\text{SO}_4^{2-}/\text{CrO}_4^{2-}$ 通道蛋白下调; [B]: CrO_4^{2-} 外排; [C]: 胞外(分泌至胞外的还原酶、膜偶联还原酶和功能基团)还原; [D]: 胞内还原; [E]: 降低胞内氧化压力; [F]: DNA 修复。

Note: [A]: Down regulation of $\text{SO}_4^{2-}/\text{CrO}_4^{2-}$ transport protein; [B]: Efflux CrO_4^{2-} ; [C]: Extracellular (extracellular reductase, membrane bound reductase and functional groups) reduction; [D]: Intracellular reduction; [E]: Protect against intracellular oxidative stress; [F]: DNA repair.

一些可溶性还原酶介导,而在这些可溶蛋白中又以黄素蛋白为主。黄素蛋白以 FMN 或 FAD 为辅基,参与电子传递时先将 NAD(P)H 上的电子转移到辅基上,再传递给 Cr(VI)^[16]。*P. putida* F1 中的 ChrR, *Enterobacter coli* AMS6 中的 YieF, *Paracoccus denitrificans* CCM 982 中的 FerB, *Pseudomonas ambigua* G-1 中的 NfsA 等蛋白都是具有 Cr(VI)还原功能的黄素蛋白(表 1)。而且,在其他细菌中这些蛋白的同源蛋白也都具有类似的 Cr(VI)还原功能^[2]。在这些还原酶中,ChrR 和 YieF 研究得较为清楚。ChrR 和 YieF 均是同源二聚体蛋白,都可以使用 NAD(P)H 作为电子供体^[19]。但是,ChrR 使用 NADH 做为电子供体时还原效率比使用 NADPH 更高,而 YieF 使用 NADH 和 NADPH 还原时没有差别^[19]。ChrR 还原 Cr(VI)时分两步,先转移 1 个电子形成

Cr(V),再转移 2 个电子还原成 Cr(III)^[3,9,19]。Cr(V)极不稳定,会被氧化成 Cr(VI),释放出 1 个电子。由 Cr(VI)转变成 Cr(V),再由 Cr(V)转变成 Cr(VI)会形成一个小循环,这个过程会生成大量的 ROS^[3,9,19]。YieF 则是经过一步,直接转移 4 个电子,3 个电子转移给 Cr(VI)生成 Cr(III),1 个转移给 O_2 生成 ROS^[3,9,19]。相对 ChrR, YieF 还原 Cr(VI)产生的 ROS 少,对微生物解毒更有利。另外,ChrR 和 YieF 的底物特异性也不一样。YieF 除了可以还原 Cr(VI),还可以还原其他的高价态金属如 V(V)和 Mo(VI),但 ChrR 不能^[19]。目前已被鉴定的铬酸盐还原酶主要在细胞内,详见表 1。但仍有很多高效铬酸盐还原菌中的胞内还原酶有待进一步的分离鉴定,如 *Pseudomonas* sp. G1DM21、*Providencia* sp. UTDM314、*Streptomyces griseus* NCIM 2020^[24]。

表 1 微生物铬还原酶
Table 1 Chromate reductase of microbe

酶 Enzyme	细胞定位 Location in cell	来源 Source	参考文献 Reference
ChrR	细胞质	<i>Pseudomonas putida</i> F1, <i>E. coli</i> K12	[17-18]
YieF	细胞质	<i>E. coli</i> K12	[19]
FerB	细胞质	<i>Paracoccus denitrificans</i> CCM 982	[20]
NfsA	细胞质	<i>Pseudomonas ambigua</i> G-1, <i>Vibrio harveyi</i> KCTC 2720, <i>E. coli</i> DH5 α	[3]
NfsB	细胞质	<i>E. coli</i> DH5 α	[3]
NemA	细胞质	<i>E. coli</i> W3110	[3]
AzoR	细胞质	<i>E. coli</i> W3110	[3]
Frp	细胞质	<i>Vibrio harveyi</i> ATCC 33843	[3]
YcnD	细胞质	<i>Bacillus subtilis</i> 168	[3]
Cytochrome c_3	细胞质	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> ATCC 29579	[21]
Cytochrome c_{548}	细胞膜	<i>Enterobacter cloacae</i> HO1	[22]
MtrC	细胞膜	<i>Shewanella oneidensis</i> MR1	[23]
OmcA	细胞膜	<i>Shewanella oneidensis</i> MR1	[23]

