

一株耐镉促生细菌 *Achromobacter* sp. A81 的分离鉴定及特性

陆君铭[#], 吉春喜[#], 郭健杰, 刘睿, 张莉刚, 殷豆豆, 唐家昊, 张红岩^{*}, 申乃坤^{*}

广西民族大学 海洋与生物技术学院, 广西多糖材料与改性重点实验室, 广西 南宁 530006

陆君铭, 吉春喜, 郭健杰, 刘睿, 张莉刚, 殷豆豆, 唐家昊, 张红岩, 申乃坤. 一株耐镉促生细菌 *Achromobacter* sp. A81 的分离鉴定及特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(1): 90-105.

LU Junming, JI Chunxi, GUO Jianjie, LIU Rui, ZHANG Ligang, YIN Doudou, TANG Jiahao, ZHANG Hongyan, SHEN Naikun. Isolation, identification, and characterization of a cadmium-tolerant bacterium *Achromobacter* sp. A81 with plant growth-promoting effect[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(1): 90-105.

摘要:【目的】从广西某矿区污染土中筛选并鉴定耐镉(cadmium, Cd)促生细菌, 评估其耐 Cd、去 Cd²⁺效率、促生特性及对 Cd 胁迫下水稻生长的影响, 展现其在植物促长与土壤修复中的潜力。【方法】通过稀释涂布和 Cd²⁺浓度梯度驯化分离耐 Cd 细菌, 进一步通过形态学、生理生化及 16S rRNA 基因系统发育树法进行鉴定; 再运用微量稀释法、电感耦合等离子体质谱法、比色法测定菌株的耐 Cd 能力、去 Cd²⁺效率和植物促生特性; 最后通过盆栽试验考察施加菌株后对 Cd 胁迫下水稻生长的影响。【结果】从重金属污染土壤中分离得到 12 株对 Cd²⁺表现较好抗性的细菌, 其中对 Cd 耐受最好的一株细菌鉴定并命名为无色杆菌属(*Achromobacter* sp.) A81, 其对 Cd²⁺的耐受浓度高达 800 mg/L, 在 10 mg/L Cd²⁺浓度下培养 7 d, 其最大 Cd²⁺去除率为 44.66%; 菌株 A81 的上清液和菌体可共同吸附 Cd²⁺; 在 Cd 胁迫下分泌大量胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS), 主要成分为不溶性和可溶性蛋白。此外, 该菌株具有固氮、溶磷、产铁载体、吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶等植物促生活性, 展现出显著的促生潜力。盆栽试验结果表明, 与 Cd 胁迫组的对照相比, 接种菌株 A81 后水稻的株高、根长、茎粗和鲜重分别增加了 9.08%、39.59%、41.94%和 73.58%。【结论】本研究探究了 *Achromobacter* sp. A81 在耐 Cd、除 Cd 与植物促生方面的特性, 以及其在 Cd 污染土壤修复中的应用潜力, 为微生物治理重金属污染与农业绿色发展提供科学依据与优质菌株资源。

资助项目: 国家自然科学基金(32160017); 广西壮族自治区科技重大专项(AB21196019, AB21220020); 广西民族大学引进高层次人才科研项目(2018KJQD17); 广西民族大学国家级大学生创新创业项目(202410608026)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32160017), the Science and Technology Major Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region (AB21196019, AB21220020), the Scientific Research Project for Introducing High-level Talents of Guangxi Minzu University (2018KJQD17), and the National College Student Innovation and Entrepreneurship Project of Guangxi Minzu University (202410608026).

[#]Those authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding authors. E-mail: ZHANG Hongyan, hongyanzhang2008@163.com; SHEN Naikun, shennaik05@126.com

Received: 2024-08-07; Accepted: 2024-10-15; Published online: 2024-10-29

关键词: 耐镉; 无色杆菌属; 植物促生; 镉胁迫; 水稻盆栽

Isolation, identification, and characterization of a cadmium-tolerant bacterium *Achromobacter* sp. A81 with plant growth-promoting effect

LU Junming[#], JI Chunxi[#], GUO Jianjie, LIU Rui, ZHANG Ligang, YIN Doudou, TANG Jiahao, ZHANG Hongyan^{*}, SHEN Naikun^{*}

Guangxi Key Laboratory for Polysaccharide Materials and Modification, School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, Guangxi, China

Abstract: [Objective] To screen and identify cadmium (Cd)-tolerant bacteria with plant growth-promoting effect from contaminated soil of a mining area in Guangxi, characterize the strain screened out in terms of the Cd tolerance, Cd²⁺ removal efficiency, plant growth-promoting effect, and influence on rice growth under Cd stress, and demonstrate the potential of the strain in plant growth and soil remediation. [Methods] Cd-tolerant bacteria were isolated by the dilution coating method and Cd²⁺ concentration gradient acclimation and further identified based on the morphological, physiological, biochemical characteristics and the 16S rRNA gene phylogenetic tree. The Cd tolerance, Cd²⁺ removal efficiency, and plant growth-promoting effect of the target strain were measured by microdilution, inductively coupled plasma mass spectrometry, and colorimetry. Finally, the effect of the strain on the growth of rice plants under Cd stress was investigated by a pot experiment. [Results] Twelve strains of bacteria with good tolerance to Cd²⁺ were isolated from heavy metal-contaminated soil, and one strain with the best tolerance to Cd was identified as *Achromobacter* sp. A81, which could grow in the presence of 800 mg/L Cd²⁺. Strain A81 cultured with 10 mg/L Cd²⁺ for 7 days showed the maximum Cd²⁺ removal rate of 44.66%. Both the supernatant and cells of strain A81 demonstrated the ability to adsorb Cd²⁺. Under Cd stress, the strain secreted a large amount of extracellular polymeric substances (EPS) primarily composed of insoluble and soluble proteins. Furthermore, this strain was capable of fixing nitrogen, solubilizing phosphorus, and secreting siderophores, indole-3-acetic acid (IAA), and 1-aminocyclopropane-L-carboxylate (ACC) deaminase, demonstrating remarkable plant growth-promoting effect. Pot experiment results revealed that compared with the group subjected to Cd stress, the rice plants inoculated with strain A81 showed increases of 9.08%, 39.59%, 41.94%, and 73.58% in plant height, root length, stem diameter, and fresh weight, respectively. [Conclusion] This study investigated the Cd tolerance, Cd removal efficiency, and plant growth-promoting effect of *Achromobacter* sp. A81 and assessed the application potential of this strain in Cd-contaminated soil remediation, providing a scientific basis and high-quality strain resources for the microbial remediation of heavy metal pollution and green agricultural development. **Keywords:** cadmium tolerance; *Achromobacter* sp.; plant growth-promoting; cadmium stress; potted rice plant

镉(cadmium, Cd)是一种具有严重毒害的重金属,因其显著的生物蓄积性、致突变、致畸性和致癌性,已成为不可忽视的环境污染物^[1]。在工业化与农业现代化加速融合的背景下,矿产过度开发和农药滥用加剧了 Cd 污染,威胁人类健康与生态安全^[2]。值得关注的是, Cd 污染通过土壤-作物链的传递,严重危害农业生产的稳定性和粮食安全^[3]。水稻(*Oryza sativa* L.)是全球三大粮食作物之一,长期生长在 Cd 污染环境下的水稻会限制其生长,减少产量,并使稻米中 Cd 含量超标^[4]。Cd 经过食物链逐级传递,最终富集在人体,特别是肾脏,从而引发健康问题,如泌尿功能异常、骨骼软化、疼痛及肾功能受损等症状^[5]。因此,急需有效 Cd 污染修复和治理策略。

传统 Cd 污染修复手段,受成本高、周期长、效果有限及二次污染等限制^[6]。相比之下,微生物修复技术作为新兴环境友好型策略,利用微生物通过吸附、矿化和沉淀等机制降解 Cd 污染物^[7]。研究表明,真菌刺孢曲霉(*Aspergillus aculeatus*)在 10 mg/L Cd²⁺浓度下培养 72 h,其最大去除效率为 46.80%^[8];耐 Cd 伯克霍尔德菌属(*Burkholderia* sp.) JLS17 在 10 mg/L Cd²⁺浓度下培养 72 h,其最大去除效率为 41.90%^[9]。在实际应用中,微生物修复技术常与其他方法联合应用,提高修复效率,如产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*) MCC 3092 不仅促进水稻生长[具有产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶、固氮等促生特性],还能减少水稻对 Cd 的吸收^[10]。因此,微生物修复技术的探索与应用逐渐成为 Cd 污染治理的研究热点。

