

王桢祺,林 华,刘 杰,等.超富集植物青葙根际耐镉、铅、锌菌株的筛选鉴定与特性研究 [J]. 中国环境科学, 2025,45(5):2631-2642.

Wang A Q, Lin H, Liu J, et al. Isolation, identification, and characterization of a strain resistant to cadmium, lead, and zinc from the rhizosphere of hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn [J]. China Environmental Science, 2025,45(5):2631-2642.

超富集植物青葙根际耐镉、铅、锌菌株的筛选鉴定与特性研究

王桢祺¹,林 华^{1,2,3},刘 杰^{1,2},林 毅¹,杨雪萌¹,赖才星¹,董梓涵¹,俞 果^{1,4*} (1.桂林理工大学,广西环境污染控制理论与技术重点实验室,广西 桂林 541006; 2.桂林理工大学,岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心,广西 桂林 541006; 3.桂林理工大学,广西农业面源污染综合治理工程研究中心,广西 桂林 541006; 4.清华大学环境学院,北京 100084)

摘要: 为探究超富集植物根际促生菌的功能特性,从镉超富集植物青葙根际土壤中分离出一株能同时耐高浓度 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的菌株,通过生理生化特性分析、16S rDNA 及 nrdA 功能基因序列分析鉴定其种属,探究了不同培养条件对菌株耐受和去除重金属能力的影响,并评估了该菌株潜在的促生特性.该菌株被鉴定为无色杆菌属(*Achromobacter* sp.),命名为 WL-37. Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺对 WL-37 的最低抑制浓度分别为 600, 1800 和 1000mg/L.通过优化 pH 值、接种量等条件,发现 WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的最佳去除效率分别达到 69%、95%和 62%. WL-37 还具备固氮、产 ACC 脱氢酶和产铁载体等多种促生能力.筛选得到的高效功能菌株为重金属复合污染土壤修复提供了良好的菌种资源,为发展植物-微生物联合修复技术提供了技术支撑.

关键词: 菌株鉴定; 重金属污染; 去除效率; 生物修复; 促生能力

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)05-2631-12

Isolation, identification, and characterization of a strain resistant to cadmium, lead, and zinc from the rhizosphere of hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn. WANG An-qi¹, LIN Hua^{1,2,3}, LIU Jie^{1,2}, LIN Yi¹, YANG Xue-meng¹, LAI Cai-xing¹, DONG Zi-han¹, YU Guo^{1,4*} (1. Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 2. Guangxi Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 3. Guangxi Engineering Research Center of Comprehensive Treatment for Agricultural Non-Point Source Pollution, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 4. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China). *China Environmental Science*, 2025,45(5): 2631-2642

Abstract: This study investigated the functional characteristics of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere soil of *Celosia argentea* Linn., a Cd-hyperaccumulator. A strain with high tolerance to Cd²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺ was isolated. This strain was identified using physiological and biochemical characteristics analysis and sequence analysis of the 16S rDNA and nrdA functional genes. The effects of various culture conditions on the strain's growth and heavy metal removal capabilities, as well as its potential for promoting plant growth were examined. This strain was identified as *Achromobacter* sp., designated WL-37. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of Cd²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺ for strain WL-37 were determined to be 600, 1800, and 1000mg/L, respectively. Under optimized conditions (e.g., pH values and inoculation amounts), the strain achieved maximum removal rates of 69% for Cd²⁺, 95% for Pb²⁺, and 62% for Zn²⁺. Moreover, WL-37 exhibited multiple plant-promoting traits, including nitrogen fixation, ACC deaminase production, and siderophore production. In summary, the high-efficiency strain identified in this study represents a valuable resource for the remediation of multi-metal contaminated soils and supports the development of plant-microbe combined remediation technologies.

Key words: strain identification; heavy metal pollution; removal efficiency; bioremediation; growth-promoting capabilities

镉(Cd)、铅(Pb)、锌(Zn)等重金属污染问题日益严峻^[1-2]. 开发和应用有效的重金属污染修复技术,对于缓解环境压力、保障生态系统健康和人类安全具有重要意义. 重金属污染修复技术主要包括物理化学法和生物修复法. 物理化学法直接且高效,但成本高、容易引发二次污染等问题,限制了这些方法的广泛应用^[3-4]. 相比之下,生物修复技术具有不破坏原场地、能耗低和成本低等优点,在重金属污染修复领域

展现出良好的应用前景^[5]. 生物修复技术主要通过超富集植物和微生物对重金属的吸收、转运和富集等作用,有效降低重金属的浓度或毒性,从而改善生态环境. 重金属的生物有效性以及植物和微生物对

收稿日期: 2024-09-03

基金项目: 国家自然科学基金(52200189,52230006,52070051,32271700); 广西自然科学基金(2021GXNSFBA220055)

* 责任作者, 副教授, yuguo@glut.edu.cn

重金属的代谢能力是决定修复效率的关键^[6]。

目前,已发现多种能够耐受单一重金属的微生物.例如,从污染地区土壤中分离出的肠球菌(*Enterococcus* sp. Cdq4-2)和根瘤菌(*Sinorhizobium* sp. C10)能分别耐受 100mg/L Cd^{2+} 和 125mg/L Zn^{2+} ^[7-8].然而,环境中的重金属污染往往以复合污染为主^[9-10].当前,能够同时耐受和去除多种重金属的微生物种类相对较少,且已知的超富集植物普遍存在生长缓慢和生物量较低等缺陷^[11-12].而施用根际促生菌能够提高超富集植物的生物量和土壤中重金属的有效性,增强植物修复的效率^[13].因此,筛选开发能够耐受复合重金属的根际促生菌株具有重要的现实意义.它们可以通过固氮、产吲哚乙酸(IAA)生长激素、产铁载体和产 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)脱氨酶等途径促进植物生长,提高植物对外界环境胁迫的耐受能力^[14-15].此外,一些具有耐重金属能力的根际微生物还能直接参与重金属的转化,增加土壤中重金属的有效性^[16-17].例如,耐 Cd^{2+} 的青霉菌属菌株(*Penicillium janthinellum* ZZ-2)产生的 IAA 生长激素使百慕大草(*Cynodon dactylon* (L.) Pers.)根部的生长速率和土壤中 Cd^{2+} 的有效态含量显著增加^[18];施加巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)后,青苜蓿根际土壤酶活性和地上部分的 Cd^{2+} 含量显著增加^[19].由此可见,在植物-微生物联合修复体系中,耐重金属的根际促生菌扮演着重要角色.这些细菌通过与植物共生,不仅增强了植物对重金属的耐性,还促进了植物的生长,共同作用于污染土壤的修复过程.

本文从生长于铅锌尾砂矿区的青苜蓿根际土壤中,筛选出一株耐 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 菌株,并对其进行形态学和分子生物学鉴定.研究内容包括评估菌

株对 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的耐受能力和去除能力,并探索优化去除效率的条件.同时,明确了菌株潜在的固氮、产铁载体和产 ACC 脱氨酶等植物促生能力.本文旨在丰富可用于修复镉、铅、锌污染的微生物资源,为植物-微生物联合修复提供潜在的优良菌剂.

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集

供试材料为生长于桂林市阳朔县兴坪镇铅锌矿尾砂库(110°33'37"E,24°58'22"N)的超富集植物青苜蓿的根际土壤.该地区长期受到冲洗矿废水的污染,土壤中的 Cd、Pb 和 Zn 总量均超过国家污染土壤风险管控标准(表 1).土壤采集后,采用富集纯化法分离耐受 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的菌株^[20].

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of tested soil

参数	单位	数值
pH 值	—	6.26±0.21
有机质	%	2.46±0.11
阳离子交换量	cmol/kg	8.71±0.56
总 Cd	mg/kg	4.87±0.27
总 Pb	mg/kg	1580.83±17.56
总 Zn	mg/kg	1175.83±18.56

1.2 培养基的制备

实验所需培养基为:LB 培养基,用于菌株活化及培养;天门冬氨酸培养基,用于菌株产铁载体能力测定;SMS 培养基,用于菌株产 IAA 能力测定;DF、ADF 固体培养基,用于菌株产 ACC 脱氨酶能力测定;Ashby 无氮固体培养基,用于菌株固氮能力测定.具体配方如表 2 所示.