除了酶促的 Cr(VI)还原,在细胞内微生物还可以利用一些还原性物质进行非酶促反应还原。如微生物在铬胁迫条件下诱导产生或细胞本底产生的抗坏血酸、谷胱甘肽、过氧化氢、半胱氨酸等都可以还原 Cr(VI),这些也是微生物对 Cr(VI)的解毒反应^[3,25]。这些还原性的物质会随着细胞的代谢进入不同的细胞部位进行 Cr(VI)还原,但一般还是以在胞内为主。

1.2 厌氧 Cr(VI)还原

厌氧还原也可以分为胞外还原和胞内还原。目前已经报道的厌氧胞外还原主要由细胞膜介导。Cr(VI)可以代替 O₂ 作为最终的电子受体, Cr(VI)的还原可以伴随有机物的氧化和能量的产生^[3]。厌氧的 Cr(VI)还原酶最先在 *Enterobacter cloacae* HO1 中被发现^[22]。Cr(VI)可作为细胞膜上 Cytochrome c 的最终电子受体^[22]。随后, *Shewanella oneidensis* MR-1 的细胞色素蛋白 MtrC 和 OmcA 也被报道可以还原 Cr(VI)^[23]。在 *S. oneidensis* MR-1 中 NADH 的电子在内膜上经过 NADH 脱氢酶、泛醌传递到 CymA,再由 CymA 传递给内膜和外膜之间的 MtrA,然后传递至外膜的 MtrB。外膜上的 MtrB 则将电子传递给 MtrC 和 OmcA,最终由 MtrC 和 OmcA 将电子传

递给 Cr(VI)^[23,26]。

此外,部分厌氧菌也可以进行细胞内的酶促还原。在厌氧细菌 *Desulfovibrio vulgaris* ATCC 29579 中,可溶性色素蛋白 Cytochrome c_3 可以利用 H₂ 为电子供体还原 Cr(VI)^[21]。厌氧的非酶促还原主要在硫酸盐还原菌和铁还原菌中被报道。硫酸盐还原菌对 Cr(VI)的还原可以分成 2 步。首先硫酸盐还原菌将 SO₄²⁻还原成 S²⁻,然后 S²⁻或其生成的 HS⁻、H₂S 再去还原 Cr(VI)^[8]。铁还原菌则是先将 Fe³⁺还原成 Fe²⁺,再由 Fe²⁺还原 Cr(VI)^[8]。

2 Cr(III)的氧化

微生物不仅能还原 Cr(VI),也在 Cr(III)的氧化过程中扮演重要的角色。Cr(III)在环境中主要以 Cr(OH)₃ 沉淀或络合态形式存在。Cr(OH)₃ 在 pH 5.5–12.0 条件下可溶性很低,而且其可溶态也容易与腐殖酸、Fe³⁺等物质形成配位键而被络合^[27]。但在 pH 偏酸时, Cr(III)的溶解度会上升^[27]。因而在一般的环境中, Cr(III)的可流动性和生物有效性都很低^[27-28]。一些氧化剂如次氯酸、高锰酸钾、臭氧能将 Cr(III)大量氧化^[29]。在环境中, Cr(III)的氧化只能在有氧或微氧的条件下进行。目前在环境中被报道的 Cr(III)氧化主要由 O₂ 和 MnO₂ 介导。可溶性