耐 Cd 细菌(Cd tolerant bacteria, CdtB)是一类能在重金属污染环境存活的细菌,如假单胞

菌属(*Pseudomonas* sp.)、伯克霍尔德菌属(*Burkholderia* sp.)和无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)等,研究表明 CdtB 利用生物吸附、浸出、转化、降解和积累等机制去除环境中的 Cd^[11]。耐重金属的植物促生细菌(plant growth promoting bacteria, PGPB)可以促进植物生长,增强抗逆性,其促生机制分为直接与间接两种:直接机制通过产生促生物质(如 IAA 等)和提高土壤营养(氮、磷、钾)利用率;间接机制则通过产生抗生素、分泌铁载体及诱导系统抗性来抵御病原微生物与虫害,优化植物对生物胁迫的能力,并影响土壤中重金属的生物利用性与毒性,从而提升植物修复重金属污染的效率^[12]。例如, Tian 等报道成团泛菌(*Pantoea agglomerans*) Tm02 对 1 000 μmol/L CdCl₂ 有较强的耐受性,并且具有产生 IAA、固氮和解磷的能力,通过水培发现接种该菌株能在 Cd 胁迫下促进水稻生长和降低水稻籽粒 Cd 的积累作用,展现出 Cd 污染土壤修复的潜力^[13]。然而,公开报道的耐 Cd PGPB 的菌株种类较为单一,并对其去除 Cd²⁺的机理研究较少。

已有研究发现,无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)因其出色的环境适应性,在环境污染治理领域展现出巨大的应用潜力^[14]。例如,王焯等^[15]报道木糖氧化无色杆菌(*Achromobacter xylosoxidans*) D16 不仅能在铀浓度 350 mg/kg 条件下生长,还可以分泌 IAA 和 ACC 脱氨酶促进植物生长,通过盆栽发现接种该菌能有效减少铀的积累和减轻铀污染对苜蓿的影响。鉴于当前微生物重金属研究多聚焦于耐 Cd 促生微生物筛选与鉴定,而有关 *Achromobacter* sp. 的重金属吸附机制及其对水稻 Cd 胁迫响应的具体作用机制尚待深入探索。本研究从 Cd 污染土壤中分离得到一株强耐 Cd 细菌,先通过形态学、生理生化及 16S rRNA 基因鉴定菌种;再

运用微量稀释法、电感耦合等离子体质谱法、比色法测定菌株的耐 Cd 性、去 Cd²⁺效率和植物促生特性；最后通过盆栽试验，研究施加菌株对 Cd 胁迫水稻生长的影响。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

重金属污染土样采自广西壮族自治区某矿区附近严格管控地块。水稻品种为‘百香优 125’，由广西百香高科种业有限公司提供。盆栽土壤：人为加入氯化镉(CdCl₂)，为确保土壤中 Cd²⁺浓度为 120 mg/kg，每 3 d 混匀搅拌 1 次，老化 4 周后用于水稻栽培。

1.2 培养基及主要试剂

1.2.1 培养基

LB 培养基、有机磷细菌培养基和铬天青(chrome azurol sulphonate, CAS)检测培养基均购自青岛海博生物技术有限公司。促生培养基：阿须贝固氮菌培养基(Ashby)和 King 氏培养基以及 Salkowski 比色液均参照文献[16]配制。ADF 培养基参照文献[17]配制。

1.2.2 主要试剂

200 mg/mL 的 CdCl₂ 溶液用 0.22 μm 滤膜过滤除菌备用。PCR 扩增所用试剂购自生工生物工程(上海)股份有限公司，引物 27F 和 1492R 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3 菌种来源及耐 Cd 菌株的分离纯化

从广西壮族自治区某矿区的重金属污染土壤采集样品。取 5 g 的土壤于 45 mL 无菌生理水，在 35 °C、200 r/min 的恒温振荡摇床培养 30 min。再用无菌水梯度稀释土样上清至 10⁻¹、10⁻³ 和 10⁻⁵。取各稀释液 100 μL 涂布于 100 mg/L Cd²⁺ 的 LB 固体培养基，筛选出长势良好的单菌落，分别接种至不同 Cd²⁺ 浓度(200、400、600、800 和 1 000 mg/L)的 LB 固体培养基上进行适

应性驯化。在 800 mg/L Cd²⁺ 的 LB 固体培养基板上，选取能在 48 h 内生长稳定的细菌进行连续划线纯化，将纯化的菌株与灭菌甘油(终浓度为 30%)混合，并储存在 -80 °C 的冰箱中备用。

1.4 菌株 A81 的鉴定

将菌体划线接种在 LB 固体培养基上，于 35 °C 培养 48 h 后观察菌落形态，并进行革兰氏染色及扫描电镜观察。参考《伯杰细菌鉴定手册》^[18] 对菌株进行生理、生化鉴定。采用 Chelex-100 纯化 DNA 提取试剂盒(天津诺维莱博科技有限公司)提取菌株 A81 的 DNA^[19]。使用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAG TTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTT ACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(50 μL)：2×Taq PCR Mix 25 μL，上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL，DNA 模板 2 μL，ddH₂O 21 μL。PCR 反应条件：95 °C 预变性 4 min；95 °C 变性 1 min，55 °C 退火 1 min，72 °C 延伸 2 min，32 个循环；72 °C 终延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后，送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。所得序列上传至 EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) 数据库进行 BLAST 多重序列比对，然后利用 MEGA 11 软件构建系统发育树进行分子生物学鉴定。

1.5 菌株的耐 Cd 能力测定

参照 Yin 等的方法稍作修改^[20]。将纯种菌株接种到 LB 液体培养基中，在 35 °C、200 r/min 条件下培养 48 h 作为种子液(1×10⁶ CFU)。向 LB 液体中添加 200 mg/mL 的 CdCl₂ 溶液，以调整 Cd²⁺ 溶度至 0、100、200、400、600、800 和 1 200 mg/L。接种菌株 A81 种子液于上述体系中，在 35 °C、200 r/min 下培养 3 d。随后，使用酶标仪测定其 OD₆₀₀ 值。OD₆₀₀>0.2 作为存活标准。实验设置 3 组重复以确保数据可靠性。

1.6 菌株 A81 在不同 Cd²⁺浓度下的生长曲线的测定

将种子液接入含不同 Cd²⁺浓度(0、200、400、800 和 1 200 mg/L)的 LB 液体培养基中。在 35 °C、200 r/min 条件下培养,每隔 8 h 取样,使用酶标仪测定其 OD₆₀₀ 值。每组处理设 3 次重复。基于测定数据,绘制菌株 A81 在不同 Cd²⁺浓度下的生长曲线。

1.7 菌株 A81 最适生长条件

最适温度实验:将菌株 A81 接种于 LB 培养基内,置于不同温度(10–45 °C)摇床培养箱内,在 200 r/min 的条件下培养 72 h 后测定其 OD₆₀₀ 值。酸碱性及耐盐性实验:将 LB 培养基调至不同 pH 值(4.0–11.0)或含有不同浓度的 NaCl (0–10%),接种菌株 A81,在 35 °C、200 r/min 的条件下培养 3 d,测定其 OD₆₀₀ 值。各处理均设 3 次重复。

1.8 不同初始 Cd²⁺浓度下,菌株 A81 对 Cd²⁺的去除效率

参照 Yin 等和 Li 等的方法稍作修改,研究菌株 A81 在不同初始 Cd²⁺浓度下的 Cd²⁺去除效率^[20-21]。将菌株 A81 接种至不同 Cd²⁺浓度(10、50、100、200、400 和 800 mg/L)的 LB 液体培养基。在 35 °C、200 r/min 的条件下培养 3 d 和 7 d。随后,取 2 mL 菌液,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜。利用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, Aglient 公司)测定待测上清液的 Cd²⁺浓度。各处理均设 3 次重复。Cd²⁺去除率计算如公式(1)所示。

$$\text{去除率}=(C_0-C_e)/C_0\times 100\% \quad (1)$$

式中: C₀ 为初始 Cd²⁺浓度(mg/L); C_e 为上清液中 Cd²⁺浓度(mg/L)。

1.9 菌株 A81 对 Cd²⁺的吸附机理研究

1.9.1 发酵液不同组分对 Cd²⁺的去除作用

参照周野等^[22]的方法稍作修改。取 50 mL 发酵液,8 000 r/min 离心 10 min,取上清过 0.22 μm

滤膜后作为无菌发酵液;剩余菌体细胞使用 50 mL 无菌水重悬,制得菌体细胞悬液。随后,分别向含有 50 mL 的 100 mg/L Cd²⁺的 LB 培养基中加入 50 mL 的发酵液、无菌发酵液和菌体细胞悬液,在摇床内 35 °C、200 r/min 培养 12 h 混匀后再静置 4 h。按照 1.8 方法处理各组的上清液,用 ICP-OES 测定 3 组上清液的 Cd²⁺浓度,计算 Cd²⁺去除率。各处理均设 3 次重复,结果取平均值(下同)。

1.9.2 胞外聚合物(EPS)的提取及测定

将菌株 A81 分别接种于无 Cd²⁺和含有 400 mg/L Cd²⁺的 LB 液体培养基中,在 35 °C、200 r/min 下培养。采用离心法和加热法提取菌株 A81 的可溶性和不可溶性 EPS^[23]。于 10、20、30、40、50、60、70、80 和 90 h 分别收集未加 Cd²⁺和 400 mg/L Cd²⁺处理的菌液,在 4 °C、8 000 r/min 下离心 10 min,收集上清液。上清液用于测定可溶性多糖和可溶性蛋白。将菌体重悬于 0.5 g/L NaCl 溶液,60 °C 水浴 30 min 后,4 °C、8 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用于测定不可溶性多糖和不可溶性蛋白。多糖采用苯酚硫酸法测定^[24],蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定^[25]。