表 2 培养基的制备

Table 2 Preparation of culture medium

培养基	试剂	pH 值
LB 培养基	胰蛋白胨 10g/L,酵母提取物 5g/L,氯化钠 10g/L,固体培养基另加琼脂 10~20g/L	7.0~7.2
天门冬氨酸培养基	酵母提取物 5g/L, L-天门冬氨酸 2g/L, K_2HPO_4 1g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g/L	7.0~7.2
SMS 培养基	蔗糖 10g/L, K_2HPO_4 2g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1g/L, MgSO_4 0.5g/L, 酵母粉 0.5g/L, CaCO_3 0.5g/L, 氯化钠 0.1g/L, L-色氨酸 0.5g/L	7.0~7.2
DF 固体培养基	KH_2PO_4 4g/L, Na_2HPO_4 6g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g/L, 葡萄糖 2g/L, 葡萄糖酸 2mL, 柠檬酸 2g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2g/L, 琼脂 10~20g/L	7.5
ADF 固体培养基	以 3mmol/L ACC 代替 DF 培养基中的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为唯一氮源	7.5
Ashby 无氮固体培养基	KH_2PO_4 0.2g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g/L, 氯化钠 0.2g/L, CaCO_3 5.0g/L, 甘露醇 10g/L, CaSO_4 0.1, 琼脂 10~20g/L	6.8~7.0

1.3 耐复合重金属菌株的分离

取 3g 根际土壤, 在无菌条件下, 于三角瓶中加入无菌水配制成土壤悬液. 将悬液在 37℃、180r/min 条件下振荡培养 30min 后, 对富集后的上清液进行梯度稀释. 从中取 0.1mL 涂布在含有 50mg/L Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的 LB 固体培养基上. 培养 48h 后, 观察到多个形态相似的菌落, 挑取其中的单菌落进行反复划线纯化. 梯度增加重金属浓度并重复以上操作. 直至转接到含 250mg/L Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的 LB 固体培养基时, 菌株的生长受到明显抑制. 挑取该培养基上单菌落在 100mg/L Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的固体 LB 培养基上进行划线纯化. 传代至少 3 次, 直至获得纯菌株, 并保存于 4℃冰箱中. 菌株 WL-37 目前已保存在广东省微生物保藏中心 (GDMCC), 登记号 GDMCC No.24175.

1.4 菌株的鉴定

1.4.1 16S rDNA 基因序列分析 为了确定分离纯化菌株的属种, 进行了 16S rDNA 基因序列比对分析. 首先, 使用 DNA 提取试剂盒 (北京麦克罗科技) 提取细菌 DNA. 随后, 采用细菌通用引物 27F/1492R (27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 (1492R: 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增^[21]. 将获得的 PCR 产物纯化后, 委托北京麦克罗有限公司进行测序. 通过国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库进行比对分析, 利用 MEGA 7.0 软件, 采用邻接法构建相关种的系统发育树, 并进行 1000 次相似度重复计算. 菌株 WL-37 的序列数据已提交至 GenBank 数据库, 登录号为 PP972325.

1.4.2 nrdA 功能基因序列分析 为了获得更高的系统发育分辨率, 进一步对比分析了菌株的 nrdA 功能基因序列. 以细菌 DAN 为模板, 使用细菌通用引物 F/R (F: 5'-ACTGGATCCCGACCTGTTC-3') 和 (R: 5'-TTCGATTTGACGTACAAGTTCTGG-3') 进行 PCR 扩增^[22]. 将获得的 PCR 产物纯化后, 委托北京麦克罗有限公司进行测序. 利用 MEGA7.0 软件, 采用邻接法构建相关种的系统发育树, 并进行 1000 次相似度重复计算.

1.5 菌株生理生化性质测定

为了更好地了解菌株的代谢特征和生理生化特性, 采用革兰氏染色法^[23]进行染色分析并对菌株进行 BIOLOG G3 微孔板检测和 API 20NE 检测,

相关实验耗材购自北京麦克罗科技有限公司. 将接种液加入 G3 微孔板的 96 孔中, 恒温培养 24h. 以孔板中的 A1 阴性对照孔为参照, 孔板中的颜色深浅表明了菌株对底物的可利用或敏感程度, 通过 BIOLOG 系统软件 (Microlog-M, MicroStation) 进行识别^[24]. API 20NE 检测则根据 API 20NE 鉴定手册进行.

1.6 菌株对 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的去除能力

将处于指数生长期的菌液以 1% 的接种量接种到含有单种重金属离子的 LB 培养基中, 其中, Cd²⁺ 的浓度为 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400 和 600mg/L; Pb²⁺ 的浓度为 50, 200, 400 和 600mg/L; Zn²⁺ 的浓度为 50, 200, 400 和 600mg/L. 以不加菌的培养基作为对照, 每个处理重复 3 次. 在 37℃、180r/min 的摇床中培养, 每隔 24h 取样. 取 3mL 的菌液于紫外分光光度计 (上海仪电分析仪器有限公司) 600nm 处检测其吸光度 (OD₆₀₀), 以此确定菌体的浊度 (或浓度). 使用电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES, PerkinElmer Optima 7000DV) 测定培养基中的剩余 Cd²⁺、Pb²⁺ 和 Zn²⁺ 的含量. 监测菌株的生长情况 (24~168h) 和培养基中 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 浓度的变化 (24~120h), 以此确定最低抑菌浓度 (MIC) 和菌株对 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的去除能力. MIC 被认为是完全抑制细菌生长的最低重金属浓度, 采用微量稀释法, 通过在 LB 培养基中稀释重金属离子至一系列浓度, 在一周培养时间内使菌株无法生长的最小浓度即为该重金属对细菌的最小抑制浓度^[25].

1.7 菌株去除 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的影响因素

3 种重金属离子的浓度均为 50mg/L, 在 37℃、pH 值=7.0、180r/min, 初始接种量为 1%、2%、5%、8% 和 10% 条件下于 LB 培养基中进行培养, 每隔 24h 取样; 筛选出最佳接种量后, 在 37℃、180r/min, 初始 pH 值为 5.0、6.0、7.0、8.0 和 9.0 条件下进行培养, 每隔 24h 取样. 所取样品离心后, 收集上清液, 测定菌株的生长和重金属去除率的变化. 以上试验均设置 3 个重复.

1.8 菌株促生潜力能力体外测定

将保存的菌株在 37℃、pH 值=7.0、180r/min 条件下于 LB 培养基中活化 12h. 随后对菌株的植物促生能力进行测定. 每组实验设置 3 个重复.

1.8.1 产铁载体能力定量测定

将活化的菌液

以 1% 的接种量接种于天门冬氨酸培养基中 (37℃、180r/min), 分别在 48、72 和 96h 时取菌液. 经 8000r/min 离心 15min, 收集发酵上清液与 CAS 染液 (1:1V/V) 发生变色反应^[26]. 在变色反应结果中, 蓝色表示阴性, 红色表示阳性. 以未接种菌株的培养基上清液作为空白对照, 常温避光反应 3h 后测定 OD₆₃₀. 利用公式 1 计算产铁载体活性单位^[27].

$$S_u = \frac{(A_r - A_s)}{A_r} \times 100\% \quad (1)$$

式中: S_u 为铁载体活性单位, %; A_r 为空白对照组的 OD₆₃₀; A_s 为加菌处理组的 OD₆₃₀.

1.8.2 产铁载体类型定性分析 Arnow 实验^[28]: 在第 48h 取 1mL 发酵上清液, 依次加入 1mL 0.5mol/L 盐酸和 1mL 10% 钼酸钠-亚硝酸钠溶液. 如果溶液变黄, 再加入 1mL 1mol/L 氢氧化钠溶液; 若颜色继续变红且至少保持 1h 不变色, 则表明发酵上清液中含有儿茶酚型铁载体. 高氯酸铁实验^[29]: 在第 48h 取 0.5mL 发酵上清液, 加入 2.5mL 5mmol/L 的高氯酸铁溶液, 如果颜色变为红色或者橙色, 则说明发酵上清液中含有异羟肟酸类铁载体. 空白对照用蒸馏水代替发酵上清液, 其余操作相同.

1.8.3 产 IAA 能力定量测定 将活化的菌液以 1% 的接种量接种于 SMS 培养基中, 在 37℃、180r/min 条件下培养 4d. 经 8000r/min 离心 15min, 取 1mL 上清液与 2mL Salkowski 试剂混合, 避光反应 40min 后测定 OD₅₃₀^[30].

