

霍雪琪,王杏,叶林繁,等.铁锰氧化肠杆菌和丛毛单胞菌对小白菜吸收镉和砷的影响[J].华中农业大学学报,2024,43(4):212-220.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.04.023

铁锰氧化肠杆菌和丛毛单胞菌对小白菜吸收镉和砷的影响

霍雪琪,王杏,叶林繁,史凯祥

华中农业大学生命科学技术学院/农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室,武汉 430070

摘要 为探究土壤中镉(cadmium)和砷(arsenic)共去除的可行方法,选取具有铁锰氧化能力的细菌肠杆菌A11和丛毛单胞菌A23,研究混合菌株介导生成生物铁锰氧化物对镉和砷的吸附效果。扫描电镜结果显示铁锰氧化物存在于细胞表面,并且铁锰氧化物使细菌聚集成团;盆栽试验结果显示A11和A23菌株能够钝化土壤中的镉和砷,降低生物可利用态镉和砷的比例,并增加其不可利用态比例,同时还抑制小白菜地上部分和根部对镉和砷的吸收与积累。以上结果表明A11和A23混合菌株生成的生物铁锰氧化物对镉和砷有良好的吸附效果。

关键词 肠杆菌;丛毛单胞菌;生物铁锰氧化物;镉;砷

中图分类号 Q939 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)04-0212-09

镉(cadmium, Cd)和砷(arsenic, As)是全球性分布的有毒重金属污染物,危害农田土壤健康和粮食安全。镉在环境中主要以正二价(Cd(II))的形式存在^[1-2];砷在自然界主要以三价砷(亚砷酸盐, As(III))和五价砷(砷酸盐, As(V))的形式存在, As(III)的毒性比As(V)更高,且流动性更强^[3]。镉和砷一旦进入土壤等环境中容易转移到植物体内^[4],抑制植物的光合作用、呼吸作用和矿物质摄入,影响其生理活性和代谢水平^[5]。此外,镉和砷可通过食物链最终进入人体,并在肝脏和肾脏中积累^[4],影响细胞增殖分化等过程^[3],进而引发皮肤、胃、肝等器官的癌变。

土壤中镉和砷污染问题日益严重,已经成为一个全球性的问题^[6]。镉在土壤中以二价阳离子形式存在,而砷通常以亚砷酸盐或砷酸盐等阴离子形式存在,因此两者在土壤中的迁移固定等具有相反的特质^[7-8]。当土壤的pH升高时,镉的生物可利用度降低,但砷的迁移率和流动性提高;当土壤氧化还原电位(redox potential, Eh)升高时,镉的生物有效性提高,砷的生物有效性降低^[8]。此外,镉和砷具有不同化学性质,可能发生交叉反应,使常规的改良措施很难同时实现土壤中镉和砷污染的原位修复。土壤中镉和砷的协同修复需要考虑钝化效果的稳定性、持

久性,即是否有二次活化、安全性、经济性和普适性等问题,由于土壤类型不同,同一种钝化剂在不同镉和砷污染土壤修复效果不同,钝化剂的普适性成为最大难题。

矿物,尤其是铁锰氧化物对重金属有很强的亲和力,可以通过氧化还原、吸附、沉淀等过程影响重金属的形态分布和转化迁移^[8]。铁氧化物具有表面电荷高、比表面积大、表面有双配位基的特点,因此具有较强的吸附能力^[7,9]。锰氧化物(MnO₂)是一种氧化能力强且具有较强反应活性的矿物,对重金属有良好的吸附、催化及氧化还原能力^[9]。在自然环境中,铁、锰氧化物往往共存形成铁锰复合氧化物。在自然界中锰氧化过程较为缓慢,多种铁锰氧化微生物能催化氧化Mn(II)和Fe(II)进而诱导形成生物铁锰氧化物(biogenic Fe-Mn oxides, BFMO)^[10]。BFMO具有更大的比表面积和表面电荷,有更强的吸附、氧化能力^[11]。As(V)与铁锰氧化物形成单/多齿配体吸附于BFMO表面,或与Fe(III)形成共沉淀以去除^[12]。BFMO对Cd(II)的去除主要为化学吸附,包括表面官能团的络合、离子交换和阳离子- π 键作用,此外Cd(II)可以部分取代Fe(III)和Mn(II)而被吸附固定^[13]。铁锰氧化微生物会存在于BFMO表面,重新氧化Mn(II)和Fe(II),避免Mn(II)和

收稿日期:2024-05-15

基金项目:国家自然科学基金项目(32270110)

霍雪琪, E-mail: 603360546@qq.com

通信作者:史凯祥, E-mail: kaixiangshi@mail.hzau.edu.cn

Fe(Ⅱ)改变铁锰氧化物晶体结构,影响吸附效果^[9]。基于此,BFMO可能是修复土壤中镉和砷共污染的一种有效手段。

前期研究发现肠杆菌 A11 (*Enterobacter* sp. A11)和丛毛单胞菌 A23 (*Comamonas* sp. A23)在单独条件下具有微弱的镉钝化能力,将两菌株混合后能够完全钝化培养液中的镉^[14]。此外,A11和A23菌株共培养后其锰氧化能力增强,能在15 d内得到生物铁锰氧化物,对修复镉砷共污染存在潜在应用价值。基于此,本研究分析了A11和A23菌株生成铁锰氧化物的能力及对镉和砷的吸附能力,并进行小白菜盆栽试验,探究A11和A23菌株对土壤可利用态镉砷及小白菜吸收镉砷的影响,分析A11和A23菌株共培养修复土壤镉砷共污染的可行性。

1 材料与方法

1.1 培养基及培养条件

LB培养基:5 g 酵母提取物,10 g 胰蛋白胨,10 g NaCl,加入蒸馏水定容至1 000 mL。

K培养基:2 g 胰蛋白胨,0.5 g 酵母提取物,0.001 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.2 g MnCl_2 ,溶于 ddH_2O ,调节pH 7.2后定容至1 000 mL;121 ℃灭菌20 min后,加入终浓度10 mmol/L Hepes缓冲液。