1.9.3 扫描电子显微镜观察和能量色散光谱仪分析

配制 Cd²⁺浓度为 400 mg/L 的 LB 液体培养基,以不添加 Cd²⁺的 LB 培养基作为对照,接种菌株 A81 培养 3 d。取菌液,8 000 r/min 离心 10 min,去上清,保留菌体。使用 0.1 mol/L 的 PBS 缓冲液洗涤菌体 3 次后,加入 2.5%的戊二醛混匀后 4 °C 静置过夜。次日,将菌体 8 000 r/min 离心 10 min,去除戊二醛,再用 PBS 缓冲液清洗 2 次,每次 15 min,随后依次用 30%、50%、70%、80%、90%和 100%的乙醇对菌体进行系列梯度脱水,每次 15 min,其中 100%乙醇脱水处理 2 次,每次 20 min。脱水结束后,把样品

置于干燥器内彻底干燥, 随后固定在玻片上, 喷金以增加导电性。最后, 使用扫描电镜及能谱仪(SEM-EDS, Carl Zeiss AG 公司)对样品进行微观形态观察和元素分析。

1.10 菌株 A81 的植物促生性的研究

将菌株 A81 点接于有机磷细菌培养基, 35 °C 培养箱内倒置培养 3 d, 观察有无溶磷圈, 检测其溶解有机磷能力, 测定透明圈直径(D)与菌落直径(d), 用 D/d 表示溶磷指数。参考曹晶晶等^[16]的方法, 将菌株接种于 King 氏培养基中在 35 °C、200 r/min 下振荡培养 2 d 后, 用 Salkowski 比色法测定其产 IAA 含量; 将菌株 A81 划线于 Ashby 固体培养基上, 在 35 °C 培养箱内倒置培养 3 d, 观察其生长情况, 检测其固氮能力。将菌株点接于 CAS 检测培养基上, 在 35 °C 培养箱内倒置培养 5 d, 观察有无橙黄色晕圈, 检测其产铁载体能力。根据 Penrose 等^[17]的方法, 将菌株接种于 ADF 培养基中, 在 35 °C、200 r/min 下培养 3 d, 观察其浑浊情况, 检测其产 ACC 脱氨酶能力。

1.11 菌株 A81 对 Cd 胁迫下苗期水稻生长的影响及其促生作用

挑选健康饱满水稻种子, 经 5% H_2O_2 溶液消毒 30 min 后, 用去离子水冲洗 3 次, 随后于

30 °C 黑暗浸泡 12 h 催芽, 培育至 3 叶 1 心期。选取长势一致的水稻秧苗, 移栽至实验盆, 分别接种稀释 10 倍后的 A81 菌液, 接种量 20 mL/kg。实验共设 4 组(每组 3 次重复): CK 组(无 Cd 无接种)、A81 组(无 Cd 有接种)、Cd 组(有 Cd 无接种)和 Cd+A81 组(有 Cd 有接种)。移栽 4 周后, 整株采取样本, 洗净根部, 记录根长、株高、茎粗数据, 并测定单株鲜重。

1.12 统计分析

本研究采用 GraphPad Prism 8 和 Origin 2022 软件进行统计分析绘图。通过 SPSS 8.0 分析不同处理组之间的差异, 确定各组之间的显著性差异($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 耐 Cd 菌株的分离与鉴定结果

本研究从矿区重金属污染土壤中分离纯化得到 12 株耐 Cd 菌株, 分别标记为 A1b、A4b、A6a、A7、A81、A9、A12、B2、B4a、B3、B6a、B8b, 各菌株在不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下的生长情况见表 1。从表 1 中可以看出, 菌株 A81 对 Cd^{2+} 有高耐受性(培养基 Cd^{2+} 浓度为 800 mg/L), 因此, 确定 A81 为优选耐 Cd 菌株。

表 1 菌株在不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下的生长情况

Table 1 Growth of highly effective cadmium tolerant strains at different Cd^{2+} concentrations

Number	100 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	1 000 mg/L
A1b	+++	++	+	-	-	-
A4b	+++	+++	++	+	-	-
A6a	+++	++	+	+	-	-
A7	+++	+++	++	+	-	-
A81	+++	+++	++	++	+	-
A9	+++	++	+	+	-	-
A12	+++	+	-	-	-	-
B2	+++	++	++	+	-	-
B4a	+++	+	-	-	-	-
B3	+++	+++	++	+	-	-
B6a	+++	+	-	-	-	-
B8b	+++	++	++	+	-	-

In 3 days, a well-organized colony of bacteria with good growth is defined as +++ normal; In 7 days, slow growth is defined as ++ basically good; After 7 days, only sparse single colonies grow on the plate, which is defined as + inhibited growth; After 7 days, no growth is defined as - no growth.

2.2 菌株 A81 的鉴定

2.2.1 菌株 A81 的形态特征

筛选所得的菌株为杆状，革兰氏阴性菌，菌落呈圆形光滑状、湿润、边缘整齐、易挑取，在固体培养基上呈淡黄色(图 1)。

2.2.2 菌株 A81 生理生化鉴定

由菌株 A81 生理生化试验结果可知(表 2)，VP 试验、MR 试验、淀粉试验、硫化氢试验结果呈阴性；可利用葡萄糖，但无法利用果糖、蔗糖、甘露醇；硝酸盐还原试验、明胶液化、

柠檬酸盐利用结果呈阳性；石蕊牛奶实验呈脓化，说明其产酪蛋白水解酶。

2.2.3 菌株 A81 16S rRNA 基因鉴定

对菌株 A81 进行分子生物学鉴定，将 16S rRNA 基因序列在 EzBioCloud 数据库中进行 BLAST 多重序列比对分析，发现该菌株与木糖氧化无色杆菌(*Achromobacter xyloxide*) NBRC 15126 的相似性高达 99.28%，初步鉴定该菌株为 *Achromobacter* sp. A81，系统发育树如图 2 所示。

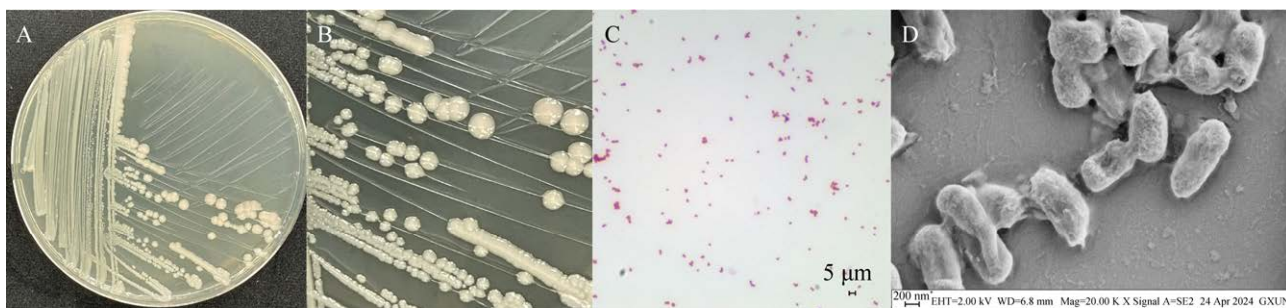


图 1 菌株 A81 的形态特征

Figure 1 Morphology characterization of the strain A81. A: Colony morphology; B: Single colony form; C: Gram staining results; D: SEM image.

表 2 菌株 A81 生理生化试验结果

Table 2 Physiological and biochemical results of the strain A81

Test items	Results
Voges-Proskauer test	-
Methyl red test	-
Nitrate reduction	+
Gelatin liquefaction	+
Citrate	+
Starch hydrolysis	-
Fructose	-
Glucose	+
Sucrose	-
Mannitol	-
H ₂ S production	-
Litmus milk test	Peptonization

+: Positive; -: Negative.