1.8.4 产 ACC 脱氨酶能力定性测定 将活化的菌液划线接种于 ADF 固体培养基, 放入 37℃ 培养箱中培养 3d, 观察菌株的生长情况. 挑取 ADF 培养基上的单菌落, 继续划线接种于 ADF 固体培养基, 并重复以上操作 2 次. 通过反复验证菌株可以利用 ACC 作为唯一氮源的生长特性, 证明该菌株有产生 ACC 脱氨酶的能力^[31].

1.8.5 固氮能力定性测定 将活化的菌液划线接种于 Ashby 无氮固体培养基上, 放入 37℃ 培养箱中培养 3~4d, 观察菌株的生长情况. 如果菌株在 Ashby 无氮固体培养基上显示生长迹象, 则表明其能够利用大气中的氮气生长, 证明该菌株具备固氮能力^[32].

1.9 数据处理

使用 Microsoft Excel 2016 计算平均值和标准差, 使用 GraphPad Prism10.1.2 作图, 并通过 SPSS 26.0 进行单因素方差分析 (ANOVA) 以评估组间差异的显著性 ($P < 0.05$).

2 结果与分析

2.1 耐复合重金属菌株的筛选

根据梯度稀释涂布的结果, 本研究筛选出一株耐重金属的菌株, 命名为 WL-37, 该菌株对 Cd²⁺、Pb²⁺ 和 Zn²⁺ 复合污染的耐受浓度可达 250mg/L. 根据一周培养时间内 LB 培养基浊度的变化, Cd²⁺、Pb²⁺ 和 Zn²⁺ 对菌株 WL-37 的最小抑制浓度 (MIC) 分别为: 600、1800 和 1000mg/L. 在本研究中, 菌株 WL-37 展现出较强的重金属抗性. 因此, 进一步研究其在修复重金属污染方面的潜力.

2.2 菌株 WL-37 的鉴定

菌株 WL-37 的菌落形态和革兰氏染色特征见图 1. 菌株 WL-37 在 LB 平板上 (含 100mg/L Cd²⁺、Pb²⁺ 和 Zn²⁺) 形成淡黄色的圆形菌落 (图 1(a)), 且该菌株为革兰氏阴性杆菌 (图 1(b)). 通过 16S rDNA 测序并上传 NCBI 进行同源性分析, 使用 Mega7.0 软件构建菌株 WL-37 的系统发育树 (图 2(a)). 结果表明, 菌株 WL-37 归属于无色杆菌属 (*Achromobacter* sp.) 且与木糖氧化无色杆菌属 (*Achromobacter xylooxidans* NBRC 15126T) 的系统发育距离最近, 同源性为 99.5%. 通过 nrdA 基因测序, 构建的系统发育树 (图 2(b)) 显示菌株 WL-37 与 *Achromobacter veterisilvae* LMG 30378T 的系统发育距离最近, 同源性为 96.7%. 菌株 WL-37 的 16S rDNA 序列已上传至 NCBI 数据库, 登录号为 PP972325.

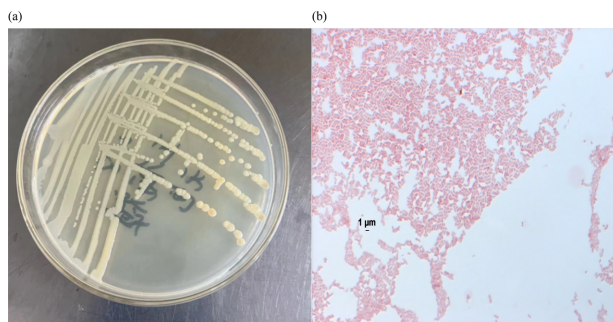


图 1 菌株 WL-37 菌落形态和革兰氏染色特征

Fig.1 Colony morphology and Gram staining characteristics of strain WL-37

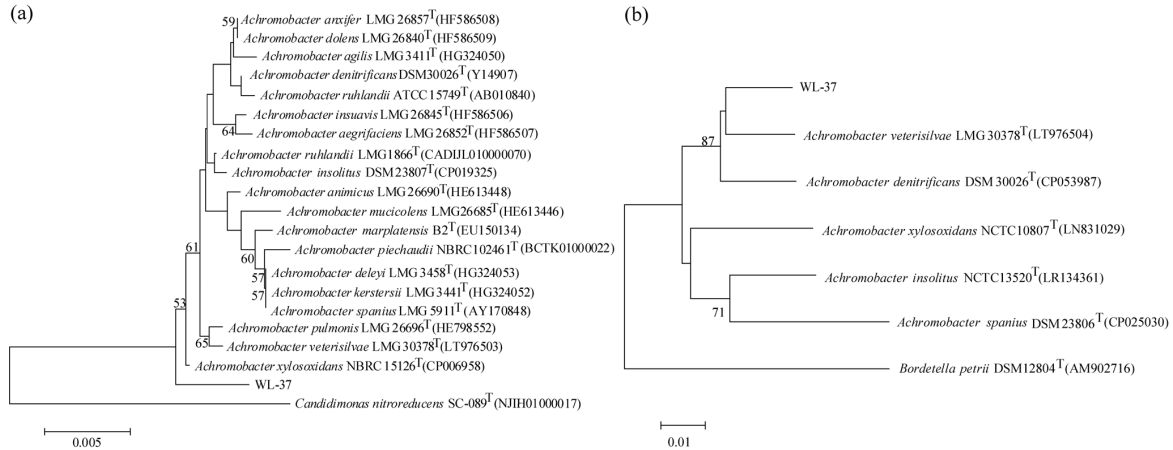


图 2 基于 16S rDNA 和 nrdA 基因序列构建的菌株 WL-37 系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of the stain WL-37 based on 16S rDNA and nrdA gene sequence

2.3 菌株 WL-37 的 BIOLOG G3 和 API 20NE 试验结果

表 3 菌株 WL-37 的 BIOLOG G3 鉴定结果

Table 3 BIOLOG G3 identification results of strain WL-37

底物	结果	底物	结果
1%乳酸钠	+	D-葡(萄)糖酸	+
梭链孢酸	+	葡糖醛酰胺	+
利福霉素 SV	+	粘液酸	+
二甲胺四环素	+	D-葡糖二酸	+
L-丙氨酸	+	万古霉素	+
L-天(门)冬氨酸	+	四唑紫	+
L-谷氨酸	+	四唑蓝	+
L- 丝氨酸	+	p-Hydroxy-苯乙酸	+
林可霉素	+	L-乳酸	+
硫酸四癸钠	+	柠檬酸	+
α-Keto-戊二酸	+	β-Hydroxy-D,L-丁酸	+
D-羟基丁二酸	+	丙酸	+
L-羟基丁二酸	+	醋酸	+
萘啶酮酸	+	甲酸	+
亚碲酸钾	+	氨曲南	+
γ-Amino-丁酸	+	丁酸钠	+
pH 值=5.0	+	1% NaCl	+
pH 值=6.0	+	4% NaCl	+

注: +: 阳性.

BIOLOG G3(BIOLOG GEN III MicroPlate)和 API 20NE(Analytical Profile Index 20NE)在微生物种水平鉴定中被广泛应用^[24].BIOLOG G3 的测试结果分为:阳性(菌株可生长)、弱阳性(生长临界状态)和阴性(无法生长).如表 3 所示,菌株 WL-37 能够利用 L-丙氨酸、L-天门冬氨酸和 L-谷氨酸等碳源,对万古霉素、四唑紫和丁酸钠等化学物质不敏感;在 1%和 4% NaCl 浓度下能够良好生长.API 20NE 的测试结果也

分为三类,表明菌株对特定底物的代谢情况.如表 4 所示,菌株 WL-37 能够同化乙二酸和苹果酸等,并将硝酸盐还原为氮气.通过综合两个试验结果,能够更全面地揭示菌株 WL-37 特有的生理生化特征.

表 4 菌株 WL-37 的 API 20NE 鉴定结果

Table 4 API 20 NE identification results of strain WL-37

底物	反应/酶	结果
硝酸钾	硝酸盐还原成亚硝酸盐	+
	硝酸盐还原成氮气	+
葡萄糖酸钾	同化(葡萄糖酸钾)	+
羊蜡酸	同化(羊蜡酸)	+
己二酸	同化(己二酸)	+
苹果酸	同化(苹果酸)	+
枸橼酸钠	同化(枸橼酸钠)	+
苯乙酸	同化(苯乙酸)	+

注: +: 阳性.