氧对 Cr(III) 氧化在环境中基本上可以忽略不计^[28]。土壤中 MnO₂ 对于 Cr(III) 的氧化则受到可溶性 Cr(III) 的浓度、pH、离子强度、锰氧化物的比表面积等因素的限制^[28,30]。目前还没有发现能够直接氧化 Cr(III) 的微生物, 但是由微生物产生的生物锰氧化物 MnO₂ 比表面积较大, 氧化 Cr(III) 的能力比化学合成的 MnO₂ 强^[31-32]。*Pseudomonas putida* MnB1、*Bacillus* sp. SG-1、*Bacillus* sp. WH4 等细菌均能氧化 Mn(II), 生成可以氧化 Cr(III) 的生物锰氧化物^[31-32]。Cr(III) 的氧化不利于铬污染的修复, 因此控制 Cr(III) 的迁移对环境修复也较为重要。就生物地球化学循环而言, Cr(III) 的氧化起着重要的作用。

3 其它铬抗性机制

3.1 Cr(VI) 的摄入

由于 CrO₄²⁻ 与 SO₄²⁻ 的结构比较相似, 因此 CrO₄²⁻ 可以通过 SO₄²⁻ 通道进入细胞。细菌 *Salmonella typhimurium* LT-2 中, CrO₄²⁻ 可以与 SO₄²⁻ 竞争 SO₄²⁻ 转运蛋白^[33]。*Shewanella oneidensis* MR-1、*Pseudomonas putida* F1、*Cupriavidus metallidurans* CH34 中 CrO₄²⁻ 的加入会导致 SO₄²⁻ 代谢相关的基因上调^[9]。酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* W303-1A 中, SO₄²⁻ 转运蛋白 Sul1p/Sul2p

参与 CrO₄²⁻ 转运^[34]。链孢霉菌 *Neurospora crassa* 74-OR23-1A 中, CrO₄²⁻ 的转运也与 SO₄²⁻ 转运通道相关^[35]。然而, 在细菌 *Caulobacter crescentus* CB15N 中, 加入 CrO₄²⁻ 后 SO₄²⁻ 通道相关的基因下调^[36]。这暗示着有的细菌可以通过关闭 SO₄²⁻ 的通道来抵抗 CrO₄²⁻ (图 1)。此外, CrO₄²⁻ 还可能通过钼酸盐、磷酸等盐阴离子通道进入细胞^[9]。

3.2 Cr(VI) 外排

细菌的 Cr(VI) 外排主要由 ChrA 通道蛋白承担 (图 1)。大多数铬抗性细菌中都发现有 ChrA 的编码基因, 而且 *chrA* 基因缺失后会导致 Cr(VI) 的抗性显著下降^[9]。ChrA 蛋白的外排功能已在 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1、*Alcaligenes eutrophus* AE104、*Shewanella* sp. ANA-3 等细菌中被阐明^[9]。*P. aeruginosa* PAO1 中伴随着 NADH 的氧化, ChrA 将胞内的 CrO₄²⁻ 转运至胞外, 该过程可以被能量抑制剂和 SO₄²⁻ 抑制^[37]。这表明, ChrA 除了可以转运 CrO₄²⁻, 还可以转运 SO₄²⁻, 并且转运需要消耗能量。细菌中, ChrA 的基因存在于染色体或质粒上, 一般以 CHR 基因簇的形式存在 (图 2)。*Ochrobactrum tritici* 5bv11 中的 CHR 基因簇 *chrBACF* 研究较为深入。其中, ChrB 是一个负调控因子, 在感应到 CrO₄²⁻ 时