2.3 菌株 A81 在不同 Cd²⁺浓度下的生长曲线

菌株 A81 对 Cd²⁺的耐受性研究表明，该菌株 A81 对 Cd²⁺的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)为 800 mg/L (图 3A)。图 3B 为初始 Cd²⁺浓度为 0、200、400、800 和 1 200 mg/L 时，菌株 A81 的生长曲线。在无 Cd²⁺的 LB 培养基中，菌株表现出快速增殖，在约 40 h 内达到稳定期。然而，在 Cd²⁺浓度升高时，观察到生长速率随之降低。当 200 mg/L Cd²⁺条件下，菌落 OD₆₀₀降低了近一半，表明该菌株对 Cd²⁺的敏感性。同时，菌株 A81 由于 Cd 的毒性影响表现出延长滞后期的生理反应。在 800 mg/L Cd²⁺条件下，菌株的生长受到更严重的抑制，40 h 后才开始生长，在 60 h 后进入稳定生长阶段。

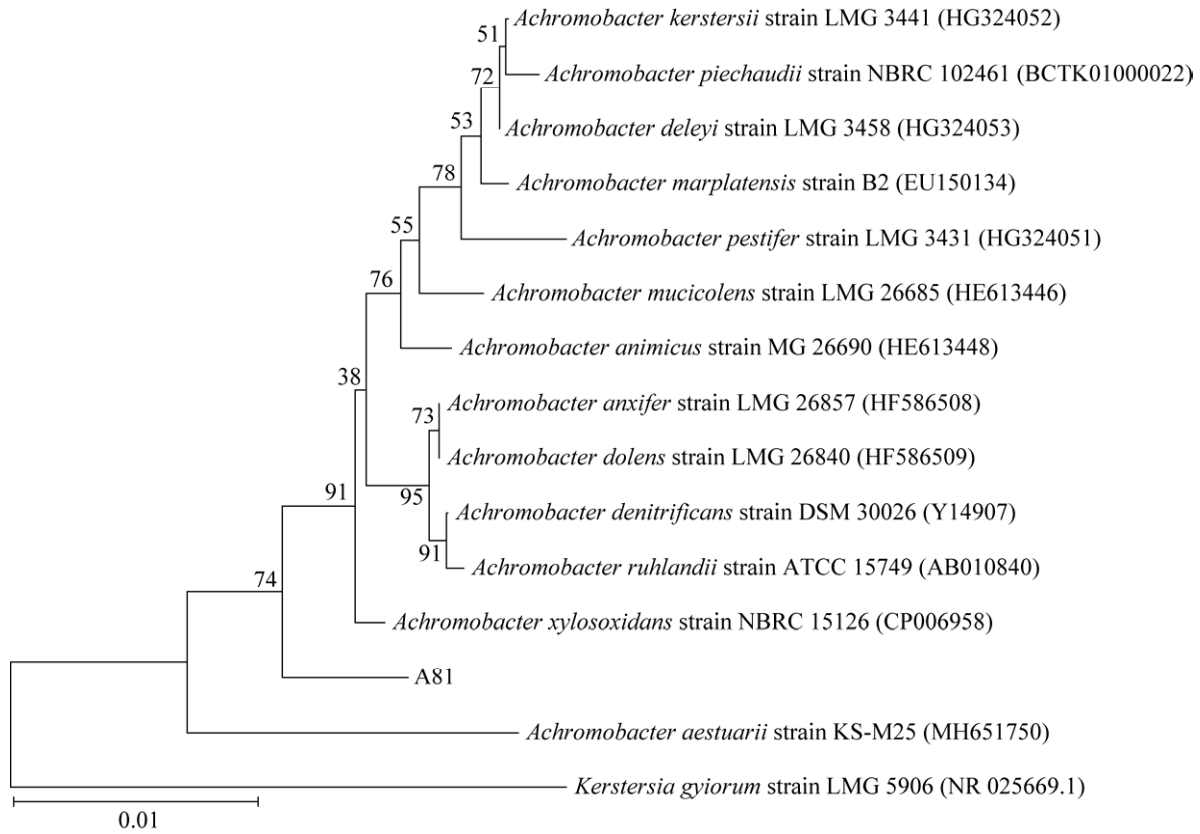


图 2 菌株 A81 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of strain A81 based on 16S rRNA gene sequence. Bootstrap values based on 1 000 replications are listed as percentages at the branching points. The accession number for each strain is given in parentheses. The scale bar represents 0.01 substitutions per nucleotide position.

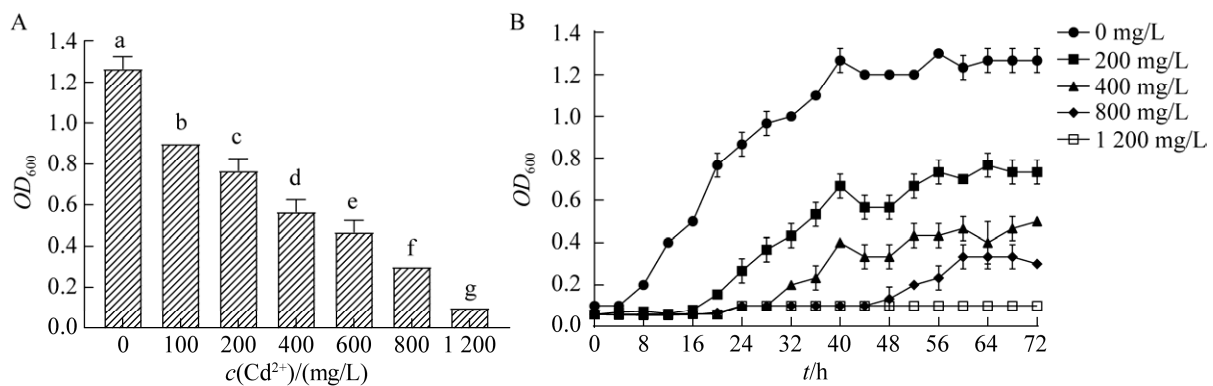


图 3 不同 Cd^{2+} 浓度对菌株 A81 生长的影响

Figure 3 Effect of different cadmium concentrations on the growth of strain A81. A: The MIC of strain A81 against cadmium; B: Growth curves of strain A81 under exposure to varying concentrations of cadmium. The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean. The different lowercase letters in the picture indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

2.4 菌株 A81 的最适生长条件

如图 4 所示, 菌株 A81 在 10 °C 和 45 °C 中不长, 最适温度范围为 20–40 °C; pH 生长范围为 5.0–10.0, 最适生长 pH 范围为 5.0–9.0; 在 0–9% NaCl 范围内菌株 A81 可生长, 最适生长浓度为 0–6%。曹晶晶等^[16]筛选出的耐盐根瘤土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) DJ-1 的最

大耐盐浓度达到 8% NaCl, 以及林浩澎等^[26]报道的耐碱杀香鱼假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*) ZY-3 的 pH 耐受范围为 6.0–10.0。与 DJ-1 和 ZY-3 相比, 菌株 A81 具有更高的耐盐浓度并且同样能在碱性环境中生长, 预示其在盐碱土壤生态修复领域具有潜在应用价值。

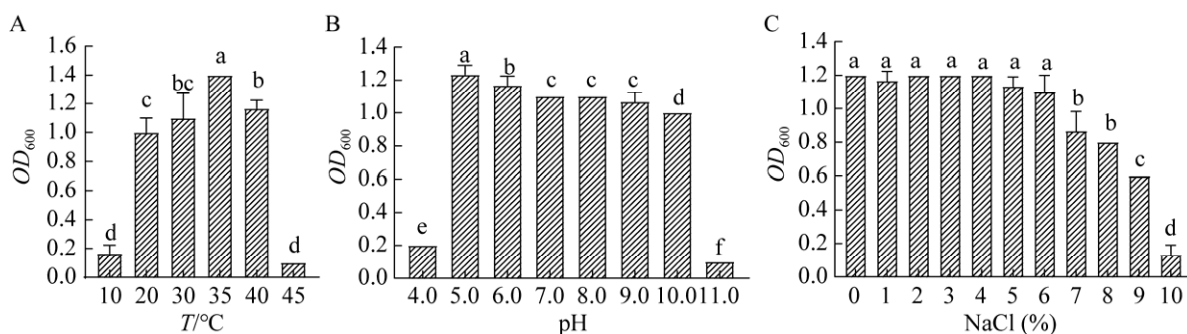


图 4 不同温度(A)、pH (B)和 NaCl 浓度(C)对菌株 A81 生长的影响

Figure 4 Effects of different temperature (A), pH (B) and NaCl (C) concentrations on the growth of strain A81. The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean. The different lowercase letters in the picture indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

2.5 菌株 A81 在不同初始 Cd^{2+} 浓度下的 Cd^{2+} 去除效率

图 5 为不同初始 Cd^{2+} 浓度下菌株 A81 对溶液中 Cd^{2+} 的去除率。随着 Cd^{2+} 浓度的增高, 菌株 A81 的去除率不断降低, 但随着时间的增加, 去除率会有所提高。菌株 A81 在 10 mg/L Cd^{2+} 浓度下培养 3 d 与 7 d, 该菌株的 Cd^{2+} 去除率分别为 31.82% 与 44.66%; 在 50 mg/L Cd^{2+} 浓度下培养 3 d 与 7 d, Cd^{2+} 去除率分别为 29.92% 与 40.20%。然而, 当在 800 mg/L Cd^{2+} 浓度下, 无论培养 3 d 或 7 d, Cd^{2+} 去除率均维持在较低水平, 分别为 12.03% 与 12.01%, 可能是由于 Cd 毒害对菌株的生长造成严重抑制, 菌体数量较少^[27]。