2.4 菌株 WL-37 对不同浓度 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的去除效果

2.4.1 菌株 WL-37 在不同浓度下 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的生长情况 菌株 WL-37 在 Cd²⁺(25~600mg/L)、Pb²⁺(50~600mg/L)和 Zn²⁺(50~600mg/L)中的生长情况如图 3(a)~3(d)所示.如图 3(a)所示,当 Cd²⁺浓度超过 75mg/L 时,菌株的生长受到抑制.图 3(b)显示,在 168h 内,600mg/L 的 Cd²⁺完全抑制了菌株的生长.由图 3(c)可知,WL-37 在所设定的 Pb²⁺浓度范围内均表现出良好的生长能力.如图 3(d)所示,随着 Zn²⁺浓度的增加,WL-37 生长受到明显的抑制.在 48h 内,600mg/L 的 Zn²⁺严重抑制菌株 WL-37 的生长.以上结果表明,高浓度的重金属可能对菌株 WL-37 的生长产生负面影响.

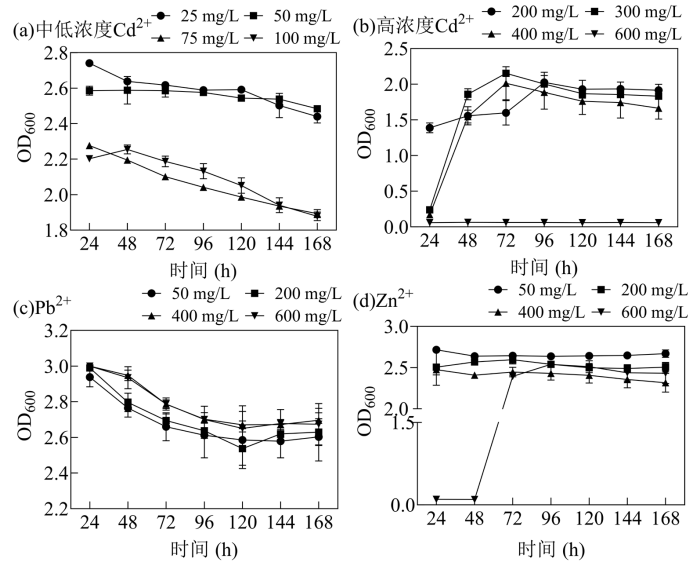


图3 菌株 WL-37 在不同重金属环境中的生物量

Fig.3 Growth biomass of the strain WL-37 under different heavy metal stress

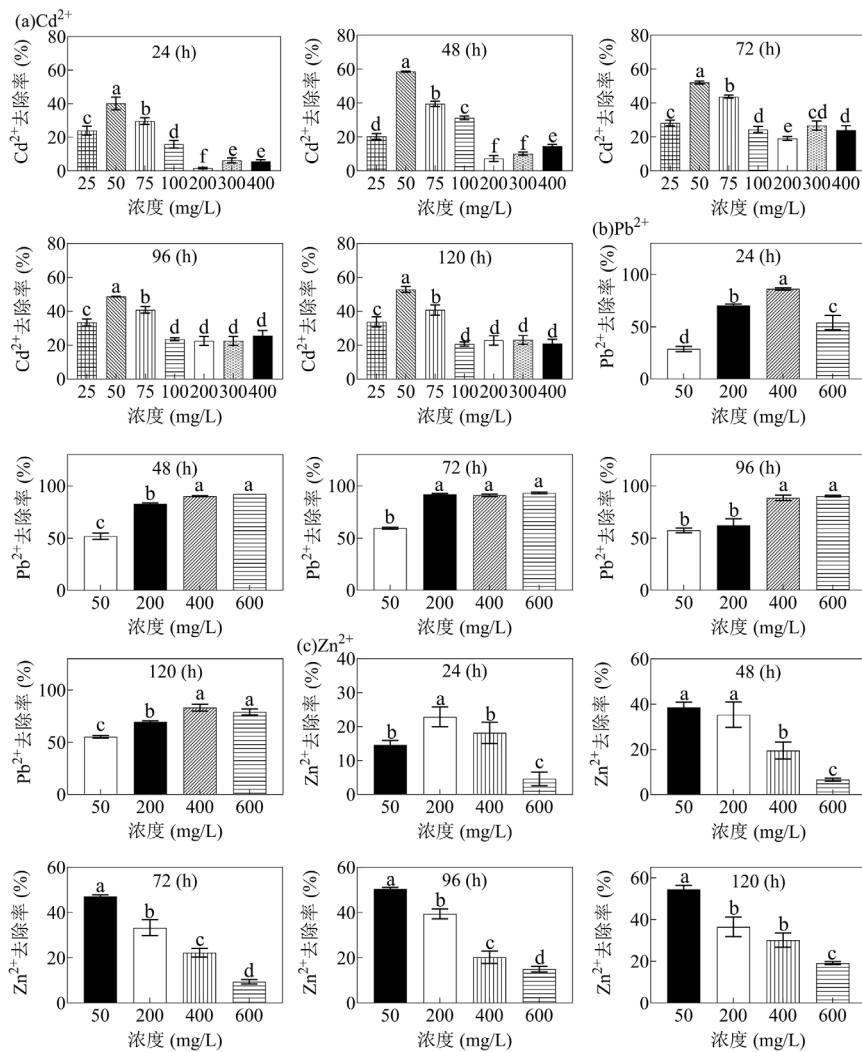


图4 菌株 WL-37 对不同重金属的去除率

Fig.4 Removal rates of the strain WL-37 under different heavy metals stress

不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同

2.4.2 菌株 WL-37 对不同浓度 Cd²⁺ 的去除效果 在中低浓度(25~100mg/L)和高浓度(200~400mg/L) Cd²⁺ 处理下,菌株 WL-37 的去除效果如图 4(a)所示.在 120h 内,WL-37 对 50mg/L Cd²⁺ 的去除率最高,达到 59%.前 48h,菌株对 Cd²⁺ 的去除率随着时间的延长而增加.然而,48h 后,50 和 100mg/L Cd²⁺ 去除率略有下降,随后保持稳定.对于高浓度组,在前 48h 内去除率较低(1%~15%),但随着培养时间延长至 72h 后,高浓度组的去除率逐渐接近 100mg/L Cd²⁺ 处理组.此外,菌株 WL-37 对 50 和 75mg/L Cd²⁺ 的去除率显著高于 25mg/L (*P*<0.05),表明菌株对不同浓度 Cd²⁺ 均具备一定的去除能力.

2.4.3 菌株 WL-37 对不同浓度 Pb²⁺ 的去除效果 在 50,200,400 和 600mg/L Pb²⁺ 处理下,菌株 WL-37 的去除效果如图 4(b)所示.在 24~72h 内,

WL-37 对 Pb²⁺ 的去除率整体呈上升趋势.其中在第 72h 时,WL-37 对 600mg/L Pb²⁺ 的去除效率最高,达到 93%.此外,在 48~120h 内,400 和 600mg/L Pb²⁺ 的去除率显著高于其他处理组(*P*<0.05),表明该菌株在高浓度 Pb²⁺ 环境中具备较强的去除能力.

2.4.4 菌株 WL-37 对不同浓度 Zn²⁺ 的去除效果 在 50,200,400 和 600mg/L Zn²⁺ 处理下,菌株 WL-37 的去除效果如图 4(c)所示.随着培养时间的延长,菌株 WL-37 对 Zn²⁺ 的去除率呈上升的趋势.120h 内,对 Zn²⁺ 去除率最高可达 54%.此外,在 72~120h 内,菌株 WL-37 对 50mg/L Zn²⁺ 的去除率显著高于其他处理组 (*P*<0.05),表明菌株对低浓度 Zn²⁺ 的去除效果更显著.