铁细菌选择性培养基:10 g $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeNO}_7$,0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.5 g K_2HPO_4 ,0.2 g CaCl_2 ,0.5 g NaNO_3 ,0.5 g NH_4NO_3 ,定容至1 000 mL,pH 6.8~7.2,加入1.5%琼脂。肠杆菌A11和丛毛单胞菌A23在28 ℃、150 r/min的条件下振荡培养。

1.2 A11和A23菌株铁锰氧化能力检测

挑取A11和A23菌株的单菌落分别接种于LB培养基中于28 ℃、150 r/min振荡培养至 $\text{OD}_{600\text{ nm}}=0.5$ 。将菌液置于铁细菌选择性培养平板中划线,观察是否有黑色或褐色沉淀出现。

LBB(leukoberbelin blue)试剂能够与高价锰离子反应产生蓝色物质,且不会杀死细菌。挑取细菌A11和A23单菌落于K培养基中,按照1%的接种量(混合菌的接种量为0.5%A11+0.5%A23)分别转接到K培养基中培养5 d,12 000 r/min,30 s收集1 mL菌体,加入50 μL Hepes(10 mmol/L),混匀,按体积比1:5加入0.04%LBB溶液,避光反应约10 min,观察溶液变化,具体方法参考文献^[15]。

1.3 A11和A23菌株镉砷去除能力的检测

挑取A11和A23菌株的单菌落分别接种于LB

培养基中于28 ℃、150 r/min振荡培养至 $\text{OD}_{600\text{ nm}}=0.5$ 。在含有1 mmol/L Fe(Ⅱ)、4 mmol/L Mn(Ⅱ)、20 $\mu\text{mol/L}$ Cd(Ⅱ)和100 $\mu\text{mol/L}$ As(V)的K培养基中,按照0.5% A11+0.5% A23接种量接种,以不接种细菌的处理组作为对照。28 ℃、150 r/min下振荡培养,每隔12 h取1次样,测定上清中重金属的含量。使用原子荧光形态分析仪(AFS-8220,北京吉天仪器)测定砷的含量,使用原子吸收分光光度计(TAS-990,普析通用仪器)测定镉的含量。

1.4 扫描电镜(SEM)-能谱扫描(EDX)分析

挑取A11和A23菌株的单菌落分别接种于K培养基中于28 ℃、150 r/min振荡培养。培养14 d时,取36 mL菌液7 000 r/min离心10 min,收集菌体。用无菌水洗涤菌体3次后,加入1.5 mL 2.5%的戊二醛,4 ℃固定过夜。12 000 r/min离心5 min,弃上清,将沉淀用无菌水漂洗3次。依次向离心管加入1.5 mL的30%、50%、70%、85%、90%、100%的乙醇,逐级脱水。每次加入乙醇后静置10 min,12 000 r/min离心5 min,保证脱水彻底。脱水后的菌体冷冻干燥24 h,使用干净的牙签挑取适量的细菌冻干粉于载玻胶带上,用离子溅射仪镀膜,随后使用扫描电镜(SU8010,天美(中国)科学仪器有限公司)观察。在观察过程中使用能谱扫描点扫检测细菌表面的元素组成。

1.5 小白菜盆栽试验

土壤盆栽试验在温室内进行,每盆种植4株上海青小白菜(*Brassica rapa* L.)。土壤中添加了50 mg/kg As(V)、1 mg/kg或2 mg/kg Cd(Ⅱ),同时设立未添加任何重金属盐溶液的盆栽作为对照组。As(V)和Cd(Ⅱ)加入后,在自然条件下平衡2周时间。按1%的接种量分别将A11和A23菌株接种于LB培养基中培养,7 000 r/min、4 ℃离心10 min收集菌体,菌株等细胞数混合后重悬。小白菜移植到盆栽7 d后,在上述处理组加入A11和A23菌株的混合菌株,并使细菌数量维持在 10^7 cfu/g土壤,同时设置不加入菌株的对照,每个处理设置5个重复(表1)。在温室内种植30 d后收获小白菜(种植过程中使用平板计数检测活菌数量),测量鲜质量后,将植物烘干并添加硝酸消解,分别测定地上部分和地下部分重金属的含量。砷为类金属,与磷同属于化学元素周期表VA族,且在土壤中都以含氧阴离子形式存在,因此,对砷分级提取法可以参考土壤中磷的连续提取法^[16]。使用改良后的SEP法测定土壤中砷的化学

形态,依次使用1 mol/L NH₄Cl提取可交换态砷,使用0.5 mol/L NH₄F溶解砷铝态,使用0.1 mol/L NaOH提取铁结合态砷,使用0.25 mol/L H₂SO₄提取钙结合态砷。

表1 小白菜盆栽试验不同处理组设置
Table 1 Different treatment groups of *Brassica rapa* L. pot experiment

处理组 Treatment	A11+A23混合 菌株 Mixed inoculant	1 mg/kg Cd(Ⅱ)	2 mg/kg Cd(Ⅱ)	50 mg/kg As(V)
Treatment 1 (T1)	+	-	-	-
Treatment 2 (T2)	+	+	-	+
Treatment 3 (T3)	+	-	+	+
Control 1 (C1)	-	-	-	-
Control 2 (C2)	-	+	-	+
Control 3(C3)	-	-	+	+

2 结果与分析

2.1 A11和A23菌株铁锰氧化能力和镉砷去除能力的检测

将肠杆菌A11和A23菌株单独或共同在铁选择性培养基培养,共同培养可产生明显的黑褐色沉淀(图1A)。使用LBB试剂检测,与不加入菌液的空白对照相比,菌株A23可以使试剂变蓝,A11和A23菌株共培养的菌液产生的蓝色物质更多(图1B)。结果表明菌株A23在单独培养时具有锰氧化能力,而菌株A11的添加提高了菌株A23锰氧化能力。