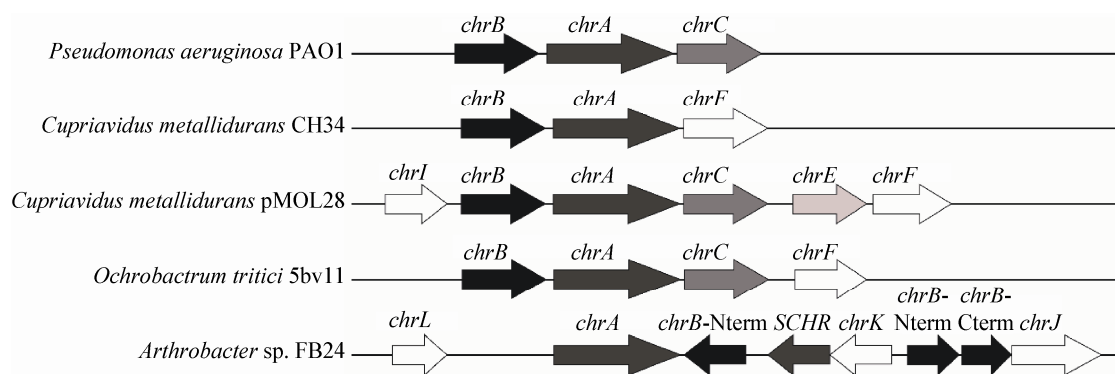


图 2 铬抗性 CHR 超家族基因簇

Figure 2 CHR superfamily gene clusters for chromate resistance

注: *chrB*、*chrA*、*chrC*、*chrE*、*SCHR* 基因分别编码铬酸盐调控因子、铬酸盐外排蛋白、超氧化物歧化酶、裂解 Cr-GSH 复合物功能蛋白、ChrA 同源蛋白^[9,33,38,40]; *chrF*、*chrI*、*chrJ*、*chrK*、*chrL* 在铬酸盐抗性中功能机制未知。

Note: *chrB*, *chrA*, *chrC*, *chrE* and *SCHR* code for chromate sensitive regulator, chromate efflux protein, superoxide dismutase, cleavage of chromium-glutathione complexes protein and ChrA ortholog protein, respectively^[9,33,38,40]; *chrF*, *chrI*, *chrJ*, *chrK* and *chrL*, unidentified function proteins relative to chromium resistance.

上调,但对 Cr(III)和 SO_4^{2-} 不敏感^[38]。*C. metallidurans* CH34 中 pMOL28 质粒上的 ChrB,除了可以感应 Cr(VI),还可以感应 Cr(III),并且感应的能力和 SO_4^{2-} 的含量有关^[9]。*O. tritici* 5bv11 和 *C. metallidurans* CH34 中的 ChrC 则都与超氧化物歧化酶(SOD)有相似的功能^[9]。ChrE 可能具有切开 Cr 与谷胱甘肽的复合物的功能^[38]。ChrF、ChrI、ChrJ、ChrK、ChrL 都与 Cr(VI)的抗性相关,但具体的作用机制尚不清楚^[38-40]。

子囊菌门、担子菌门、壶菌门、接合菌门的真菌中均发现了与 ChrA 同源的蛋白^[41]。其中,子囊菌门的 *N. crassa* 74-OR23-1A 的 CHR-1 研究较为清楚。CHR-1 基因在加入 Cr(VI)后上调^[41]。然而,突变或沉默 CHR-1 后 Cr(VI)抗性反而上升,而且将含有该基因的载体转入酵母菌中反而导致酵母菌的细胞内积累更多的 Cr(VI)^[41]。推测 CHR-1 有摄取 Cr(VI)的功能,可将 Cr(VI)转入到液泡中然后再排出细胞外^[9,41]。

3.3 胞内氧化压力的消除

Cr(VI)进入细胞后会导致胞内产生氧化压力进而损伤细胞。微生物在长期的进化过程中,也产生了相应的机制去应对氧化压力。*Enterobacter cloacae* K12 中的 SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽、硫醇类化合物都能帮助抵抗氧化压力^[42]。*C. crescentus* CB15N 中加入 Cr(VI)会诱导 SOD、谷胱甘肽转移酶、铁氧还原蛋白、谷氧还原蛋白上调^[42]。*C. metallidurans* CH34 的 pMOL28 质粒上的 ChrC 和 ChrE,也与抵抗细胞氧化压力有关^[39,42]。