2.5 环境因素对菌株 WL-37 去除 Cd²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺ 的影响

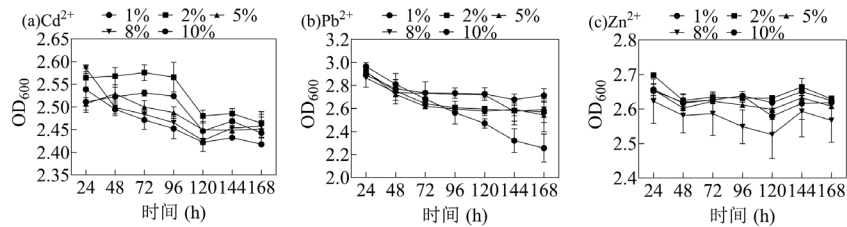


图 5 菌株 WL-37 在不同接种量环境中的生物量

Fig.5 Growth biomass of the strain WL-37 under different inoculation amounts

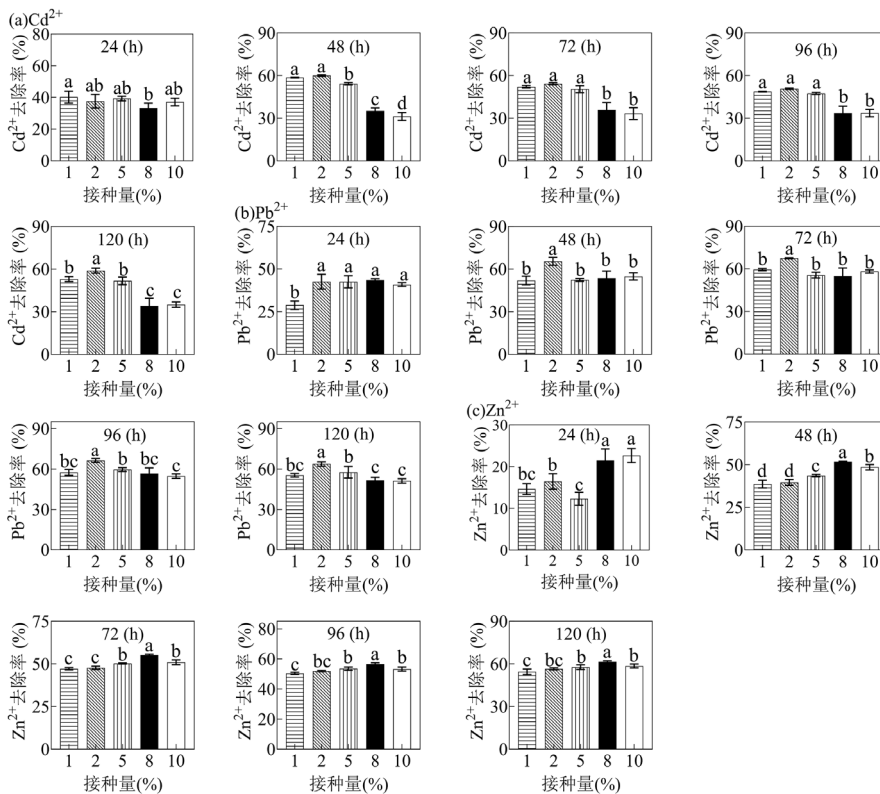


图 6 菌株 WL-37 在不同接种量环境中的去除率

Fig.6 Removal rates of the strain WL-37 under different inoculation amounts

2.5.1 接种量 图 5 显示,在 1%~10%的接种量范围内,菌株 WL-37 在不同重金属离子的胁迫下表现出良好的生长特性.然而,WL-37 的生长和对 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 及 Zn^{2+} 的去除效果并未随着接种量的增加而提

升.图 6(a)和 6(b)表明,当接种量为 2%时,WL-37 对 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的去除率最高分别达到 60%和 67%;由图 6(c)可知,当接种量为 8%时,WL-37 对 Zn^{2+} 的去除率最高达到 61%.

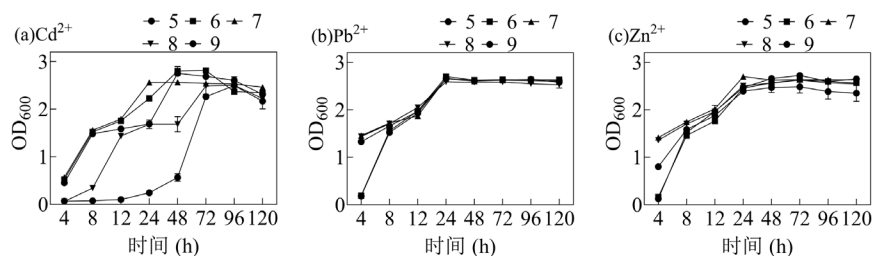


图 7 菌株 WL-37 在不同 pH 值环境中的生物量

Fig.7 Growth biomass of the strain WL-37 under different pH values

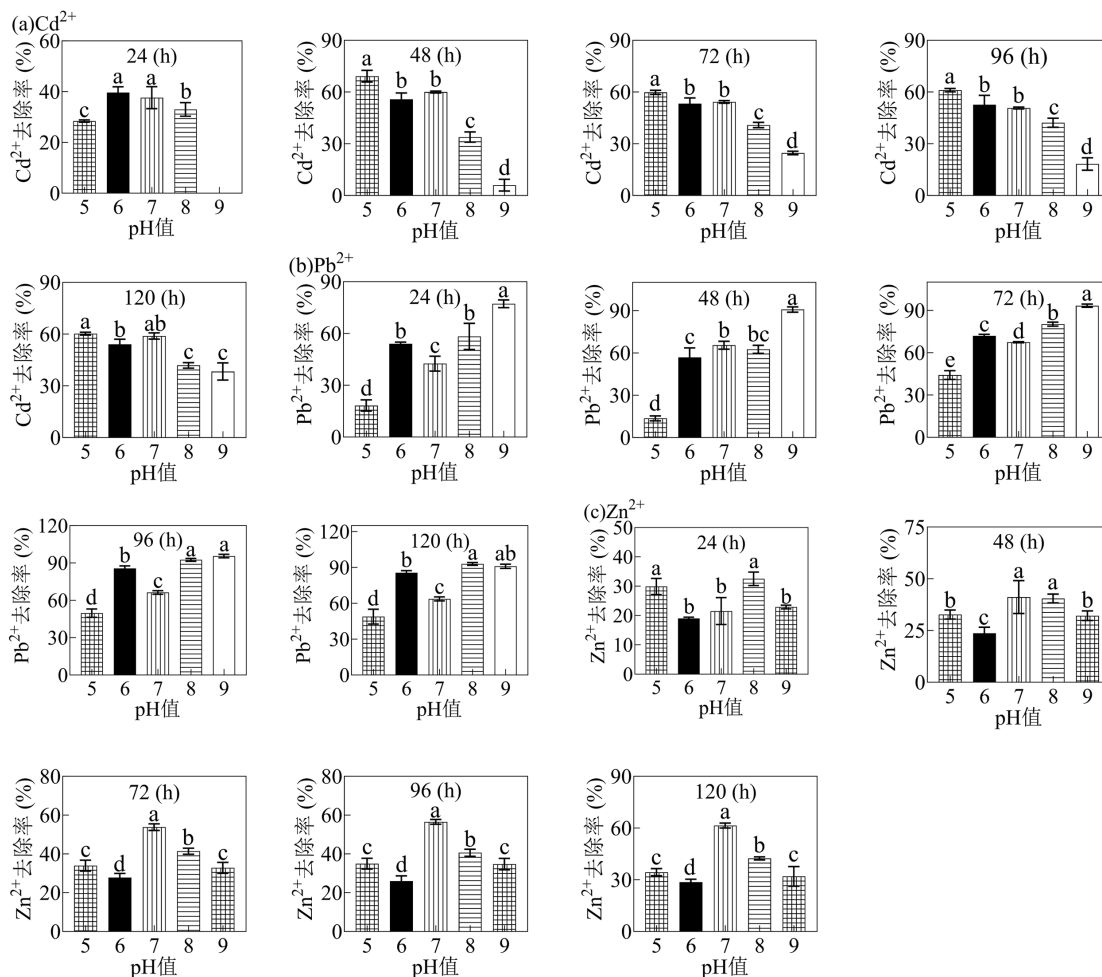


图 8 菌株 WL-37 在不同 pH 值环境中的去除率

Fig.8 Removal rates of the strain WL-37 under different pH values

2.5.2 pH 值 依据 2.4.1 节的结果,确定了菌株 WL-37 去除 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 的最佳接种量.由图可知,前 4h 内, Cd^{2+} 对菌株 WL-37 生长的抑制作用最明显.图 7(a)显示,在 pH 值=9.0 时的前 48h 内,菌株 WL-37 的

生长受到 Cd^{2+} 的严重抑制.但在后续培养中,WL-37 能在不同的酸碱性环境中良好生长.图 7(b)和 7(c)显示,在 Pb^{2+} 或 Zn^{2+} 处理下的前 8h 内,菌株 WL-37 对酸性环境敏感.但随着培养时间延长, WL-37 在 pH 值

=5.0~9.0 的环境中均表现出良好的生长特性.图 8(a)显示,在 pH 值=9.0 的条件下,菌株 WL-37 对 Cd^{2+} 的去除能力在前 48h 内受到显著的抑制.在 48h 后,WL-37 能保持稳定的 Cd^{2+} 去除效率.120h 内,pH 值=5.0 且接种量为 2% 时,WL-37 对 Cd^{2+} 的去除率最高为 69%.此外,WL-37 在酸性环境中的去除能力显著优于碱性环境($P<0.05$).图 8(b)显示,pH 值=9.0 且接种量为 2% 时,WL-37 对 Pb^{2+} 的去除率最高为 95%.在碱性环境下,对 Pb^{2+} 的去除效果显著优于中性和强酸性环境($P<0.05$).图 8(c)显示,pH 值=7 且接种量为 8% 时,WL-37 对 Zn^{2+} 去除率最高为 62%,表明在中性环境下对 Zn^{2+} 的去除效果最佳($P<0.05$).