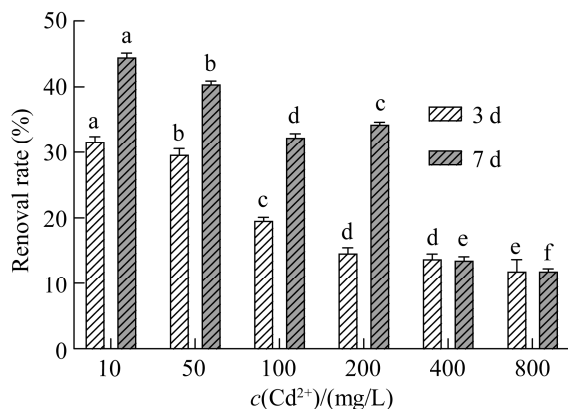


图 5 不同 Cd^{2+} 浓度下菌株 A81 对 Cd^{2+} 的去除率
Figure 5 Cd^{2+} removal rate of strain A81 at different Cd^{2+} concentrations. The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean. The different lowercase letters in the picture indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

2.6 菌株 A81 吸附 Cd^{2+} 的机理研究

2.6.1 发酵液不同组分对 Cd^{2+} 的去除率

从图 6 可知, 发酵液吸附作用对 Cd^{2+} 的去除效果最好, 其去除率(15.98%)显著高于无菌发酵液和菌体细胞悬液。无菌上清液对 Cd^{2+} 的去除效果次之, 去除率(10.53%)显著高于菌体悬液; 去除效果最差的是菌体细胞悬液, 其去除率为 4.47%。综上可知, 菌株 A81 的上清液和菌体均参与 Cd^{2+} 的吸附。

2.6.2 菌株 A81 分泌 EPS 的不同组分含量变化

由图 7 可知, 随着时间延长, 对照组的菌株 A81 的 EPS 总量先降低后增加(图 7A), EPS 总量为 337.39–575.24 mg/L; 而 400 mg/L Cd^{2+} 处理组的 EPS 总量随着时间的延长而逐渐增加, EPS 总量可达 382.60–886.66 mg/L, 与对照组相比平均增加了 54.13% (图 7B)。由此说明, 菌株 A81 经 Cd 胁迫后会分泌更多的 EPS。随着发酵时间从 10 h 延长至 90 h, Cd^{2+} 处理下菌株 A81 的 EPS 中不可溶性蛋白与可溶性蛋白含量分别增加了 157.11%和 197.71%, 同时不可溶性多糖与可溶性多糖含量分别增加了 38.27%和 75.61%。尤为突出的是, 菌株 A81 的蛋白质组

分(不可溶性蛋白和可溶性蛋白)含量占比最高且增长最为显著, 表明蛋白组分在 Cd^{2+} 的络合和抵御 Cd 胁迫中发挥了重要作用, 这与谢伟霞等^[28]的研究结果相似。

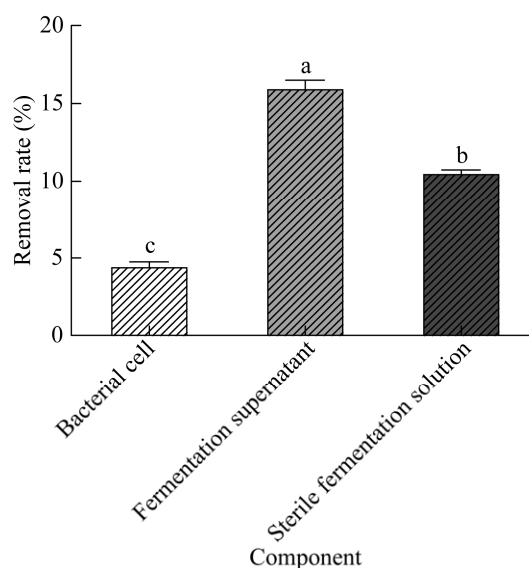


图 6 菌株 A81 发酵液不同组分对 Cd^{2+} 的去除作用
Figure 6 Removal rate of Cd^{2+} by different components of strain A81 fermentation liquid. The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean. The different lowercase letters in the picture indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

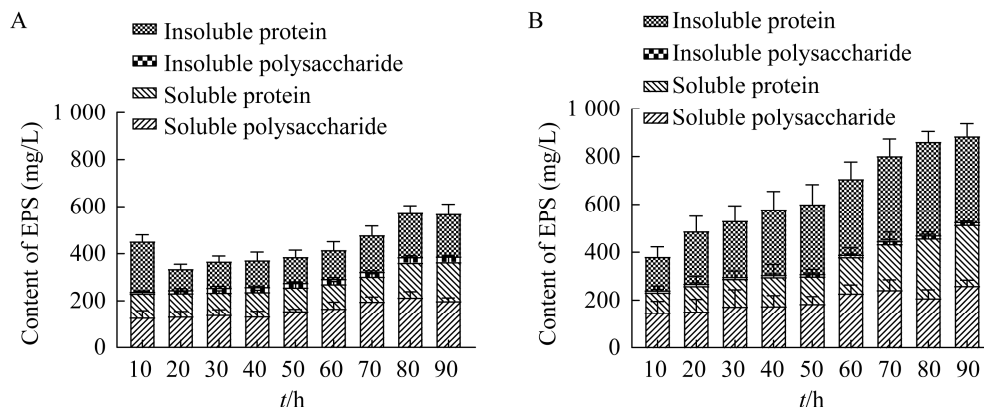


图 7 菌株 A81 在对照组(A)和 Cd^{2+} 处理组(B)的 EPS 组分含量

Figure 7 The EPS content of strain A81 in control group (A) and Cd^{2+} treatment group (B). The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean.

2.6.3 扫描电子显微镜(SEM)检查和能谱(EDS)分析

扫描电镜可以观察到未添加 Cd^{2+} 和添加 800 mg/L Cd^{2+} 的菌株 A81 的细胞外部表面的影响(图 8)。当 Cd^{2+} 浓度为 0 mg/L 时, 细胞呈现出杆状, 细胞之间未发生粘连(图 8A); 而当 Cd^{2+} 浓度为 800 mg/L 时, 细胞表面变得粗糙, 并且发生了一定程度的变形与皱缩, 表明细胞处于应激反应^[29] (图 8B)。同时, 在表面明显观察到生物膜的形成、沉淀颗粒的吸附以及细胞之间粘连等现象, 这表明细胞在 Cd 胁迫环境下激发自身防御。通过对颗粒物质进行 EDS 元素分析, 证明沉淀颗粒含大量 Cd 元素

(图 8C)。

2.7 菌株 A81 的植物促生能力研究

植物促生能力研究结果表明, 菌株 A81 的菌体周围形成溶磷圈并且其溶磷指数(D/d)为 6.99/21.26, 表明菌株有较好的溶磷能力(图 9A); 菌株 A81 在 Ashby 固体培养基上可以生长, 证实其具有强固氮作用(图 9B); 该菌株在 King 氏培养基中振荡培养 2 d 后, 可产生 IAA (41.24 mg/L); 在 CAS 检测培养基可见橙黄色晕圈, 表明其具有产铁载体能力(图 9C); 此外, 菌株 A81 可产 ACC 脱氨酶(图 9D)。综上所述, 菌株 A81 具有溶磷、固氮、产 IAA、铁载体和 ACC 脱氨酶的促生特性。

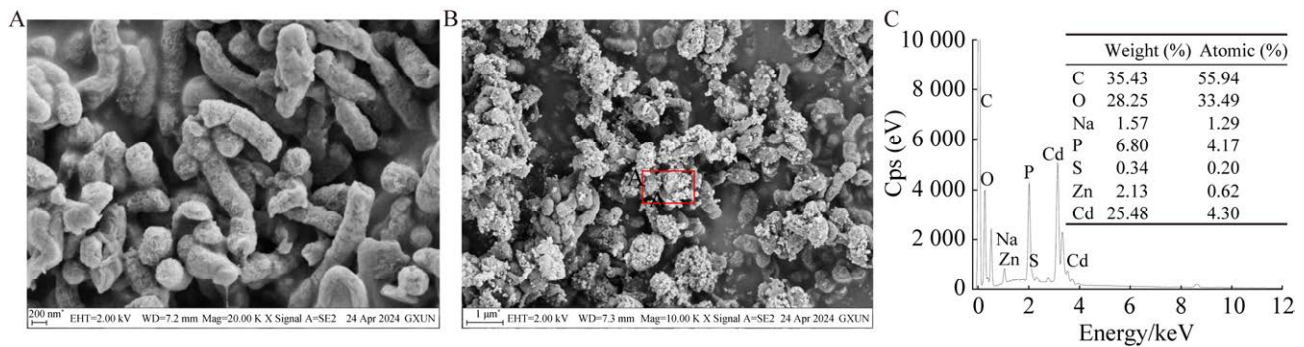


图 8 有无 Cd^{2+} 胁迫下的菌株 A81 的 SEM 图及 EDS 元素分析

Figure 8 SEM and EDS analysis of strain A81 with or without Cd^{2+} stress. A: SEM analysis of strain A81 in the absence of Cd^{2+} ; B: SEM analysis of strain A81 in the presence of 800 mg/L Cd^{2+} ; C: EDS analysis of strain A81 exposure to 800 mg/L Cd^{2+} . Cps (eV): Counts per second/e volts.