3.4 DNA 修复

Cr(VI)之所以能导致畸变、癌变,原因之一就是 Cr(VI)进入细胞后产生的氧化压力导致 DNA 突变。微生物体内 DNA 修复相关的酶能减少 DNA 的突变,从而在一定程度上降低 Cr(VI)对细胞的毒害作用。细菌 *S. oneidensis* MR-1 和 *Arthrobacter* sp. FB24 的蛋白质组和转录组研究结果显示,在 Cr(VI)胁迫下与 DNA 重组、复制、修复相关的酶都有所上调^[9]。这表明在 Cr(VI)胁迫下,微生物需要调用

很多机制来保持 DNA 的稳定。SOS 修复系统相关的调控蛋白 LexA 和修复蛋白 RecA 在 *E. coli* K12、*C. crescentus* CB15N、*S. oneidensis* MR-1 等细菌中都与 Cr(VI)抗性相关^[9]。DNA 修复相关的 RecG、RuvB 等基因也与 Cr(VI)的抗性相关^[9,43-44]。

4 Cr(VI)污染的微生物修复

利用微生物进行 Cr(VI)污染治理的原理是:(1)通过微生物将高毒的 Cr(VI)还原成低毒的 Cr(III),Cr(III)主要以 $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 沉淀或络合态存在,降低了铬的毒性、流动性和生物有效性;(2)通过微生物的吸附减少环境中 Cr 的积累。目前国内外已经分离到多种对 Cr(VI)具有还原能力的细菌,且有部分微生物已经投入到 Cr(VI)污染环境的治理实验中。吴淑杭等利用混合菌液修复铬污染土壤,2 d 后 Cr(VI)的转化率为 43%,10 d 后 Cr(VI)的转化率达 75.3%^[45]。苏长青等采用激活有 Cr(VI)还原能力的土著微生物的方法,可在 4 d 内将土壤中 280.0 mg/kg 的 Cr(VI)降至检出限以下^[46]。本研究组在盆栽烟草土壤 Cr(VI) (21.4 mg/kg)污染的修复研究中发现,施用铬还原菌 *Lysinibacillus fusiformis* ZC1 可降低烟草叶部中 53.3%的铬含量,并显著增加烟草根茎叶的干重^[47]。这些铬还原菌将土壤中的 Cr(VI)迅速还原为 Cr(III),降低铬的毒性,进而有效缓解 Cr(VI)胁迫对植物生长的影响^[47]。另外,本研究组分离的一株类希瓦氏菌 *Alishewanella* sp. WH16-1 不仅对 Cr(VI)还原效果好,对 Cd(II)、Pb(II)也有很好的去除能力^[12,48]。该菌对多种重金属混合污染的地区有很好的应用前景。

虽然已有一些微生物应用于铬污染的修复。但是,在环境中大部分微生物的生存能力和代谢活性会受到很大的影响^[25]。因而,近年来本研究团队开发了微生物包埋制剂和微生物胶囊制剂应用到铬污染的水体和土壤治理中。用聚乙烯醇和海藻酸钠包埋后的 *Rhizopus* sp. LG04 和 *Intrasporangium* sp. Q5-1 都有很好的去铬能力,而且具有稳定性强、可重复使用等特点^[14,49]。在铬污染的土壤中,*L. fusiformis* ZC1 制成的微生物胶囊有很好的修复效