2.6 菌株 WL-37 的促生长潜力

对菌株 WL-37 的多种促生能力进行测定,结果如图 9 和图 10 所示.WL-37 不具备产 IAA 生长激素的能

力.WL-37 的产铁载体能力如图 9(a)和 9(b)所示.在天门冬氨酸培养基中,WL-37 的发酵上清液可以与 CAS 染色剂发生变色反应,在 48、72 和 96h 的铁载体产量分别为 66%、88%和 86%.Arrow 实验结果(图 9(c))显示,WL-37 的发酵上清液变红,且 1h 内颜色保持不变,表明其所产铁载体中含有儿茶酚型铁载体.在高氯酸铁实验中,WL-37 的发酵上清液未与高氯酸铁溶液发生变色反应,说明其所产铁载体不含羟肟酸型铁载体.

如图 10 第一行两个培养基,菌株 WL-37 可以在 Ashby 无氮固体培养基上生长.表明该菌株具有固氮能力,可以将空气中的氮元素转化为用于生长的氮源^[33].同时,如图 10 第二行培养基(从左至右为连续 3 次接种单菌落的 ADF 固体培养基),WL-37 可以在以 ACC 为唯一氮源的 ADF 固体培养基上生长,证明其具备产生 ACC 脱氨酶的能力^[33].

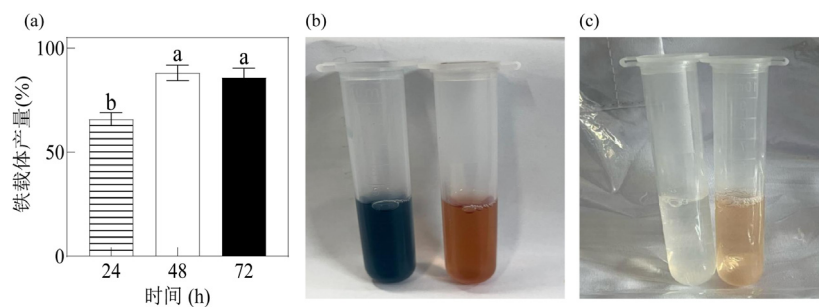


图 9 菌株 WL-37 产载体能力的鉴定

Fig.9 The identification of siderophore production capacity of strain WL-37

图(b)、图(c)中左侧离心管为对照组,右侧离心管为处理组

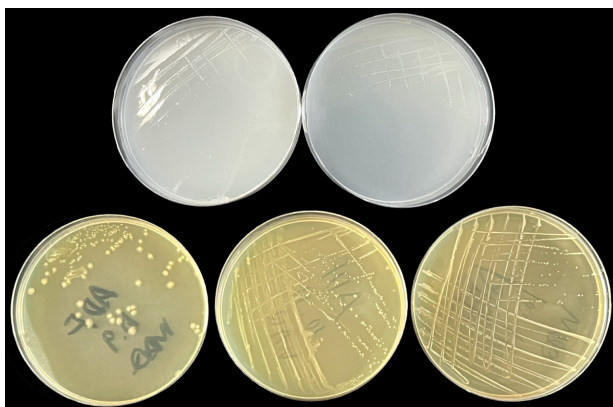


图 10 菌株 WL-37 产 ACC 脱氨酶和固氮能力的功能鉴定

Fig.10 Functional identification of ACC deaminase and nitrogen fixation capabilities of strain WL-37

3 讨论

重金属污染的治理与修复是当今社会广泛关

注的环境问题,而具有重金属耐性的微生物在生物修复中发挥重要的作用^[11,34].本研究从铅锌矿污染区分离出的新型 *Achromobacter* sp.菌株 WL-37 对 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的耐受能力分别为 600、1800 和 1000mg/L.研究表明,重金属污染进入不同环境介质后,当地微生物的重金属抗性会受到显著影响^[35].例如,在尾矿土中分离出的产孢霉甲杆菌 (*Methylobacterium* sp. EM2) 对 Pb^{2+} 的抗性达到 800mg/L^[36];从矿石山表层土壤中筛出的蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus* sp. MZ-11) 对 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的抗性分别为 1000 和 1200mg/L^[37];在镉污染农田中筛选出的尼古丁节杆菌 (*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*)、梭形赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus fusiformis*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 和臂甲基芽孢杆菌 (*Methylobacium brachiatum*),对 Cd^{2+} 的抗性分别为

100、100、50 和 50mg/L^[38].微生物的耐受水平可能与其周围环境中的重金属浓度有关,但自身固有的耐受能力和适应性将决定它们修复金属的能力^[38].以上结果表明,菌株 WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的耐受能力处于较高水平,其在重金属污染修复中的潜力值得进一步研究.

本研究中,菌株 WL-37 对 50mg/L Cd²⁺和 Zn²⁺的最大去除率分别为 59%和 54%,对 600mg/L Pb²⁺的最大去除率为 95%.与先前研究相比,WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的去除率均处于较高水平.例如,Wang 等^[39]从电镀废水中分离出的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* TR1)对 50mg/L Cd²⁺去除率接近 35%;Xu 等^[40]从铅锌废水中分离出的波兰青霉菌(*Penicillium polonicum*)对 4mmol/L Pb²⁺的去除率为 90%;张祖焯等^[41]从红树林表层土中分离的新型放线菌(*Agromyces* sp. CS16)对 75mg/L Zn²⁺的去除率接近 40%,通过以上可以看出菌株 WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺有较强的去除能力.

为了探究生物修复的最大潜力,首先要考虑到生存环境的变化对微生物的影响.包括金属离子的浓度、初始接种量和 pH 值等,这些因素都会对生物修复过程产生重大影响^[42-43].菌株 WL-37 对不同浓度的 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺去除率分别为,50mg/L(59%、57%和 54%)、200mg/L(23%、92%和 39%)和 400mg/L(26%、91%和 29%).WL-37 对 200 和 400mg/L Pb²⁺的去除率显著高 50mg/L($P < 0.05$).这可能是因为培养液中金属离子浓度升高,促进了金属离子向细胞内的转移,提高了细菌的吸收率^[44].对于 Cd²⁺和 Zn²⁺,去除率均在 50mg/L 时达到最高,随着初始浓度的增加,去除率反而下降.这可能是由于高浓度的 Cd²⁺和 Zn²⁺对细菌具有较强的毒性,同时较高的初始浓度减少了细菌可结合的活性位点,导致去除效果受到抑制^[45-46].综合 WL-37 在不同浓度 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺中的生长情况和去除能力,Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺对 WL-37 的毒性排序为: Cd²⁺ > Zn²⁺ > Pb²⁺^[47].

在不同初始接种量的环境中,菌株 WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的去除效率并未随着接种量的增加而提高.这可能是由于“壳效应”,这一机制保护了生物吸附剂的活性结合位点,阻止金属离子占据部分位点^[48].此外,细菌在生长过程中会对营养物质产生竞争作用,这也可能导致去除率下降^[49].在不同

初始 pH 值的环境中,菌株对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的最佳去除率分别在 pH 值为 5.0,9.0 和 7.0 时达到.在 Yin^[50]等人的研究中也发现了类似结果.过高或过低的 pH 值都会降低金属的结合能力,使菌株达到最佳去除率的 pH 值范围可能与重金属种类及菌株特性有关^[51-52].