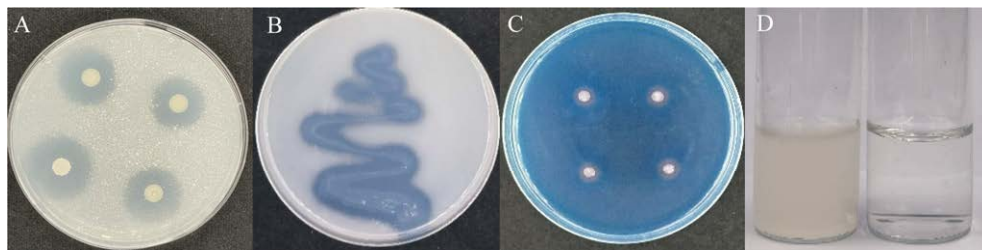


图 9 菌株 A81 的促生特性

Figure 9 Growth promoting properties of strain A81. A: Dissolved organic phosphorus; B: Nitrogen fixation; C: Siderophores production; D: ACC deaminase production.

2.8 菌株 A81 对苗期水稻在 Cd 胁迫下生长与促生的影响

如图 10 所示, Cd 胁迫处理显著抑制了水稻株高、根长和茎粗的生长, 抑制水稻体内生物量的积累, 并且发现高浓度 Cd 胁迫下诱导水稻长出大量的不足 3 cm 的短根, 增加了根的密度; 接种菌株 A81 能显著缓解污染对水稻生长的抑制作用, 并且对水稻生长具有促生作用。Cd 组的水稻株高比 CK 组(43.10 cm)显著降低了 22.52%。Cd+A81 组与 Cd 组(33.39 cm)相比, 增加了 9.08%。A81 组的株高与 CK 组显著增加了 18.46% (图 11A)。Cd 组水稻的根长比 CK 组(12.21 cm)显著降低了 11.84%。Cd+A81 组与 Cd 组(10.76 cm)相比, 增加了 39.59%。A81 组的根长与 CK 组显著增加了 43.99% (图 11B)。Cd 组水稻的茎粗比 CK 组(4.39 cm)降低了 8.69%, 与 CK 组无显著差异。Cd+A81 组与 Cd 组(4.01 cm)相比, 增加了 41.94%。A81 组的茎粗与 CK 组显著增加了 48.05% (图 11C)。Cd 组水稻的鲜重比 CK 组(3.50 g)显著降低了 20.37%。Cd+A81 组与 Cd 组(2.79 g)相比, 增加了 73.58%。A81 组的根长与 CK 组显著增加了 105.28% (图 11D)。



图 10 菌株 A81 对苗期水稻在 Cd²⁺胁迫下生长与促生的影响

Figure 10 Effects of strain A81 on growth and growth promotion of rice under Cd²⁺ stress at seedling stage.

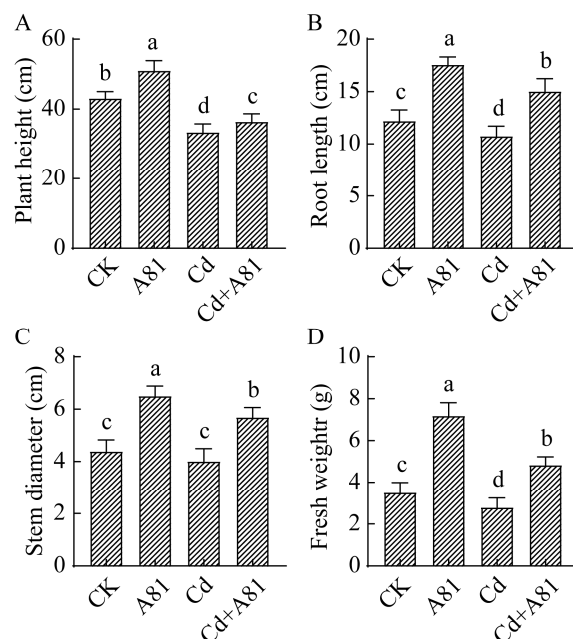


图 11 不同处理水稻的株高(A)、根长(B)、茎粗(C)和鲜重(D)

Figure 11 Plant height (A), root length (B), stem diameter (C) and fresh weight (D) of rice under different treatments. The values presented are the mean of three independent experiments. Error bars represent the standard deviations of the mean. The different lowercase letters in the picture indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

3 讨论

耐 Cd 促生细菌的筛选与功能鉴定是研究微生物修复 Cd 污染的重要环节^[30]。目前, 耐镉促生菌的筛选有许多报道。Cho 等^[31]成功从重金属污染土壤中分离出雷弗森菌属(*Leifsonia* sp.) ZP3, 耐 Cd²⁺最高浓度为 100 mg/L, 且兼具溶解有机磷和产 IAA 等促生特性。Abdollahi 等^[32]从重金污染土壤中分离出 5 株耐 Cd 细菌, 经鉴定为阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、神户肠杆菌(*Enterobacter kobei*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、普沙根瘤菌(*Rhizobium pusense*)和根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*), 对 Cd²⁺的最高耐受浓度达 100–150 mg/L, 并具备

溶磷、解钾等促生功能。本研究从矿区重金属污染土壤中筛选出的 *Achromobacter* sp. A81, 与其他已报道的耐镉促生细菌相比, 不仅具有固氮、溶磷、产铁载体、IAA 和 ACC 脱氨酶活性, 还表现出对 Cd^{2+} 较高的抗性, 其在极端浓度 (800 mg/L Cd^{2+}) 下依旧能存活。此外, 已有报道的耐镉罗尔斯通氏菌属 (*Ralstonia* sp.) YDR 的 Cd^{2+} 最大耐受浓度为 80 mg/L, 在 10 mg/L Cd^{2+} 的浓度下培养 7 d, 该菌株的最大 Cd^{2+} 去除率高达 60% 以上^[20]。张旭辉等^[33]筛选的耐镉 *Achromobacter* sp. ZXH21 的 Cd^{2+} 最大耐受浓度为 600 mg/L, 在 50 mg/L Cd^{2+} 的浓度下培养 7 d, 最大去除率为 36.5%。本研究的 *Achromobacter* sp. A81 在 10 mg/L Cd^{2+} 浓度下培养 7 d, 最大 Cd^{2+} 去除率为 44.66%; 在 50 mg/L Cd^{2+} 浓度下培养 7 d, 最大 Cd^{2+} 去除率为 40.20%, 相比同类文献 Cd^{2+} 最大耐受浓度与去除效率, 处于中等水平。这为其后续应用研究奠定了坚实基础。此外, 该菌株展现出耐碱 (pH 10.0) 与耐盐 (9% NaCl) 能力, 预示其在盐碱土壤生态修复领域具有潜在的重要应用价值。

EPS 是微生物分泌或细胞裂解产生的生物大分子聚合物, 包裹于细胞表面或散布于胞外, 主要由蛋白质、多糖及核酸组成^[34]。微生物在逆境下会增加 EPS 的合成, 以稳定生长环境, 因此 EPS 是细菌适应逆境的自我保护机制之一, 其中 EPS 的蛋白质表面含有丰富的 -OH 和 -C=O 等官能团, 对抗逆境时具有至关重要的作用^[35]。Lian 等^[36]报道铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*) 在 Cd 胁迫下, EPS 的产量分别激增了 52.07% 和 409.69%, 其中不可溶性蛋白质含量变化显著, 且发现 C=O 与 C-N 等官能团在 Cd 去除中起重要作用。在本研究中, *Achromobacter* sp. A81 的上清液和菌体细胞均

参与 Cd^{2+} 的吸附。在 Cd 胁迫下, 菌株大量分泌 EPS, 特别是可溶性和不可溶性蛋白质的含量分别激增了 197.71% 和 157.11%, 这为菌株吸附 Cd^{2+} 提供了物质基础。此外, 通过 SEM-EDS 发现菌株 A81 表面在 Cd 胁迫下沉淀大量含 Cd 颗粒物质, 表明菌株 A81 能诱导重金属沉淀, 进而降低溶液中游离态重金属的含量, 这一发现与苏楠楠等^[37]发现相似。然而, 关于菌株 A81 蛋白质与 Cd^{2+} 的具体络合机制, 仍需通过傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared, FTIR) 和 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) 等先进光谱技术进行检测与分析^[38]。

近年来, PGPB 在缓解重金属胁迫, 特别是 Cd 污染对植物的毒害方面展现出巨大的应用潜力, 其通过分泌植物促生剂 (如 IAA)、产铁载体、溶解有机磷盐、固氮、生产 ACC 脱氨酶等机制, 有效促进植物生长并减轻重金属的毒害效应, 成为生态修复和农业可持续发展的重要工具^[12]。具体而言, PGPB 通过分泌 IAA 等植物促生激素, 直接促进植物的生长与发育。例如, Chen 等^[39]发现荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) Sasm05 不仅能产生 IAA 促进油菜的生长, 还能直接调控 Cd 吸收关键基因的表达。这一现象表明, PGPB 在分子水平上通过调控植物基因表达, 实现对重金属胁迫的响应和适应。其次, PGPB 在固氮和产 ACC 脱氨酶等方面也发挥了重要作用。Shen 等^[40]的研究表明, 固氮细菌 *Burkholderia* sp. GN6 不仅促进植物生长, 缩短植物对 Cd^{2+} 的吸收时间, 还降低了 Cd 在细胞质中的“活性态”。此外, Fernández-Llamosas 等^[41]报道耐 Cd 细菌固氮弧菌属 (*Azoarcus* sp.) CIB 具有显著的产 ACC 脱氨酶的活性, 有效减少了水稻在 Cd 胁迫环境中乙烯的产生, 进而降低了水稻幼苗对 Cd 的吸收。