本研究测定了不同浓度的铁(0.75、1、1.5 mmol/L)和锰(1、4 mmol/L)条件下细菌对镉和砷的吸附能力,当Fe(Ⅱ)浓度为1 mmol/L、Mn(Ⅱ)浓度为4 mmol/L时,A11和A23菌株共培养对重金属的吸附效果最佳,Cd(Ⅱ)去除率为60%(图1C),同时能够完全去除As(V)(图1D)。此外,由于液体离子和pH值的显著影响,Cd(Ⅱ)在培养基中的溶解度会呈现一定程度的降低;在测定砷和镉的含量时需要到高浓度重金属溶液进行梯度稀释,这可能是导致重金属含量曲线出现波动的原因。

2.2 A11和A23菌株共培养铁锰氧化物的生成

A11和A23菌株共培养铁锰氧化物扫描电镜(SEM)结果显示,未加入Cd(Ⅱ)和As(V)培养时,A11和A23菌株的菌体形态主要呈现杆状,表面较为光滑,未见有明显生物铁锰氧化物生成(图2A);加入一定量的Cd(Ⅱ)和As(V)培养,菌体表面粗糙,有明显胞外物质附着(图2C);Mn(Ⅱ)浓度提高到

4 mmol/L时,细胞周围生成明显的沉淀物质,且细菌聚集成团(图2E)。能谱扫描分析结果显示,未添加Cd(Ⅱ)和As(V)培养的细菌细胞表面主要含有C、O和N 3种元素(图2B);添加Cd(Ⅱ)和As(V)后检测到Mn的存在,随着Mn(Ⅱ)初始浓度的增加,O和Mn比例也增加(图2D、F)。以上结果表明,Cd(Ⅱ)和As(V)的加入可以促进生物铁锰氧化物的生成。

2.3 A11和A23菌株处理对小白菜中镉和砷含量的影响

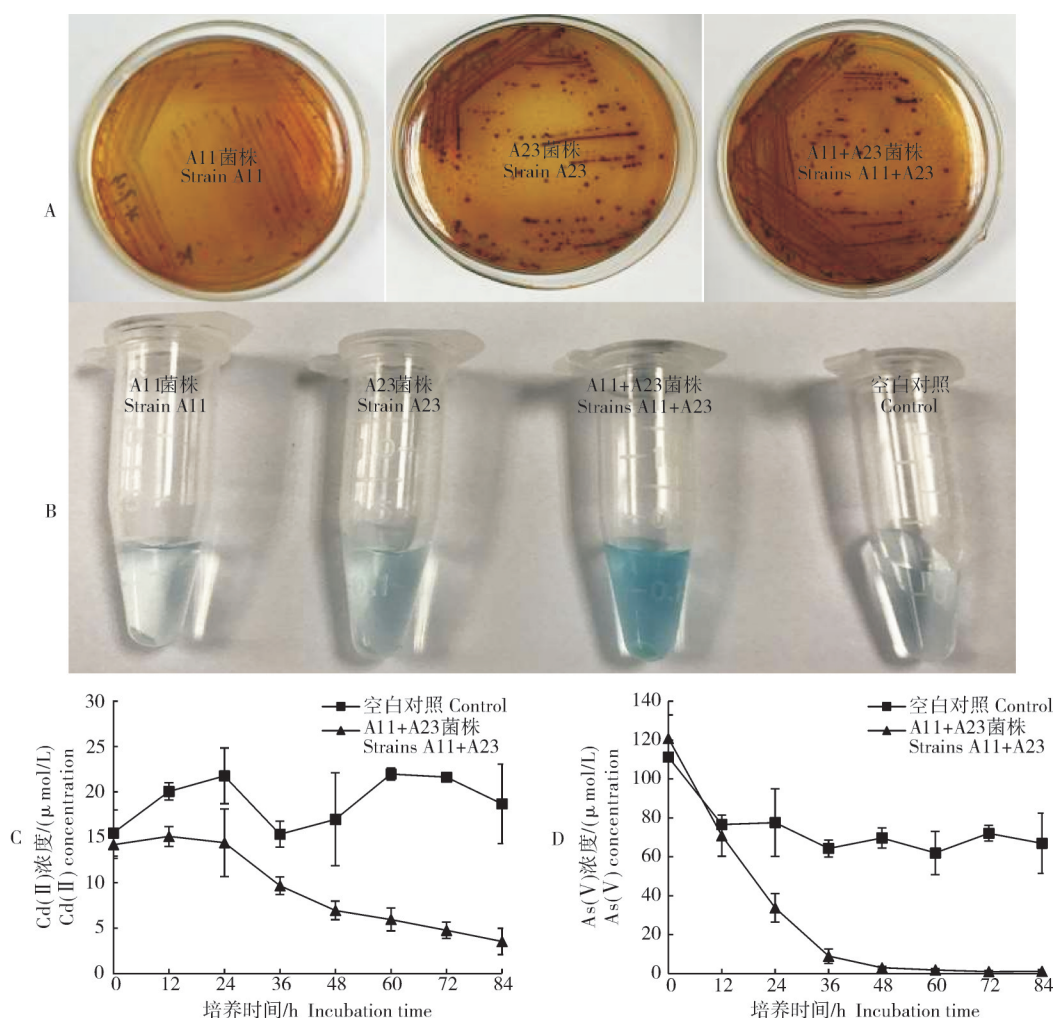
在自然条件下,即使不添加外源铁锰,土壤中仍有足够含量的铁锰,使得A11和A23菌株能够介导铁锰氧化物的产生。小白菜在不同处理条件下种植30 d,收获后测定地上部分和根中镉和砷含量,结果显示1 mg/kg Cd(Ⅱ)+50 mg/kg As(V)处理条件下,加入A11和A23菌株与对照(不加菌株)相比,小白菜地上部分对Cd(Ⅱ)的积累减少32.0%(图3A)、As(V)的积累减少19.6%(图3C);小白菜根对Cd(Ⅱ)的积累减少26.2%(图3B)、As(V)的积累减少20.3%(图3D)。2 mg/kg Cd(Ⅱ)+50 mg/kg As(V)处理条件下,加入A11和A23菌株与对照(不加菌株)相比,小白菜地上部分对Cd(Ⅱ)的积累减少27.2%(图3A)、As(V)的积累减少22.9%(图3C),小白菜根对Cd(Ⅱ)的积累减少28.6%(图3B)、As(V)的积累减少57.0%(图3D)。