菌株 WL-37 与木糖氧化无色杆菌属菌株 NBRC 15126T 的同源性高达 99.5%.先前研究表明,转运蛋白介导的外排和生物絮凝剂的吸附是无色杆菌属吸收重金属离子的主要机制.例如,木糖氧化无色杆菌属菌株 A8 的 *pbt* 基因是其耐受 Pb²⁺和 Cd²⁺的关键基因,*pbtABC*、*pbtF* 和 *pbtY* 在受到 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺胁迫时会显著上调,而 P_{1B} 型跨膜蛋白 PbtA 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺具有外排转运功能^[53].Suman 等^[54]也证实,当菌株 A8 体内的 PbtA 在酵母菌(*S. cerevisiae* CM137 和 DTY168)中异源表达时,两株菌株的 Pb²⁺和 Zn²⁺耐受性变强,同时对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的积累量增加.Subudhi 等^[55]从炼油厂废水中分离出能够产生生物絮凝剂的无色杆菌属菌株 TERI-IASST N,对 Pb²⁺和 Zn²⁺具有良好的吸附效果.而菌株 WL-37 对 Cd²⁺、Pb²⁺和 Zn²⁺的耐受及去除机制可能与上述菌株相似,但仍需进一步研究.

目前,植物与微生物协同修复重金属污染被认为是一种有效的修复手段^[56].其中,无色杆菌属在重金属和有机物污染的治理中发挥了重要的作用,但对具有促生能力的无色杆菌属菌株研究相对匮乏^[57-59].本研究发现的无色杆菌属菌株 WL-37 具备多种植物促生能力.首先,WL-37 的铁载体产量可达 88%.王慧等^[60]从稻田耕作层中筛出的菌株,铁载体产量在 4%~69%之间,相比之下,WL-37 有较强的产铁载体能力.同时,WL-37 的铁载体产量在培养初期升高后逐渐稳定,这与陈伟等^[61]的发现相似,这可能与菌株的生长和络合能力的变化有关.其次,WL-37 还具有固氮和产 ACC 脱氨酶的能力.ACC 的降解是促进植物生长重要特征,而 ACC 脱氨酶在此过程中发挥关键作用,利用能产生 ACC 脱氨酶的微生物可以有效提高植物的抗逆性和生物量^[62].此外,植物不能直接利用空气中的氮气,而具备固氮能力的微生物可以将空气的氮转化为可供植物利用的氨^[63].综上所述,菌株 WL-37 在植物-微生物联合修复方面具备良好的应用前景.

4 结论

4.1 从生长于铅锌复合污染矿区的超富集植物青葙根际土壤中,分离得到一株耐 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 菌株,该菌株为无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)内一新物种,命名为 WL-37。

4.2 菌株 WL-37 对不同浓度 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 均有一定的去除能力,且去除率均高于一般水平。在固定重金属浓度(Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 均为 50mg/L)、温度(37℃)和转速(180r/min)的条件下,WL-37 在 pH 值=5.0 且接种量为 2% 时,对 Cd^{2+} 的最佳去除率为 69%;在 pH 值=9.0 且接种量为 2% 时,对 Pb^{2+} 的最佳去除率为 95%;在 pH 值=7.0 且接种量为 8% 时,对 Zn^{2+} 的最佳去除率为 62%。菌株 WL-37 在 Cd、Pd、Zn 等重金属污染修复中具有较好的潜力。

4.3 菌株 WL-37 具备良好的植物促生能力。菌株 WL-37 的铁载体产量可达 88%,同时具有固氮能力和产 ACC 脱氨酶的能力。

参考文献:

- [1] Zhang H Y, Zhou Q Q, Liu R Y, et al. Enhancing zinc biofortification and mitigating cadmium toxicity in soil-earthworm-spinach systems using different zinc sources [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,476:135243.
- [2] Liu N Q, Zhao J, Du J W, et al. Non-phytoremediation and phytoremediation technologies of integrated remediation for water and soil heavy metal pollution: A comprehensive review [J]. *Science of the Total Environment*, 2024,948:1174237.
- [3] Sodhi K K, Kumar M, Agrawal P K, et al. Perspectives on arsenic toxicity, carcinogenicity and its systemic remediation strategies [J]. *Environmental Technology and Innovation*, 2019,16(1):100462.
- [4] Azhar U, Ahmad H, Shafiqat H, et al. Remediation techniques for elimination of heavy metal pollutants from soil: A review [J]. *Environmental Research*, 2022,214:113918.
- [5] Li X H, Gao Y, Ning X L, et al. Research progress and hotspots on microbial remediation of heavy metal-contaminated soil: A systematic review and future perspectives [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023,30:118192-118212.
- [6] Mishra S, Lin Z, Pang S, et al. Biosurfactant is a powerful tool for the bioremediation of heavy metals from contaminated soils [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021,418:126253.
- [7] Song L P, Zhou J H, Xu X Y, et al. Inoculation of cadmium-tolerant bacteria to regulate microbial activity and key bacterial population in cadmium-contaminated soils during bioremediation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024,271:115957.
- [8] Li P H, Chen J L, Ying S M, et al. Different responses of *Sinorhizobium* sp. upon Pb and Zn exposure: Mineralization versus complexation [J]. *Environmental Pollution*, 2024,343:123260.
- [9] Ru X, Liao J, Liang L, et al. Quantification of the relationship between multiple metal (loid) distribution and integrated effect of internal-external factors in riverbed sediments across Xijiang River basin, South China [J]. *Science of the Total Environment*, 2018,643:527-538.
- [10] Luo Y, Pang J, Li C, et al. Long-term and high-bioavailable potentially toxic elements (PTEs) strongly influence the microbiota in electroplating sites [J]. *Science of the Total Environment*, 2022,814:151933.
- [11] Mathivanan K, Chandirika J U, Vinothkanna A, et al. Bacterial adaptive strategies to cope with metal toxicity in the contaminated environment-A review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021,226:112863.
- [12] Li J, Gurajala H K, Wu L, et al. Hyperaccumulator plants from China: A synthesis of the current state of knowledge [J]. *Environmental Science and Technology*, 2018,52:11980-11994.
- [13] Halim A, Rahman M M, Megharaj M, et al. Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a Sustainable Solution [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020,68(47):13497-13529.
- [14] Cao M Y, Narayanan M, Shi X J, et al. Optimistic contributions of plant growth-promoting bacteria for sustainable agriculture and climate stress alleviation [J]. *Environmental Research*, 2023,217:114924.
- [15] Kumar M, Poonam, Ahmad S, et al. Plant growth promoting microbes: Diverse roles for sustainable and ecofriendly agriculture [J]. *Energy Nexus*, 2022,7:100133.
- [16] Teng Z D, Shao W, Zhang K Y, et al. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019,231:189-197.
- [17] Guo J, Muhammad H, Lu X, et al. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: A review [J]. *Chemosphere*, 2020,246:125823.
- [18] Xie Y, Bu H S, Feng Q J, et al. Identification of Cd-resistant microorganisms from heavy metal-contaminated soil and its potential in promoting the growth and Cd accumulation of bermudagrass [J]. *Environmental Research*, 2021,200:111730.
- [19] Yu G, Jiang P P, Fu X F, et al. Phytoextraction of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn.: A long-term field study [J]. *Environmental Pollution*, 2020,266(1):115408.
- [20] 游胜雄, 王义安, 林华, 等. 一株新型 *Kerstersia gylorium* 菌株 CY-2 对 Cr(VI) 的还原性能 [J]. *环境工程学报*, 2023,17(12):4096-4106.
- [21] You S X, Wang Y A, Lin H, et al. Reduction properties of Cr(VI) by a novel *Kerstersia gylorium* strain CY-2 [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2023,17(12):4096-4106.
- [22] Narde G K, Kapley A, Purohit H J. Isolation and characterization of *Citrobacter* Strain HPC255 for broad-range substrate specificity for chlorophenols [J]. *Current Microbiology*, 2004,48(6):419-423.
- [23] Coward A, Kenna D T D, Perry C, et al. Use of nrdA gene sequence clustering to estimate the prevalence of different *Achromobacter* species among Cystic Fibrosis patients in the UK [J]. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2016,15(4):479-485.
- [24] Biswas B B, Basu P S, Pal M K. Gram staining and its molecular mechanism [J]. *International Review of Cytology*, 1970,29:1-27.
- [25] Truu J, Talpsep E, Heinaru E, et al. Comparison of API 20NE and Biolog GN identification systems assessed by techniques of multivariate analyses [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1999,36(3):193-201.
- [26] Babu A G, Shea P J, Sudhakar D, et al. Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal (loid) -contaminated mining site soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2015,151:160-166.
- [27] Chen L, Luo S L, Xiao X, et al. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2010,46(3):383-389.
- [28] Machuca A, Milagres A M F. Use of CAS-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2003,36(3):177-181.
- [29] Schwyn B, Neilands J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160(1):47-56.
- [30] Shenker M, Oliver I, Helmann M, et al. Utilization by tomatoes of iron