值得注意的是, 多种促生功能的协同作用在 PGPB 缓解植物 Cd 毒害展现出更为显著的优势。Hassan 等^[42]的研究强调, 同时具备产生 ACC 脱氨酶与固氮能力的 PGPB 相较于单一功能的 PGPB, 能更有效地减轻植物 Cd 污染胁迫并增强植物恢复能力。此外, 苏楠楠等^[37]发现克雷伯氏菌属(*Klebsiella* sp.) M2 通过溶解有机磷形成磷酸盐沉淀固定 Cd^{2+} , 减少了土壤中有效 Cd 含量, 从而缓解了 Cd 对小麦的毒害。本研究中, *Achromobacter* sp. A81 具备固氮、溶磷、产铁载体、IAA 和 ACC 脱氨酶活性, 展现出强大的促生潜力。盆栽结果进一步表明, 与未接菌种的对照组相比, 施加菌株 A81 显著促进水稻生长, 使得水稻的根长、株高、茎粗、鲜重分别增加了 18.46%、43.99%、48.05%、105.28%; 同时, 在 Cd 胁迫条件下, 菌株 A81 有效缓解了 Cd 对苗期水稻生长发育的影响, 具体表现为, 与 Cd 胁迫组相比, 接种菌株 A81 后水稻的株高、根长、茎粗和鲜重分别增加了 9.08%、39.59%、41.94%和 73.58%, 这一发现不仅验证了 *Achromobacter* sp. A81 在生态修复和农业应用中的潜在价值, 也为该菌株在农业实践中的进一步应用提供了科学依据。

未来的研究应聚焦于菌株 A81 的 Cd 吸附机理, 并且探索其对其他重金属(如 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Pb^{2+})的耐受性和去除能力。此外, 进一步探索菌株 A81 对 Cd 胁迫下水稻的生理响应与 Cd 迁移效率, 深入了解菌株 A81 缓解水稻 Cd 胁迫的具体作用机制。同时, 需审慎考虑环境安全性与生产成本因素。本研究不仅奠定了 Cd 污染修复菌剂开发的理论基础, 也为绿色农业实践提供了宝贵的菌株资源与科学支撑。

4 结论

本研究成功从重金属污染土壤中分离到一株耐镉促生细菌 *Achromobacter* sp. A81, 其对

Cd^{2+} 的耐受浓度高达 800 mg/L。在 10 mg/L Cd^{2+} 浓度下培养 7 d, 其最大去除率为 44.66%。该菌株的上清液和菌体共同吸附 Cd^{2+} ; 在 Cd 胁迫下分泌大量 EPS, 主要成分为不溶性和可溶性蛋白。该菌株能诱导 Cd^{2+} 沉淀于菌体表面, 减少游离态 Cd^{2+} 。此外, 该菌株还具备固氮、溶磷、产铁载体、IAA 和 ACC 脱氨酶植物促生功能。盆栽试验证实, 接种菌株 A81 显著促进水稻生长并有效缓解 Cd 胁迫的毒害, 这有助于其在镉污染微生物修复领域的应用。

致谢

感谢广西民族大学化学与化工学院仪器中心韦冬萍老师在 SEM 与 ICP-OES 仪器使用的指导。

作者贡献声明

陆君铭: 研究构思和设计、数据收集和处理、论文撰写和修改; 吉春喜: 协助实验操作、数据收集和处理; 郭健杰: 协助实验操作; 刘睿: 论文讨论、协助实验操作; 张莉刚: 协助实验操作; 殷豆豆: 论文讨论; 唐家昊: 协助实验操作; 张红岩: 论文讨论、技术支持、论文撰写和修改; 申乃坤: 论文讨论、技术支持、论文撰写和修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] WANG M, CHEN ZF, SONG W, HONG DZ, HUANG L, LI YH. A review on cadmium exposure in the population and intervention strategies against cadmium toxicity[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2021, 106(1): 65-74.
- [2] WANG P, CHEN HP, KOPITKE PM, ZHAO FJ. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety[J]. Environmental Pollution, 2019, 249: 1038-1048.

- [3] HU YA, CHENG HF, TAO S. The challenges and solutions for cadmium-contaminated rice in China: a critical review[J]. *Environment International*, 2016, 92-93: 515-532.
- [4] RIZWAN M, ALI S, ADREES M, RIZVI H, ZIA-UR-REHMAN M, HANNAN F, QAYYUM MF, HAFEEZ F, OK YS. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(18): 17859-17879.
- [5] NOMIYAMA K. Recent progress and perspectives in cadmium health effects studies[J]. *Science of the Total Environment*, 1980, 14(3): 199-232.
- [6] 王泓博, 苟文贤, 吴玉清, 李伟. 重金属污染土壤修复研究进展: 原理与技术[J]. *生态学杂志*, 2021, 40(8): 2277-2288.
- WANG HB, GOU WX, WU YQ, LI W. Progress in remediation technologies of heavy metals contaminated soil: principles and technologies[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(8): 2277-2288.
- [7] 徐文婷, 陈国梁, 屈志慧, 梁碧心, 毛腾, 梁欢, 陈章, 李志贤. 微生物在镉污染土壤修复中的应用及其作用机理[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(7): 2612-2623.
- XU WT, CHEN GL, QU ZH, LIANG BX, MAO T, LIANG H, CHEN Z, LI ZX. Microbial remediation of cadmium-contaminated soils and its mechanisms: a review[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(7): 2612-2623.
- [8] XIE Y, LI XN, HUANG XB, HAN SJ, AMOMBO E, WASSIE M, CHEN L, FU JM. Characterization of the Cd-resistant fungus *Aspergillus aculeatus* and its potential for increasing the antioxidant activity and photosynthetic efficiency of rice[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 171: 373-381.
- [9] LI YL, WEI SM, CHEN XT, DONG YH, ZENG MS, YAN CW, HOU LY, JIAO RZ. Isolation of cadmium-resistance and siderophore-producing endophytic bacteria and their potential use for soil cadmium remediation[J]. *Heliyon*, 2023, 9(7): e17661.
- [10] PRAMANIK K, MITRA S, SARKAR A, MAITI TK. Alleviation of phytotoxic effects of cadmium on rice seedlings by cadmium resistant PGPR strain *Enterobacter aerogenes* MCC 3092[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 351: 317-329.
- [11] BRAVO D, BRAISSANT O. Cadmium-tolerant bacteria: current trends and applications in agriculture[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2022, 74(3): 311-333.
- [12] 马莹, 王玥, 石孝均, 陈新平, 李振轮. 植物促生菌在重金属生物修复中的作用机制及应用[J]. *环境科学*, 2022, 43(9): 4911-4922.
- MA Y, WANG Y, SHI XJ, CHEN XP, LI ZL. Mechanism and application of plant growth-promoting bacteria in heavy metal bioremediation[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(9): 4911-4922 (in Chinese).
- [13] TIAN W, LI L, XIAO X, WU HL, WANG YL, HU ZY, BEGUM N, ZOU YP, LOU LQ, CHANG M, CAI QS. Identification of a plant endophytic growth-promoting bacteria capable of inhibiting cadmium uptake in rice[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(1): 520-531.
- [14] DIBA F, KHAN MZH, UDDIN SZ, ISTIAQ A, SHUVO MSR, UL ALAM ASMR, HOSSAIN MA, SULTANA M. Bioaccumulation and detoxification of trivalent arsenic by *Achromobacter xylosoxidans* BHW-15 and electrochemical detection of its transformation efficiency[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 21312.
- [15] 王焯, 罗学刚, 丁翰林, 杨昊. 一种耐铀植物促生菌的筛选及促生特性研究[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(1): 42-50.
- WANG Z, LUO XG, DING HL, YANG H. Isolation and identification of a uranium-resistant strain and effect of its characteristics on growth promoting[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(1): 42-50.
- [16] 曹晶晶, 熊炯梓, 钞亚鹏, 赵盼, 汪志琴, 仲乃琴. 极耐盐碱固氮菌的分离鉴定及固氮特性研究[J]. *微生物学报*, 2021, 61(11): 3483-3495.
- CAO JJ, XIONG MZ, CHAO YP, ZHAO P, WANG ZQ, ZHONG NQ. Isolation and identification of extremely salt-tolerant azotobacter and its nitrogen-fixing characteristics[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(11): 3483-3495.
- [17] PENROSE DM, GLICK BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Physiologia Plantarum*, 2003, 118(1): 10-15.
- [18] 布坎南, 吉本斯. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8版. 北京: 科学出版社, 1984.
- RE BUCHANAN, NE GIBBONS. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [19] 李枢妍, 阳黎恒, 肖雪婷, 胡锦欢, 张红岩, 申乃坤, 姜明国. 一株香蕉枯萎病拮抗菌的筛选、鉴定及生防效果研究[J]. *南方农业学报*, 2021, 52(7): 1826-1834.
- LI SY, YANG LH, XIAO XT, HU JH, ZHANG HY, SHEN NK, JIANG MG. Screening, identification and biocontrol effect of antagonistic bacteria against banana *Fusarium* wilt[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(7): 1826-1834 (in Chinese).
- [20] YIN DX, NIU LL, LIU J, YANG R, HAN B, LIU ZY, HAN YH, ZHAO XL. Cadmium-resistant bacterium *Ralstonia* sp. YDR alleviated Cd toxicity in rice seedlings by enhancing antioxidant defense and inhibiting Cd²⁺ influx and H⁺ efflux[J]. *Environmental Technology and Innovation*, 2024, 34: 103614.
- [21] LI Y, LI CX, LIN W, WANG SS, ZHANG WX, JIANG YM, ZHANG Y, ZHANG H, HAN YH. Full evaluation of assimilatory and dissimilatory nitrate reduction in a new denitrifying bacterium *Leclercia adecarboxylata* strain AS3-1: characterization and functional gene analysis[J]. *Environmental Technology and Innovation*, 2021, 23: 101731.
- [22] 周野, 王一莹, 李哲, 张秀芳, 吴迪, 冷粟, 李明堂. 氧化木糖无色杆菌(*Achromobacter xylosoxidans*) LAX2对Cu、Pb和Cd复合污染土壤的生物矿化修复研究[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(11): 4497-4504.
- ZHOU Y, WANG YY, LI Z, ZHANG XF, WU D, LENG S, LI MT. The remediation of complex Cu, Pb and Cd polluted soil through biomineralization by *Achromobacter xylosoxidans* LAX2[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(11): 4497-4504 (in Chinese).
- [23] 黎世威, 白英. 开菲尔源酵母对开菲尔乳杆菌生长代谢的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2024. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039320.
- LI SW, BAI Y. Influence of Kefir yeast on growth and metabolism of *Lactobacillus kefir*[J]. *Food and*