果^[50]。此外,很多基于细菌和真菌的生物反应器也在水体的污染治理中取得了很好的效果^[51-52]。

随着越来越多的 Cr(VI)还原酶被发现,遗传改造的微生物也可能在未来 Cr(VI)污染修复的应用中发挥重要的作用^[3,25],但需要保证环境安全。微生物技术针对土壤来说,是污染修复。针对水体来说,可以是部分污染转移。目前针对土壤中的铬污染,主要的手段还是以降低其生物有效性、将其在环境中钝化为主。因为重(类)金属都是以原子的形式存在,无法降解,而且也很难从环境中提取。此外,如果环境条件发生变化,还原态的 Cr 是可以氧化的。比如在酸性条件或有强氧化剂的条件下, Cr(III)氧化可以发生。因此,控制 Cr(III)的迁移对环境修复也较为重要。由于单一的微生物修复很容易受到环境的限制,微生物-植物、微生物-化学、微生物-植物-化学的联合修复也是未来 Cr(VI)污染修复的发展方向^[53-55]。虽然利用微生物进行 Cr(VI)污染的修复有很多的优势,但同时也面临很多挑战。如何根据不同的环境条件去选择合适的微生物?如何让微生物的转化和吸附能力持久稳定地发挥?如何将转化和吸附的铬从环境中提取?如何保持铬还原优势菌和土著微生物的平衡?如何进行潜在的生态风险的评估?这些都是在未来的 Cr(VI)污染微生物修复中亟待解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Pechova A, Pavlata L. Chromium as an essential nutrient: a review[J]. Veterinarni Medicina, 2007, 52(1): 1-18
- [2] O'Brien TJ, Ceryak S, Patierno SR. Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2003, 533(1/2): 3-36
- [3] Thatoi H, Das S, Mishra J, et al. Bacterial chromate reductase, a potential enzyme for bioremediation of hexavalent chromium: a review[J]. Journal of Environmental Management, 2014, 146: 383-399
- [4] Dhal B, Thatoi HN, Das NN, et al. Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: a review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 250-251: 272-291
- [5] Lei YM, Liu X, Sang B. A study on pollution situation at a typical chrome contaminated site[J]. Journal of Environmental Management College of China, 2016, 26(3): 76-79 (in Chinese)
雷艳梅, 刘晓, 桑博. 典型铬污染场地污染状况研究[J]. 中国环境管理干部学院学报, 2016, 26(3): 76-79
- [6] Ma YM, Wang YY, Tan XM, et al. Research progress of Cr(VI) pollution bioremediation[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(22): 176-178 (in Chinese)
马亚梦, 王洋洋, 谭秀民, 等. Cr(VI)污染生物修复研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(22): 176-178
- [7] Wang XW. Research progress of chromium pollution in soil remediation technology[J]. Environment and Sustainable Development, 2014, 39(6): 210-212 (in Chinese)
王晓雯. 土壤中铬污染修复技术研究进展[J]. 环境与可持续发展, 2014, 39(6): 210-212
- [8] Joutey NT, Sayel H, Bahafid W, et al. Mechanisms of hexavalent chromium resistance and removal by microorganisms[A]//Whitacre DM. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology[M]. Switzerland: Springer International Press, 2015: 45-69
- [9] Viti C, Marchi E, Decorosi F, et al. Molecular mechanisms of Cr(VI) resistance in bacteria and fungi[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(4): 633-659
- [10] He MY, Li XY, Guo L, et al. Characterization and genomic analysis of chromate resistant and reducing *Bacillus cereus* strain SJ1[J]. BMC Microbiology, 2010, 10: 221
- [11] He MY, Li XY, Liu HL, et al. Characterization and genomic analysis of a highly chromate resistant and reducing bacterial strain *Lysinibacillus fusiformis* ZC1[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185(2/3): 682-688
- [12] Xia X, Li JH, Liao SJ, et al. Draft genomic sequence of a chromate-and sulfate-reducing *Alishewanella* strain with the ability to bioremediate Cr and Cd contamination[J]. Standards in Genomic Sciences, 2016, 11: 48
- [13] Liu HL, Wang H, Wang GJ. *Intrasporangium chromatireducens* sp. nov., a chromate-reducing actinobacterium isolated from manganese mining soil, and emended description of the genus *Intrasporangium*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62(2): 403-408
- [14] Liu H, Guo L, Liao S, et al. Reutilization of immobilized fungus *Rhizopus* sp. LG04 to reduce toxic chromate[J]. Journal of Applied Microbiology, 2012, 112(4): 651-659
- [15] Liu HL, Huang J, Zhang SZ, et al. Chromate interaction with the chromate reducing actinobacterium *Intrasporangium chromatireducens* Q5-1[J]. Geomicrobiology Journal, 2015, 32(7): 616-623
- [16] Driggers CM, Dayal PV, Ellis HR, et al. Crystal structure of *Escherichia coli* SsuE: defining a general catalytic cycle for FMN reductases of the flavodoxin-like superfamily[J]. Biochemistry, 2014, 53(21): 3509-3519
- [17] Park CH, Keyhan M, Wielinga B, et al. Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 1788-1795
- [18] Eswaramoorthy S, Poulain S, Hienerwadel R, et al. Crystal structure of ChrR-a quinone reductase with the capacity to reduce chromate[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e36017
- [19] Ackerley DF, Gonzalez CF, Park CH, et al. Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 873-882
- [20] Mazoch J, Tesařík R, Sedláček V, et al. Isolation and biochemical characterization of two soluble iron (III) reductases from *Paracoccus denitrificans*[J]. European Journal of Biochemistry, 2004, 271(3): 553-562
- [21] Lovley DR, Phillips EJP. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its *c₃* cytochrome[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(2): 726-728
- [22] Wang PC, Toda K, Ohtake H, et al. Membrane-bound respiratory system of *Enterobacter cloacae* strain HO1 grown anaerobically with chromate[J]. FEMS Microbiology Letters, 1991, 78(1): 11-16
- [23] Belchik SM, Kennedy DW, Dohnalkova AC, et al. Extracellular reduction of hexavalent chromium by cytochromes MtrC and

- OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(12): 4035-4041
- [24] Joutey NT, Bahafid W, Sayel H, et al. Hexavalent chromium removal by a novel *Serratia proteamaculans* isolated from the bank of Sebou River (Morocco)[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(4): 3060-3072
- [25] Cheung KH, Gu JD. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: a review[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, 59(1): 8-15
- [26] Li DB, Cheng YY, Wu C, et al. Selenite reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 is mediated by fumarate reductase in periplasm[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 3735
- [27] Kotaš J, Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation[J]. Environmental Pollution, 2000, 107(3): 263-283
- [28] Apte AD, Tare V, Bose P. Extent of oxidation of Cr (III) to Cr (VI) under various conditions pertaining to natural environment[J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 128(2/3): 164-174
- [29] Lindsay DR, Farley KJ, Carbonaro RF. Oxidation of Cr^{III} to Cr^{VI} during chlorination of drinking water[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2012, 14(7): 1789-1797
- [30] Fendorf SE, Zasoski RJ. Chromium (III) oxidation by δ -manganese oxide (MnO₂). 1. Characterization[J]. Environmental Science & Technology, 1992, 26(1): 79-85
- [31] Miyata N, Tani Y, Sakata M, et al. Microbial manganese oxide formation and interaction with toxic metal ions[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2007, 104(1): 1-8
- [32] He JZ, Meng YT, Zheng YM, et al. Cr (III) oxidation coupled with Mn (II) bacterial oxidation in the environment[J]. Journal of Soils and Sediments, 2010, 10(4): 767-773
- [33] Pardee AB, Prestidge LS, Whipple MB, et al. A binding site for sulfate and its relation to sulfate transport into *Salmonella typhimurium*[J]. Journal of Biological Chemistry, 1966, 241(17): 3962-3969
- [34] Cherest H, Davidian JC, Thomas D, et al. Molecular characterization of two high affinity sulfate transporters in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Genetics, 1997, 145(3): 627-635
- [35] Roberts K R, Marzluf GA. The specific interaction of chromate with the dual sulfate permease systems of *Neurospora crassa*[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1971, 142(2): 651-659
- [36] Hu P, Brodie EL, Suzuki Y, et al. Whole-genome transcriptional analysis of heavy metal stresses in *Caulobacter crescentus*[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(24): 8437-8449
- [37] Alvarez AH, Moreno-Sánchez R, Cervantes C. Chromate efflux by means of the ChrA chromate resistance protein from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(23): 7398-7400
- [38] Branco R, Morais PV. Identification and characterization of the transcriptional regulator ChrB in the chromate resistance determinant of *Ochrobactrum tritici* 5bv11[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e77987
- [39] Juhnke S, Peitzsch N, Hübener N, et al. New genes involved in chromate resistance in *Ralstonia metallidurans* strain CH34[J]. Archives of Microbiology, 2002, 179(1): 15-25
- [40] Henne K L, Nakatsu CH, Thompson DK, et al. High-level chromate resistance in *Arthrobacter* sp. strain FB24 requires previously uncharacterized accessory genes[J]. BMC Microbiology, 2009, 9: 199