- mediated by a siderophore produced by *Rhizopus arrhizus* [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1992,15(10):2173–2182.
- [30] Xu J Y, Han Y H, Chen Y S, et al. Arsenic transformation and plant growth promotion characteristics of As-resistant endophytic bacteria from As-hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. *Chemosphere*, 2016,144:1233–1240.
- [31] Yuan Y D, Zu M T, Sun L P, et al. Isolation and Screening of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase producing PGPR from *Paeonia lactiflora* rhizosphere and enhancement of plant growth [J]. *Scientia Horticulturae*, 2022,297:110956.
- [32] Cai F F, Yang C D, Ma T, et al. An endophytic *Paenibacillus polymyxa* hgl18and its biocontrol potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* [J]. *Biological Control*, 2024,188:105380.
- [33] Andy A K, Masih S A, Gour V S. Isolation, screening and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soils of selected pulses [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020,27:101685.
- [34] Emenike C U, Jayanthi B, Agamuthu P, et al. Biotransformation and removal of heavy metals: A review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil [J]. *Environment Reviews*, 2018,26(2):156–168.
- [35] Nanda M, Kumar V, Sharma D K. Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to ‘clean-up’ heavy metal contaminants from water [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019,212:1–10.
- [36] Jeong S W, Kim H K, Yang J E, et al. Removal of Pb(II) by pellicle-like biofilm-producing *Methylobacterium hispanicum* EM2strain from aqueous media [J]. *Water*, 2019,11(10):2081.
- [37] Kan H Y, Yang S X, Sun L L, et al. Isolation, identification and adsorption capacity of a strain resistant to lead, zinc and chromium [J]. *Microbiology China*, 2020,47(12):3974–3986.
- [38] Ma B, Song W L, Zhang X X, et al. Potential application of novel cadmium-tolerant bacteria in bioremediation of Cd-contaminated soil [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023,255:114766.
- [39] Wang Z B, Tan R, Gong J, et al. Process parameters and biological mechanism of efficient removal of Cd(II) ion from wastewater by a novel *Bacillus subtilis* TR1 [J]. *Chemosphere*, 2023,318:137958.
- [40] Xu X, Hao R, Xu H, et al. Removal mechanism of Pb(II) by *Penicillium polonicum*: immobilization, adsorption, and bioaccumulation [J]. *Scientific Reports*, 2020,10:9079.
- [41] 张祖焯,何梦园,乔月,等. *Agromyces* sp. CS16 去除水体中重金属镉、镍、铜、锌离子的研究 [J]. *微生物学报*, 2023,63(7):2791–2808. Zhang Z Y, He M Y, Qiao Y, et al. Removal of cadmium, nickel, copper, and zinc ions from water by *Agromyces* sp. CS16 [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023,63(7):2791–2808.
- [42] Abo-Alkasem M I, Hassan N H, Elsoud M M A. Microbial bioremediation as a tool for the removal of heavy metals [J]. *Bulletin of the National Research Centre*, 2023,47(31).
- [43] Tyagi S, Kumar V, Singh J, et al. Bioremediation of pulp and paper mill effluent by dominant aboriginal microbes and their consortium [J]. *International Journal of Environmental Research*, 2014,8(3):561–568.
- [44] Mielniczki-Pereira A A, Hna A B B, Bonatto D, et al. New insights into the Ca²⁺-ATPases that contribute to cadmium tolerance in yeast [J]. *Toxicology Letters*, 2011,207(2):104–111.
- [45] Fashola M O, Ngole-Jeme V M, Babalola O O. Heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016,13(11):1047.
- [46] Satya A, Harimawan A, Haryani G S, et al. Batch study of cadmium biosorption by carbon dioxide enriched *Aphanothece* sp. dried biomass [J]. *Water*, 2020,12(1):264.
- [47] Tayebi B, Ahangar A G. The influence of heavy metals on the development and activity of soil microorganisms [J]. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 2014,4:74–85.
- [48] Fathollahi A, Khasteganan N, Coupe S J, et al. A meta-analysis of metal biosorption by suspended bacteria from three phyla [J]. *Chemosphere*, 2021,268:129290.
- [49] Wang X, Zhang Y, Sun X, et al. Efficient removal of hexavalent chromium from water by *Bacillus* sp. Y2-7with production of extracellular polymeric substances [J]. *Environmental Technology*, 2023,45(14):2698–2708.
- [50] Yin K, Wang Q N, Lv M, et al. Microorganism remediation strategies towards heavy metals [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019,360:1553–1563.
- [51] Asksonthong R, Siripongvutikorn S, Usawakesmanee W. Heavy metal removal ability of *Halomonas elongata* and *Tetragenococcus halophilus* in a media model system as affected by pH and incubation time [J]. *International Food Research Journal*, 2018,25(1):234–240.
- [52] Ma X Y. Heavy metals remediation through lactic acid bacteria: Current status and future prospects [J]. *Science of the Total Environment*, 2024,946:174455.
- [53] Hložková K, Šuman J, Strnad H, et al. Characterization of *pbt* genes conferring increased Pb²⁺ and Cd²⁺ tolerance upon *Achromobacter xylosoxidans* A8 [J]. *Research in Microbiology*, 2013,164(10):1009–1018.
- [54] Suman J, Kotrba P, Macek T. Putative P_{1B}-type ATPase from the bacterium *Achromobacter xylosoxidans* A8alters Pb²⁺/Zn²⁺/Cd²⁺- resistance and accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2014,1838(5):1338–1343.
- [55] Subudhi S, Batta N, Pathak M, et al. Biofloculant production and biosorption of zinc and lead by a novel bacterial species, *Achromobacter* sp. TERI-IASST N, isolated from oil refinery waste [J]. *Chemosphere*, 2014,113:116–124.
- [56] Liu S M, Liu H M, Chen R, et al. Role of two plant growth-promoting bacteria in remediating cadmium-contaminated soil combined with *Miscanthus floridulus* (Lab.) [J]. *Plants*, 2021,10(5):912.
- [57] Liang D H, Hu Y Y. Application of a heavy metal-resistant *Achromobacter* sp. for the simultaneous immobilization of cadmium and degradation of sulfamethoxazole from wastewater [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021,402:124032.
- [58] Yang Y J, PratapSingh R, Song D, et al. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* II-2and *Achromobacter* sp. QC36 for the effective biodegradation of the herbicide quinclorac [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020,188:109826.
- [59] Sun L N, Zhang X H, Ouyang W K, et al. Lowered Cd toxicity, uptake and expression of metal transporter genes in maize plant by ACC deaminase-producing bacteria *Achromobacter* sp. [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022,423:127036.
- [60] 王慧,靳海洋,陈哲,等. 稻田高效固氮蓝细菌的筛选鉴定及其促生潜力 [J]. *微生物学通报*, 2024,51(10):4043–4057. Wang H, Jin H Y, Chen Z, et al. Screening and identification of efficient nitrogen-fixing cyanobacteria with plant growth-promoting potential from paddy fields [J]. *Microbiology China*, 2024,51(10):4043–4057.
- [61] 陈伟,舒健虹,陈莹,等. 黑麦草根际铁载体产生菌 WN-H3 的分离鉴定及其产铁载体培养条件的优化 [J]. *生物技术通报*, 2016, 32(10):219–226. Chen W, Shu J H, Chen Y, et al. Screening, identification and fermentation condition optimum of a siderophore-producing bacteria WN-H3 from rhizosphere of ryegrass [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016,32(10):219–226.
- [62] Herpell J B, Alickovic A, Diallo B. et al. Phyllosphere symbiont promotes plant growth through ACC deaminase production [J]. *The ISME Journal*, 2023,17:1267–1277.
- [63] Xu P, Wang E. Diversity and regulation of symbiotic nitrogen fixation in plants [J]. *Current Biology*, 2023,33(11):543–559.

作者简介: 王接祺(2000-),女,福建福州人,桂林理工大学硕士研究生,从事土壤重金属污染治理方面研究.603460014@qq.com.