- Fermentation Industries, 2024. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039320 (in Chinese).
- [24] 刘美, 王湛. 胞外聚合物对膜污染的影响[J]. 水处理技术, 2007, 33(10): 7-13.
LIU M, WANG Z. EPS extraction, chemical analyses and its effect on membrane fouling[J]. Technology of Water Treatment, 2007, 33(10): 7-13 (in Chinese).
- [25] 孙光闻, 朱祝军, 方学智, 陈日远, 刘厚诚. 镉对小白菜光合作用及叶绿素荧光参数的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(5): 700-703.
SUN GW, ZHU ZJ, FANG XZ, CHEN RY, LIU HC. Effect of cadmium photosynthesis and chlorophyll fluorescence of pakchoi[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2005, 11(5): 700-703 (in Chinese).
- [26] 林浩澎, 孙慧明, 罗娉婷, 吴桑如, 蔡朗, 钟舒娴, 岳莎, 陈琼华, 舒璇. 一株耐碱变形假单胞菌 ZY-3 的鉴定及其脱氮特性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4066-4079.
LIN HP, SUN HM, LUO PT, WU SR, CAI L, ZHONG SX, YUE S, CHEN QH, SHU H. Identification of an alkali-tolerant *Pseudomonas plecoglossicida* ZY-3 and its nitrogen removal characteristics[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4066-4079.
- [27] 马连营, 隆美容, 冯广达, 朱红惠. 耐镉真菌 *Paecilomyces lilacinus* 6-20p 对 Cd²⁺ 的吸附特性研究[J]. 生物技术进展, 2017, 7(3): 241-246.
MA LY, LONG MR, FENG GD, ZHU HH. Cadmium adsorption characterization of cadmium-resistant fungal strain *Paecilomyces lilacinus* 6-20p[J]. Current Biotechnology, 2017, 7(3): 241-246.
- [28] 谢伟霞, 朱梦可, 范瑞娟, 闫兴富. 抗镉菌株的吸附特性及抗镉机制[J]. 农业环境科学学报, 2024. <https://link.cnki.net/urlid/12.1347.S.20240325.1857.008>.
XIE WX, ZHU MK, FAN RJ, YAN XF. Cadmium adsorption characteristics and mechanisms of cadmium-resistant strains[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2024. <https://link.cnki.net/urlid/12.1347.S.20240325.1857.008> (in Chinese).
- [29] ZHANG Y, ZHOU Q, GAO C, LU Y, SHENG Y, XIAO M, YUN YL, SELVARAJ JN, ZHANG XH, LI YD, YU XJ. Endophytic bacteria for Cd remediation in rice: unraveling the Cd tolerance mechanisms of *Cupriavidus metallidurans* CML2[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 469: 133846.
- [30] 闫敏, 秦诗洁, 崔永亮, 涂卫国, 沈甜, 刘含, 张芳, 余秀梅. 镉吸附细菌的分离及其对土壤镉的固定[J]. 微生物学报, 2020, 60(11): 2423-2433.
YAN M, QIN SJ, CUI YL, TU WG, SHEN T, LIU H, ZHANG F, YU XM. Isolation of cadmium-adsorbing bacteria for soil cadmium fixation[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(11): 2423-2433.
- [31] CHO I, LEE SY, CHO KS. Enhancement of the germination and growth of *Panicum miliaceum* and *Brassica juncea* in Cd- and Zn-contaminated soil inoculated with heavy-metal-tolerant *Leifsonia* sp. ZP3[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2024, 40(8): 245.
- [32] ABDOLLAHI S, GOLCHIN A, SHAHRYARI F. Lead and cadmium-resistant bacterial species isolated from heavy metal-contaminated soils show plant growth-promoting traits[J]. International Microbiology, 2020, 23(4): 625-640.
- [33] 张旭辉, 孙斌, 魏志敏, 赵晨雨, 徐源洲, 张力浩, 徐莉. 2 株耐镉微生物的筛选及其对镉的吸附钝化差异机制[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(5): 869-876.
ZHANG XH, SUN B, WEI ZM, ZHAO CY, XU YZ, ZHANG LH, XU L. Screening of two cadmium tolerant microorganisms and their differences in adsorption and immobilization of cadmium[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(5): 869-876.
- [34] XIAO R, ZHENG Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(7): 1225-1244.
- [35] DING PF, SONG WF, YANG ZH, JIAN JY. Influence of Zn(II) stress-induction on component variation and sorption performance of extracellular polymeric substances (EPS) from *Bacillus vallismortis*[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2018, 41(6): 781-791.
- [36] LIAN ZY, YANG ZY, SONG WF, SUN MG, GAN Y, BAI XY. Characteristics of EPS from *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes faecalis* under Cd(II) stress: changes in chemical components and adsorption performance[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2022, 29: 75883-75895.
- [37] 苏楠楠, 赵庆照, 王芳, 安天赐, 牛晶晶, 闫嘉欣, 杨建军, 韩辉. 解磷细菌 *Klebsiella* sp. M2 钝化重金属及阻控小麦吸收 Cd 和 Pb 效应[J]. 环境科学, 2024, 45(7): 4321-4331.
SU NN, ZHAO QZ, WANG F, AN TC, NIU JJ, YAN JX, YANG JJ, HAN H. Immobilization of heavy metals by phosphorus-solubilizing bacteria and inhibition of Cd and Pb uptake by wheat[J]. Environmental Science, 2024, 45(7): 4321-4331 (in Chinese).
- [38] HAN YH, MAO HL, WANG SS, DENG JC, CHEN DL, LI M. Ecofriendly green biosynthesis of bacterial cellulose by *Komagataeibacter xylinus* B2-1 using the shell extract of *Sapindus mukorossi* Gaertn. as culture medium[J]. Cellulose, 2020, 27(3): 1255-1272.
- [39] CHEN B, LUO S, WU YJ, YE JY, WANG Q, XU XM, PAN FS, KHAN KY, FENG Y, YANG XE. The effects of the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 and IAA on the plant growth and cadmium uptake of *Sedum alfredii* Hance[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2538.
- [40] SHEN SL, LI YH, CHEN MB, HUANG J, LIU F, XIE SJ, KONG LP, PAN Y. Reduced cadmium toxicity in rapeseed via alteration of root properties and accelerated plant growth by a nitrogen-fixing bacterium[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 449: 131040.
- [41] FERNÁNDEZ-LLAMOSAS H, IBERO J, THIJS S, IMPERATO V, VANGRONVELD J, DÍAZ E, CARMONA M. Enhancing the rice seedlings growth promotion abilities of *Azoarcus* sp. CIB by heterologous expression of ACC deaminase to improve performance of plants exposed to cadmium stress[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1453.
- [42] HASSAN W, BASHIR S, ALI F, IJAZ M, HUSSAIN M, DAVID J. Role of ACC-deaminase and/or nitrogen fixing rhizobacteria in growth promotion of wheat (*Triticum aestivum* L.) under cadmium pollution[J]. Environmental Earth Sciences, 2016, 75(3): 267.