- [41] Flores-Alvarez LJ, Corrales-Escobosa AR, Cortés-Penagos C, et al. The *Neurospora crassa* chr-1 gene is up-regulated by chromate and its encoded CHR-1 protein causes chromate sensitivity and chromium accumulation[J]. Current Genetics, 2012, 58(5/6): 281-290
- [42] Ramírez-Díaz MI, Díaz-Pérez C, Vargas E, et al. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds[J]. BioMetals, 2008, 21(3): 321-332
- [43] Decorosi F, Tatti E, Mini A, et al. Characterization of two genes involved in chromate resistance in a Cr (VI)-hyper-resistant bacterium[J]. Extremophiles, 2009, 13(6): 917-923
- [44] Morais PV, Branco R, Francisco R. Chromium resistance strategies and toxicity: what makes *Ochrobactrum tritici* 5bv11 a strain highly resistant[J]. BioMetals, 2011, 24(3): 401-410
- [45] Wang FH, Luo XS, Lin AJ, et al. Progress on microbial remediation of chromium contaminated soil[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(2): 153-161 (in Chinese)
王凤花, 罗小三, 林爱军, 等. 土壤铬(VI)污染及微生物修复研究进展[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(2): 153-161
- [46] Su CQ. Study of microbial Cr(VI) reduction and Cr(III) stabilization in chromium contaminated soil[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2010 (in Chinese)
苏长青. 铬污染土壤中 Cr(VI)的微生物还原及 Cr(III)的稳定性研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2010
- [47] Liao ZX. Bioremediation of chromium by *Lysinibacillus fusiformis* ZC1 and biological compost in pot experiment of chromium contaminated tobacco soil[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese)
廖智星. 梭型赖氨酸芽胞杆菌 ZC1 和生物堆肥对盆栽烟草土壤铬污染的修复研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2014
- [48] Zhou GT, Xia X, Wang H, et al. Immobilization of lead by *Alishewanella* sp. WH16-1 in pot experiments of Pb-contaminated paddy soil[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2016, 227: 339
- [49] Yang J, He M, Wang G. Removal of toxic chromate using free and immobilized Cr (VI)-reducing bacterial cells of *Intrasporangium* sp. Q5-1[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2009, 25(9): 1579-1587
- [50] Huang J, Li JX, Wang GJ. Production of a microcapsule agent of chromate-reducing *Lysinibacillus fusiformis* ZC1 and its application in remediation of chromate-spiked soil[J]. SpringerPlus, 2016, 5: 561
- [51] Nkhambayausi-Chirwa EM, Wang YT. Modeling hexavalent chromium removal in a *Bacillus* sp. Fixed-film bioreactor[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2004, 87(7): 874-883
- [52] de María Guillén-Jiménez F, Netzahualt-Muñoz AR, Morales-Barrera L, et al. Hexavalent chromium removal by *Candida* sp. in a concentric draft-tube airlift bioreactor[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2009, 204(1/4): 43-51
- [53] Wu SC, Cheung KC, Luo YM, et al. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*[J]. Environmental Pollution, 2006, 140(1): 124-135
- [54] Rajkumar M, Nagendran R, Lee KJ, et al. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr⁶⁺ on the growth of Indian mustard[J]. Chemosphere, 2006, 62(5): 741-748
- [55] Du RY, Bai J, Wang SZ, et al. Response of soil microbial community function to chemical-aided remediation of multi-metal contaminated soils using *Jatropha curcas*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31(3): 575-582 (in Chinese)
杜瑞英, 柏珺, 王诗忠, 等. 多金属污染土壤中微生物群落功能对麻疯树-化学联合修复的响应[J]. 环境科学学报, 2011, 31(3): 575-582