



一株耐铅镉真菌的分离鉴定及其吸附特性的研究

解琳¹, 郝宇², 齐欣¹, 刘本松¹, 温昱晨¹, 刘丽杰¹, 杨晓杰¹, 金忠民^{1*}

¹齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000

²海南地质综合勘察设计院, 海南 海口 570100

摘要:【目的】以扎龙湿地污染的土壤为材料, 进行耐铅镉菌株的分离鉴定, 研究不同条件对菌株吸附铅镉的影响。【方法】采用平板划线法, 逐级驯化, 筛选出一株耐铅镉菌株, 通过生理生化特征及 ITS 序列分析对菌株进行鉴定, 探究该菌吸附的最佳条件, 并进行 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型拟合。【结果】本研究分离得到一株菌株 JB15, 最高耐受浓度为 Pb^{2+} 1200 mg/L、 Cd^{2+} 200 mg/L, 经鉴定为球孢白僵菌, 最佳吸附条件温度为 30 °C, pH 为 7.0, 接菌量为 8.0 g/L, 吸附时间为 60 min, 铅镉吸附率分别为 52.27% 和 62.38%; 铅镉吸附量分别为 19.60 mg/g 和 3.98 mg/g, 符合 Langmuir 等温吸附模型。【结论】菌株 JB15 具有较好的吸附效果, 可为微生物修复重金属土壤污染提供理论基础。

关键词: 铅镉, 分离鉴定, 球孢白僵菌, 生理生化, 生物吸附

工业废弃物堆放、施用化肥农药等都能使铅、镉在土壤中大量积累。铅、镉污染的土壤会对农作物产生严重的危害, 进而通过食物链影响人类健康^[1-2]。解决土壤重金属污染问题, 确保土壤质量和粮食安全, 对人们的健康和发展至关重要^[3]。

土壤中有大量种类的微生物, 在治理重金属污染的土壤中有不可忽视的作用。微生物吸附法具有效果好、成本低廉、操作简单、无二次污染等优点, 具有广阔的应用前景, 已经成为微生物

修复重金属污染土壤的研究热点^[4-6]。细菌、真菌和微藻类均可被制成吸附剂用于吸附去除重金属^[7]。目前大部分的研究为细菌对重金属离子的吸附特性及机理机制等方面^[8]。

本实验从扎龙湿地污染土壤中筛选铅镉抗性菌株, 通过生理生化实验和 ITS 序列对该菌株进行鉴定, 并对该菌株吸附铅镉进行研究, 以期为微生物修复治理铅镉污染土壤提供菌种资源, 并为其进一步研究提供理论基础。

基金项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(135309483); 齐齐哈尔市科学技术计划(2017GG1989)

*通信作者。E-mail: yyy6768@163.com

收稿日期: 2019-07-19; 修回日期: 2019-10-26; 网络出版日期: 2020-01-21

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源: 从黑龙江省齐齐哈尔市扎龙自然保护区土壤中筛选。

1.1.2 培养基: ①基础培养基: 牛肉膏 3.0 g, 蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1.0 L, pH=7.0。②筛选培养基: 在基础培养基中加入 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, 调至所需浓度。

1.2 菌种筛选

称取经 0.5 mm 筛子的土壤 1.0 g, 于含有灭菌玻璃珠的 100 mL 无菌水中, 30 °C、120 r/min 振荡 2 h, 静置后取上清液 1.0 mL, 稀释制备 10^{-3} – 10^{-5} 浓度的菌悬液, 分别取 0.1 mL 于 $\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 300/50 下的筛选培养基, 均匀涂布, 倒置于 30 °C 培养箱中, 培养 3 d。挑取生长良好的单菌落, 采用平板划线法接种于 $\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 浓度更高的培养基中, $\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 分别为 600/100、900/150、1200/200 mg/L, 经过多次驯化, 直至菌株不再生长, 将获得的铅镉抗性菌株纯化后于 4 °C 冰箱封存备用。

1.3 菌种鉴定

1.3.1 形态学观察及生理生化特征测定: 将菌株接种到基础培养基中, 培养 4 d 后, 观察菌落生长速度、菌落形态、颜色等, 用结晶紫染色后, 在光学显微镜下观察。将筛选出的菌株进行淀粉水解实验、纤维素水解实验、明胶液化实验、麦芽糖和纤维素利用实验、生长温度和 pH 范围测定。

1.3.2 分子生物学鉴定: 将筛选后的菌株送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序, PCR 扩增引物为 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGC GG-3'; ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。

PCR 反应体系为 Template (基因组 DNA 20–50 ng/ μL) 0.5 μL 、10×Buffer (with Mg^{2+}) 2.5 μL 、dNTPs (各 2.5 mmol/L) 1 μL 、酶 0.2 μL 、正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL 、反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL 、加双蒸水至 25 μL 。循环条件为 94 °C 4 min; 94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 终止反应。测得序列在 NCBI 中进行 BLAST 同源比对, 利用 MEGA 5.0 软件构建 ITS 基因系统发育树。