2.4 A11和A23菌株处理对小白菜氧化压力相关酶活性的影响

由图4可知,在土壤中加入2 mg/kg Cd(Ⅱ)和50 mg/kg As(V)的处理下,与不加入菌株的对照组相比,加入A11和A23菌株使小白菜超氧化物歧化酶(SOD)活性降低了7.1%(图4A),过氧化物酶(POD)活性降低了28.5%(图4B),过氧化氢酶(CAT)活性降低了21.7%(图4C),丙二醛的含量降低了30.0%(图4D)。与不加入菌株的对照组相比,加入A11和A23菌株显著提高了小白菜的鲜质量(图4F)。以上结果表明,A11和A23菌株有助于缓解镉和砷对小白菜带来的氧化压力,缓解镉和砷对小白菜生长的抑制。

2.5 A11和A23菌株处理对土壤可利用态砷含量的影响

在土壤中添加2 mg/kg Cd(Ⅱ)+50 mg/kg As(V)处理下,A11和A23菌株的加入使残渣态砷的比例增加了14.4%、砷铝态的比例增加了0.8%、钙型砷的比例增加了1.3%,铁型砷的比例减少了



A: A11 和 A23 菌株单独培养及共培养的铁氧化结果 The iron oxidation of bacteria A11 and A23 cultured separately or co-cultured; B: A11 和 A23 菌株单独培养及共培养的锰氧化结果 The manganese oxidation of bacteria A11 and A23 cultured separately or co-cultured; C: A11 和 A23 菌株共培养对 Cd(II) 的去除效果 The immobilized ability of co-culture by strain A11 and A23 for cadmium; D: A11 和 A23 菌株共培养对 As(V) 的去除效果 The immobilized ability of co-culture by strain A11 and A23 for arsenic.

图1 肠杆菌 A11 和丛毛单胞菌 A23 的铁氧化和锰氧化能力及共培养对镉和砷的去除效果

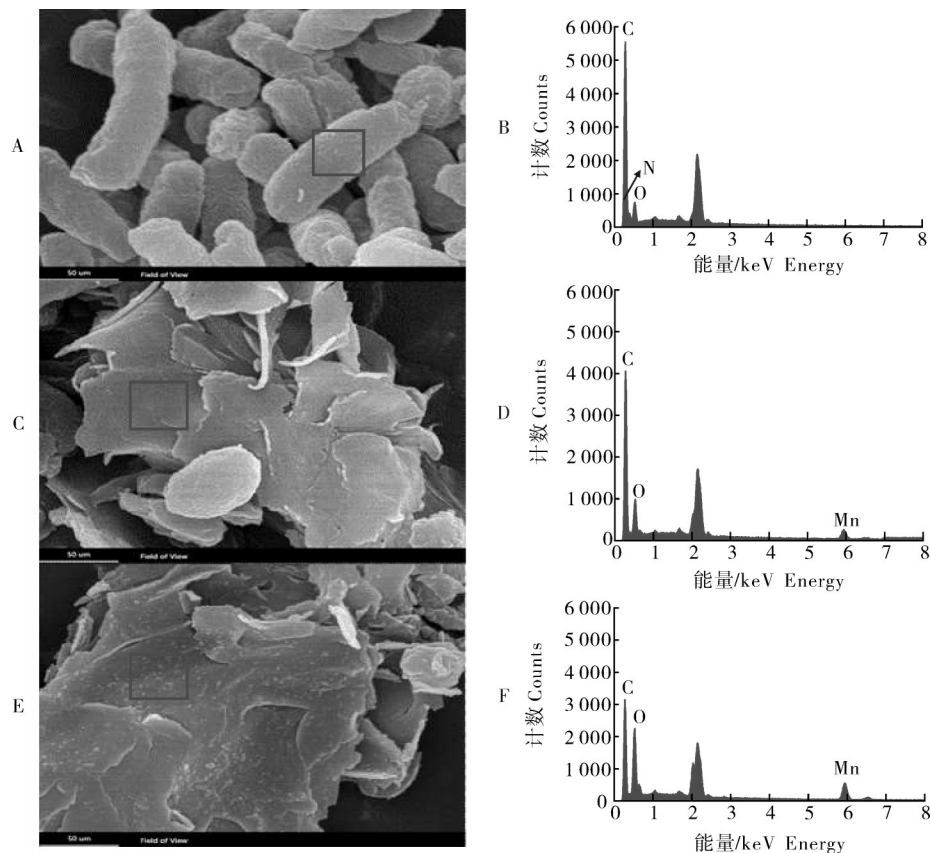
Fig. 1 The iron-oxidation and manganese-oxidation of *Enterobacter* sp. A11 and *Comamonas* sp. A23 and the immobilized ability of strains A11 and A23 for cadmium and arsenic

13.8%、可交换态砷的比例减少了 0.1% (图 5)。结果表明, A11 和 A23 菌株的加入减少了镉和砷的生物可利用度, 在一定程度上减少了其毒害作用。

3 讨论

镉砷共超标对生物乃至环境构成的风险远高于其单一存在^[10], 复合钝化剂修复土壤镉砷共污染具有广阔应用前景^[12]。微生物介导的锰氧化是通过直接氧化或间接氧化实现的^[17], 直接氧化多通过多糖和蛋白质直接催化, 其中研究最多的为多铜氧化酶(MCO)和动物血红素过氧化物酶(AHP); 间接氧化是通过释放超氧自由基, 改变环境的 pH 值或氧化还

原电位实现的^[17-18]。许多微生物具有锰氧化能力, 但通过微生物相互作用实现锰氧化的研究尚不多见^[19]。Liang 等^[19]研究发现 2 种细菌(节杆菌属和鞘氨醇菌属)在单独培养时不具备锰氧化活性, 共培养且细菌菌株比例为 4:1 至 16:1 时可以快速氧化锰, 进一步研究发现^[19-20], 共培养物中表达的锰氧化蛋白为节杆菌属的胆红素氧化酶 *baxA*, 在节杆菌 QXT-31 单独培养时该基因沉默; 2 种菌株共培养时鞘氨醇菌 QXT-31 增加节杆菌 QXT-31 的氧化压力, 节杆菌 QXT-31 为了提高存活率而氧化 Mn(II)。本研究中, 丛毛单胞菌 A23 具有锰氧化蛋白多铜氧化酶(序列号 2809141284), 且单独培养时具有微弱



A-B: 4 mmol/L Mn(II)、0.75 mmol/L Fe(II); C-D: 1 mmol/L Mn(II)、0.75 mmol/L Fe(II)、20 μ mol/L Cd(II)、100 μ mol/L As(V); E-F: 4 mmol/L Mn(II)、0.75 mmol/L Fe(II)、20 μ mol/L Cd(II)、100 μ mol/L As(V)。

图2 肠杆菌A11和丛毛单胞菌A23共培养生成铁锰氧化物的扫描电镜和能谱扫描分析

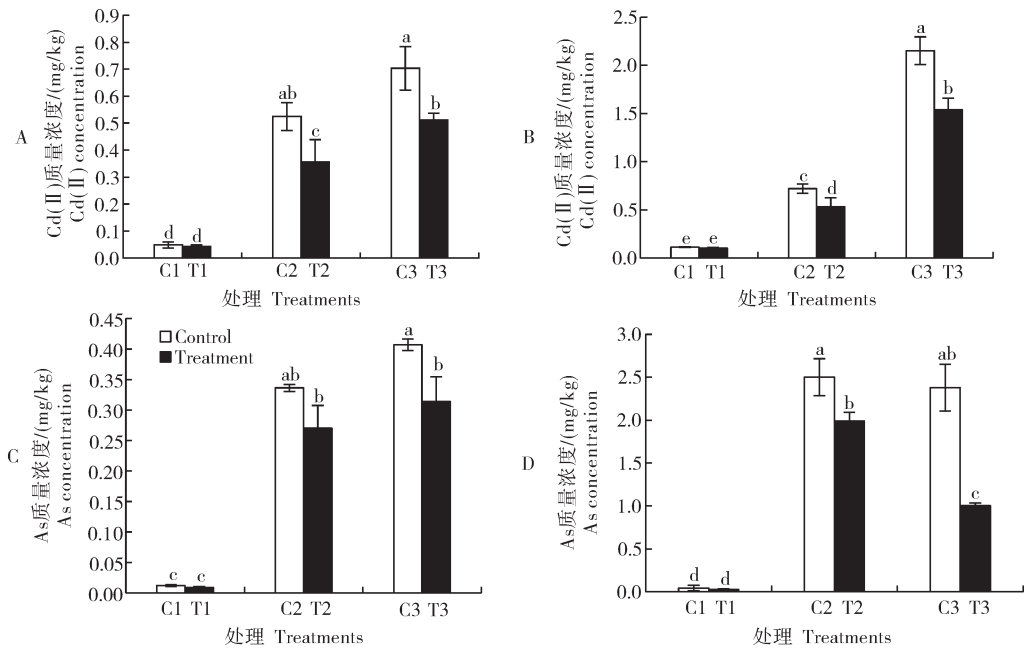
Fig. 2 SEM and EDX analysis of the production of Fe-Mn oxides achieved through the co-cultivation of *Enterobacter* sp. A11 and *Comamonas* sp. A23

的锰氧化能力,当肠杆菌A11与菌株A23共培养时,菌株A23锰氧化能力增强(图1B)。根据已有研究推测,A11和A23菌株在共培养过程中由于种间互作产生某种物质,该物质诱导菌株A23的多铜氧化酶表达上调,以提高菌株锰氧化速率。

锰氧化物对Cd(II)等阳离子的吸附能力大于铁氧化物^[12],而铁氧化物表面位点密度高,且可以和砷形成双齿共角络合物^[9],因此对砷有很好的亲和性,且高铁锰比的生物铁锰氧化物对砷有更强的吸附能力。同时,锰浓度增加,该体系对砷的吸附效果也会增强,锰可以氧化Fe(II)等低价重金属,Fe(II)被锰氧化生成FeOOH沉淀,增强对砷等重金属的吸附^[21]。镉可以通过吸附、同晶取代或共沉淀与铁(氢)氧化物结合^[22],通过吸附、络合作用或嵌入共沉淀与锰氧化物结合^[22],影响该体系生物铁锰氧化物钝化镉的因素还需要进一步探究。在BFMO钝化镉砷的过程中二次释放的Fe(II)和Mn(II)会被重新

氧化,为Cd(II)和As(V)提供新的吸附位点^[23]。锰过氧化物酶受Mn(II)和过氧化氢的共同诱导,在Mn(II)存在时,过氧化氢可以诱导锰氧化酶转录^[24]。砷等重金属会导致细菌过氧化氢等活性氧的产生增加,镉不会直接产生活性氧自由基,但也会间接提高细菌氧化压力^[25-26]。因此,镉和砷的加入使过氧化氢浓度增高,催化了锰氧化过程,使得生物铁锰氧化物形成速率快于不添加镉和砷时。BFMO在吸附固定镉和砷时会形成循环系统,以保证其吸附效果的持久性和稳定性,从而更好地发挥对镉和砷的钝化作用^[23]。同时,铁和锰在土壤中分布广泛,即使不添加外源铁锰,A11和A23菌株仍可介导铁锰氧化物形成,实现原位修复镉砷复合污染,具有广阔的应用前景。

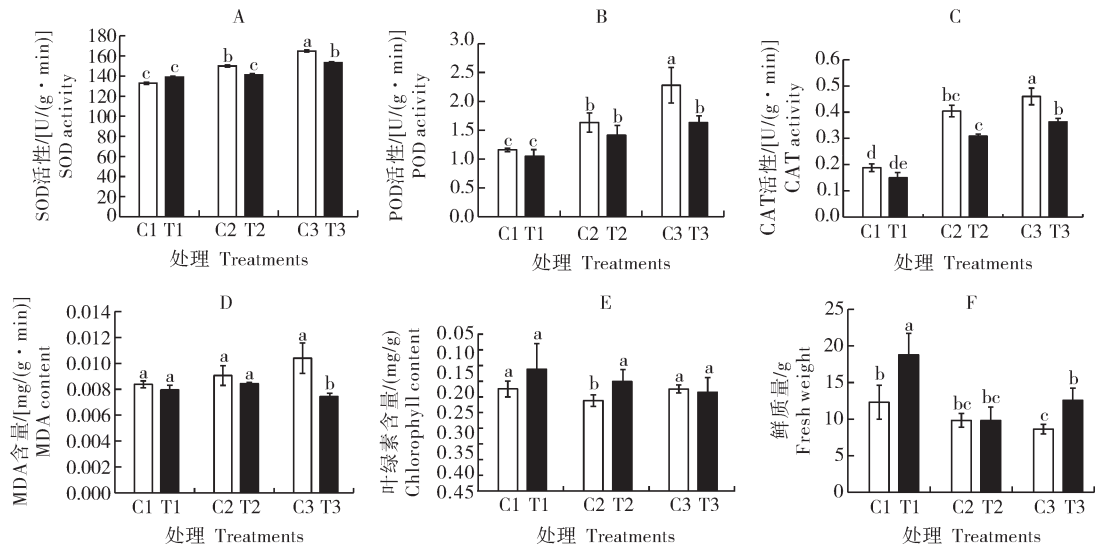
此外,铁锰是天然的土壤改良剂,铁锰氧化物是土壤中常见的活性物质,可以减少土壤中镉和砷的流动性和生物有效性。根据改良的BCR(european



不同处理下小白菜地上部分(A)和根部(B)镉含量以及小白菜地上部分(C)和根部(D)砷含量。The contents of cadmium in the aboveground parts (A) and roots (B), as well as the levels of arsenic in the aboveground parts (C) and roots (D) of *Brassica rapa* L., were assessed under different treatments.

图3 肠杆菌A11和丛毛单胞菌A23处理土壤盆栽试验中小白菜镉和砷的含量

Fig. 3 The content of cadmium and arsenic of *Brassica rapa* L. under the *Enterobacter* sp. A11 and *Comamonas* sp. A23 treatments in soil pot experiments



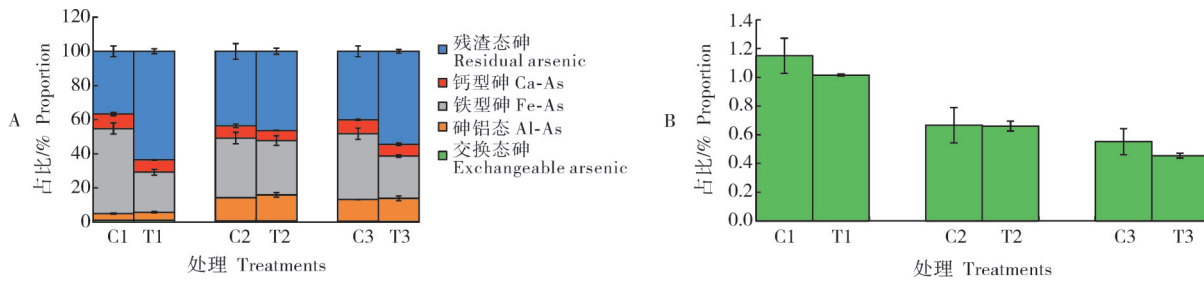
A: SOD 活性 SOD activity; B: POD 活性 POD activity; C: CAT 活性 CAT activity; D: MDA 含量 MDA content; E: 叶绿素含量 Chlorophyll content; F: 鲜质量 Fresh weight.

图4 肠杆菌A11和丛毛单胞菌A23处理对小白菜生长和酶活性的影响

Fig. 4 The growth and enzyme activities of *Brassica rapa* L. under the *Enterobacter* sp.

A11 and *Comamonas* sp. A23 treatments

community bureau of reference) 顺序萃取法, 镉的化学形态可分为酸可提取态、可还原态(与铁和锰氧化物结合)、可氧化态(与有机物和硫化物结合)和残渣态^[26-27]。前2种形态被认定为可溶性和可交换态镉, 即生物可利用态镉; 后2种形态为结合态和残留态镉, 为土壤中非生物可利用态镉^[14]。砷可以分为可交换态、铁铝氧化物结合态砷、钙结合态砷和难以提取的残渣态砷等多种形态^[25]。可利用态砷在土壤中



A: 肠杆菌 A11 和丛毛单胞菌 A23 共培养对土壤盆栽试验根际土壤中砷化学形态的影响 Effect of *Enterobacter* sp. A11 and *Comamonas* sp. A23 cocultured on chemical fractions of As in rhizosphere soil; B: A11 和 A23 菌株对根际土壤中可交换态砷的影响 Effect of the cocultured strains A11 and A23 on exchangeable arsenic in rhizosphere soil.

图5 肠杆菌 A11 和丛毛单胞菌 A23 处理对根际土壤中砷的化学形态的影响

Fig. 5 Effect of the chemical fractions of arsenic in rhizosphere soil under the *Enterobacter* sp.

A11 and *Comamonas* sp. A23 treatments

占比较小,但生物可利用性和迁移度强;铁铝氧化物结合态砷可以占到土壤中砷总量的 50%~60%,是砷存在的重要形态,该部分砷具有一定的生物可利用性。铁结合态砷较铝结合态砷更稳定,且含量更高;钙结合态砷稳定性比铁、铝结合态砷稳定性差,生物毒性较强。生物可利用性和迁移率弱、含量少、难以提取的其他形态砷一般归于残渣态砷,残渣态很稳定^[16]。本研究中,小白菜盆栽试验结果表明,A11 和 A23 菌株的投入可以钝化土壤中的镉和砷,减少镉的可利用态(包括酸可提取态和可还原态)和砷的可利用态,与根据纯培养条件试验结果预期一致。

镉和砷会对植物细胞产生毒害作用,高浓度的镉和砷会对植物产生胁迫,胁迫作用通常是植物的酶活受到抑制和产生大量的自由基带来的^[26-27]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物清除体内过量的自由基、适应胁迫环境的重要酶类,在植物耐镉和砷方面具有极其重要的作用^[26-27]。丙二醛(MDA)是植物细胞膜遭受逆境胁迫产生的过氧化产物,正常条件下植物体内的 MDA 含量很少^[27],植物在受到重金属胁迫时发生膜质过氧化,MDA 含量增多,同时产生大量活性氧自由基,体内抗氧化酶(SOD、POD 和 CAT 等)活性升高以响应这些氧化胁迫。除此之外,镉和砷抑制多种植物的光合作用,已有研究表明镉和砷干扰叶绿素的生成,砷还能提高叶绿素降解酶的活性,使叶绿素分解^[28]。小白菜能积累高浓度的重金属且消费广,常用于重金属污染修复的试验模式植物^[29]。本研究中,A11 和 A23 菌株的混合菌株降低了小白菜氧化压力相关酶的活性和丙二醛的生成,在一定程度上缓解了镉和砷对小白菜产生的氧化压力,降低了氧化胁迫。同时,提高了小白菜的叶绿素含量(图

4E),减少镉和砷对小白菜光合作用的毒害。A11 和 A23 菌株介导生成的 BFMO 可以显著降低镉和砷在小白菜内的积累,且镉砷在根部的生物积累远高于地上部分。有研究表明,铁/锰可以在植物的根表面形成斑块,可以螯合重金属并抑制其吸收和转移^[30]。土壤中镉和砷的总量不足以评估它们产生的风险,镉和砷产生的环境风险与存在形态密切相关^[16]。降低镉和砷的生物有效性,阻控镉和砷向作物迁移是减轻其毒害作用的有效手段。

综上,A11 和 A23 菌株共培养介导生成生物铁锰氧化物修复镉砷污染土壤、降低小白菜的镉砷积累是可行的,后续研究将进一步解析 A11 和 A23 菌株互作促进锰氧化的机制,进而分析细菌与小白菜互作降低小白菜重金属积累的可能机制。重金属污染农田土壤具有复杂性,常伴随着多种重金属的复合污染,针对微生物在镉和砷复合重金属污染条件下解毒机制的探究,将为镉砷污染农田的修复治理提供微生物菌种资源及理论依据。

参考文献 References

- [1] ÅKESSON A, BARREGARD L, BERGDAHL I A, et al. Non-renal effects and the risk assessment of environmental cadmium exposure [J]. *Environmental health perspectives*, 2014, 122(5): 431-438.
- [2] XIA X, WU S J, ZHOU Z J, et al. Microbial Cd(II) and Cr(VI) resistance mechanisms and application in bioremediation [J/OL]. *Journal of hazardous materials*, 2021, 401: 123685 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123685>.
- [3] RAHMAN Z, SINGH V P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr) (VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview [J/OL]. *Environmental monitoring and assessment*, 2019, 191(7): 419 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-0800-0>.

- org/10.1007/s10661-019-7528-7.
- [4] HUYBRECHTS M, CUYPERS A, DECKERS J, et al. Cadmium and plant development: an agony from seed to seed [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(16): 3971 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.3390/ijms20163971>.
 - [5] YAN J Y, WU X Z, LI T, et al. Effect and mechanism of nano-materials on plant resistance to cadmium toxicity: a review [J/OL]. Ecotoxicology and environmental safety, 2023, 266: 115576 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115576>.
 - [6] 吴雅静, 王华伟, 孙英杰, 等. 原位形成生物铁锰氧化物对砷(Ⅲ/V)的去除效果与机制[J]. 环境科学学报, 2021, 41(2): 526-535. WU Y J, WANG H W, SUN Y J, et al. Removal efficiency and mechanism of arsenic(Ⅲ/V) by *in-situ* generated biogenic Fe-Mn oxides [J]. Acta scientiae circumstantiae, 2021, 41(2): 526-535 (in Chinese with English abstract).
 - [7] YANG D, YANG S Y, WANG L, et al. Performance of biochar-supported nanoscale zero-valent iron for cadmium and arsenic co-contaminated soil remediation: insights on availability, bioaccumulation and health risk [J/OL]. Environmental pollution, 2021, 290: 118054 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118054>.
 - [8] ALESSI D S, FEIN J B. Cadmium adsorption to mixtures of soil components: testing the component additivity approach [J]. Chemical geology, 2010, 270(1/2/3/4): 186-195.
 - [9] 李英, 商建英, 黄益宗, 等. 镉砷复合污染土壤钝化材料研究进展[J]. 土壤学报, 2021, 58(4): 837-850. LI Y, SHANG J Y, HUANG Y Z, et al. Research progress on passivation materials for cadmium-arsenic co-contamination in soil [J]. Acta pedologica sinica, 2021, 58(4): 837-850 (in Chinese with English abstract).
 - [10] XUL, SU J F, ALIA, et al. Denitrification performance of nitrate-dependent ferrous (Fe^{2+}) oxidizing *Aquabacterium* sp. XL4: adsorption mechanisms of bio-precipitation of phenol and estradiol [J/OL]. Journal of hazardous materials, 2022, 427: 127918 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127918>.
 - [11] BAI Y, YANG T T, LIANG J S, et al. The role of biogenic Fe-Mn oxides formed *in situ* for arsenic oxidation and adsorption in aquatic ecosystems [J]. Water research, 2016, 98: 119-127.
 - [12] ZHAO X M, YUAN Z D, WANG S F, et al. The fate of co-existent cadmium and arsenic during $\text{Fe}(\text{II})$ -induced transformation of $\text{As}(\text{V})/\text{Cd}(\text{II})$ -bearing ferrihydrite [J/OL]. Chemosphere, 2022, 301: 134665 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134665>.
 - [13] ZHANG C H, GE Y, YAO H, et al. Iron oxidation-reduction and its impacts on cadmium bioavailability in paddy soils: a review [J]. Frontiers of environmental science & engineering, 2012, 6(4): 509-517.
 - [14] WANG X, HU K, XU Q, et al. Immobilization of Cd using mixed *Enterobacter* and *Comamonas* bacterial reagents in pot experiments with *Brassica rapa* L. [J]. Environmental science & technology, 2020, 54(24): 15731-15741.
 - [15] 井晓欢, 杨季芳, 陈吉刚. 锰氧化细菌研究进展[J]. 浙江万里学院学报, 2015, 28(6): 61-68. JING X H, YANG J F, CHEN J G. Advance in studies of manganese oxidizing bacteria [J]. Journal of Zhejiang Wanli University, 2015, 28(6): 61-68 (in Chinese with English abstract).
 - [16] VAN HERREWEGHE S, SWENNEN R, VANDERCASTEELE C, et al. Solid phase speciation of arsenic by sequential extraction in standard reference materials and industrially contaminated soil samples [J]. Environmental pollution, 2003, 122(3): 323-342.
 - [17] HUANG Y H, HUANGFU X L, MA C X, et al. Sequestration and oxidation of heavy metals mediated by $\text{Mn}(\text{II})$ oxidizing microorganisms in the aquatic environment [J/OL]. Chemosphere, 2023, 329: 138594 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138594>.
 - [18] 杨宏, 钟洁, 纪娟, 等. $\text{Mn}(\text{II})$ 氧化细菌的微生物学研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(1): 143-146. YANG H, ZHONG J, JI J, et al. Advance in microbiological studies of $\text{Mn}(\text{II})$ oxidizing bacteria [J]. Chinese journal of applied & environmental biology, 2008, 14(1): 143-146 (in Chinese with English abstract).
 - [19] LIANG J S, BAI H Y, HU C Z, et al. Cooperative $\text{Mn}(\text{II})$ oxidation between two bacterial strains in an aquatic environment [J]. Water research, 2016, 89: 252-260.
 - [20] LIANG J S, BAI H Y, MEN Y J, et al. Microbe-microbe interactions trigger $\text{Mn}(\text{II})$ -oxidizing gene expression [J]. The ISME journal, 2017, 11(1): 67-77.
 - [21] MA L, CAI D M, TU S X. Arsenite simultaneous sorption and oxidation by natural ferruginous manganese ores with various ratios of Mn/Fe [J/OL]. Chemical engineering journal, 2020, 382: 123040 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123040>.
 - [22] LIU L, WANG X M, ZHU M Q, et al. The speciation of Cd in Cd-Fe coprecipitates: does Cd substitute for Fe in goethite structure? [J]. ACS earth and space chemistry, 2019, 3(10): 2225-2236.
 - [23] CAO R, KANG G D, ZHANG W W, et al. Biochar loaded with ferrihydrite and *Bacillus pseudomycoides* enhances remediation of co-existed $\text{Cd}(\text{II})$ and $\text{As}(\text{III})$ in solution [J/OL]. Bioresource technology, 2024, 395: 130323 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.130323>.
 - [24] LI D, ALIC M, BROWN J A, et al. Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen [J]. Applied and environmental microbiology, 1995, 61(1): 341-345.
 - [25] TAN W T, ZHOU H, TANG S F, et al. Enhancing $\text{Cd}(\text{II})$ adsorption on rice straw biochar by modification of iron and manga-

- nese oxides[J/OL]. Environmental pollution, 2022, 300: 118899 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118899>.
- [26] 徐鼎, 刘艳丽, 杜克兵, 等. 砷对植物生长的影响及抗氧化系统响应机制研究进展[J]. 湖北林业科技, 2014, 43(1): 8-15. XU D, LIU Y L, DU K B, et al. Progress on effects of arsenic on plant growth and response mechanisms of antioxidant systems[J]. Hubei forestry science and technology, 2014, 43(1): 8-15 (in Chinese).
- [27] 熊愈辉, 杨肖娥. 镉对植物毒害与植物耐镉机理研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13): 2969-2971. XIONG Y H, YANG X E. Review of the toxic effects of cadmium on plants and their tolerant mechanism[J]. Journal of Anhui agricultural sciences, 2006, 34(13): 2969-2971 (in Chinese with English abstract).
- [28] QIN Y, LI Z M, SUN J, et al. Manganese (II) sulfate affects the formation of iron-manganese oxides in soil and the uptake of cadmium and arsenic by rice[J/OL]. Ecotoxicology and environmental safety, 2023, 263: 115360 [2024-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115360>.
- [29] RANI A, KUMAR A, LAL A, et al. Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review [J]. International journal of environmental health research, 2014, 24(4): 378-399.
- [30] ZONG H Y, LI K C, LIU S, et al. Improvement in cadmium tolerance of edible rape (*Brassica rapa* L.) with exogenous application of chitooligosaccharide[J]. Chemosphere, 2017, 181: 92-100.

Effects of iron- and manganese-oxidizing *Enterobacter* and *Comamonas* on absorption of cadmium and arsenic in *Brassica rapa* L.

HUO Xueqi, WANG Xing, YE Linfan, SHI Kaixiang

College of Life Science and Technology, National Key Laboratory of Agricultural Microbiology,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract *Enterobacter* sp. A11 and *Comamonas* sp. A23 with the ability to oxidize Fe and Mn compounds was used to study the feasible methods for co-removing the cadmium (Cd) and arsenic (As) in soil. The effects of the biological Fe and Mn oxides (BFMO) generated by the mixed strains of A11 and A23 on the absorption of cadmium and arsenic in *B. rapa*. The results of scanning electron microscopy (SEM) showed that iron and manganese oxides were located on the surface of cells and led bacteria to aggregate into clusters. The results of pot experiment showed that strains A11 and A23 immobilized Cd and As in soil, reduced the proportion of bioavailable Cd and As, increased the proportion of unavailable Cd and As, and exhibited the absorption and accumulation of Cd and As in the aboveground and root parts of *Brassica rapa* L. as well. It is indicated that the biological iron manganese oxide generated by the mixed strains of A11 and A23 has a good adsorption effect on cadmium and arsenic in *B. rapa*.

Keywords *Enterobacter*; *Comamonas*; biological iron manganese oxide; cadmium; arsenic

(责任编辑: 葛晓霞)