1.4 不同条件下耐铅镉菌株对铅镉吸附能力的研究

本实验分离得到菌株 JB15, 最高耐受浓度为 Pb^{2+} 1200 mg/L、 Cd^{2+} 200 mg/L, 菌株吸附铅镉浓度范围在最高耐受浓度之内, 复合铅镉的毒性也比单一铅、镉毒性大, 故溶液中铅镉浓度分别为 300、50 mg/L, 以吸附温度、吸附时间、溶液 pH、接菌量为单因素, 确定菌株的最佳吸附条件。设置温度为 15、20、25、30、35、40 °C, 吸附时间 120 min, 溶液初始 pH, 接菌量 10.0 g/L, 150 r/min 振荡培养, 吸附后以 8000 r/min 离心 3 min, 倾倒入取上清液, 采用原子吸收分光光度法测定铅镉浓度, 确定最适吸附温度, 依次确定吸附时间 20、40、60、80、100、120 min, pH 值 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0, 接菌量 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 g/L。用公式(1)计算吸附率 p 和公式(2)吸附量 q 。

$$p = \frac{(c_0 - c_1) \times 100}{c_0} \quad \text{公式(1)}$$

$$q = \frac{(c_0 - c_1) \times V}{m_s} \quad \text{公式(2)}$$

式中, c_0 为溶液中铅、镉初始浓度(mg/L), c_1 为吸附平衡后铅、镉初始浓度(mg/L), V 为溶液体积(L), m_s 为投加吸附剂量。

1.5 等温吸附模型

配制铅、镉浓度均为 50、100、150、200、250、300 mg/L，温度为 30 °C，pH 为 7.0，接菌量为 4.0 g/L，在 150 r/min 下振荡培养至吸附平衡，测定溶液中铅镉浓度。将试验数据进行 Langmuir 和 Freundlich 模型拟合。

2 结果和分析

2.1 菌种鉴定

2.1.1 形态学观察及生理生化特征测定：通过分离筛选得到 1 株能在铅浓度 1200 mg/L、镉浓度 200 mg/L 下生长的菌株。菌株呈白色，棉絮状，表面凸起，背面呈淡黄色，在光学显微镜下菌丝呈树枝状分叉，分生孢子梗呈束状，周围有大量卵圆形孢子(图 1)。菌株生理生化鉴定见表 1，菌株的明胶液化、淀粉水解、纤维素水解、麦芽糖和纤维素利用实验结果均为阳性，在温度范围为 15–45 °C、pH 为 3.0–9.0 下菌株都能正常生长，通过前期实验室筛选对比，该菌株生存能力较强，能够适应环境变化带来的不利影响。

2.1.2 分子生物学鉴定：PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳如图 2 显示，菌株 ITS1 和 ITS4 基因片段为 553 bp。PCR 产物纯化后进行测序，获得的序列在 NCBI 上进行 BLAST 比对，并构建系统发育树(图 3)。结果表明，菌株与球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 有较高的同源性，通过 NCBI 数据库进行比对同源性可达 100%，经鉴定为球孢

白僵菌，菌株编号为 JB15，在 GenBank 数据库中的登录号为 MK034753。

2.2 不同条件下耐铅镉菌株对铅镉吸附能力的研究

2.2.1 吸附温度对 JB15 吸附能力的影响：温度是微生物的重要影响因素^[9]，会破坏其细胞壁的稳定性，从而对微生物吸附重金属产生影响^[10]。从图 4 看出，随反应体系温度的升高，JB15 对铅、镉的吸附率呈先增加后减少的趋势。在 15 °C 时，铅镉吸附率分别为 48.79% 和 37.86%。当温度为 30 °C 时，铅镉吸附率均达到最大，分别为 64.81% 和 63.69%。当温度进一步升高至 40 °C 时，菌株 JB15 吸附铅镉的吸附率分别为 47.42% 和 50.25%。综上，JB15 对 300 mg/L 铅吸附、50 mg/L 镉吸附的最适温度为 30 °C。

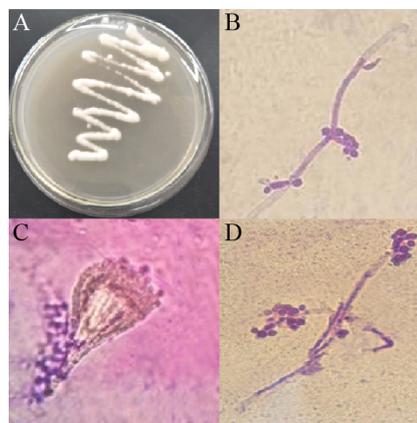


图 1. 光学显微镜下菌株形态

Figure 1. Morphology of the strain under light microscope. A: Colony morphology; B: Mycelial morphology; C: Conidiophore; D: Conidia.

表 1. 菌株 JB15 的生理生化实验

Table 1. Physiological and biochemical experiments of strains

Experiment name	Starch hydrolysis	Cellulose hydrolysis	Gelatin liquefaction	Maltose	Cellulose	T/°C	pH
Experimental result	+	+	+	+	+	15–45	3–9

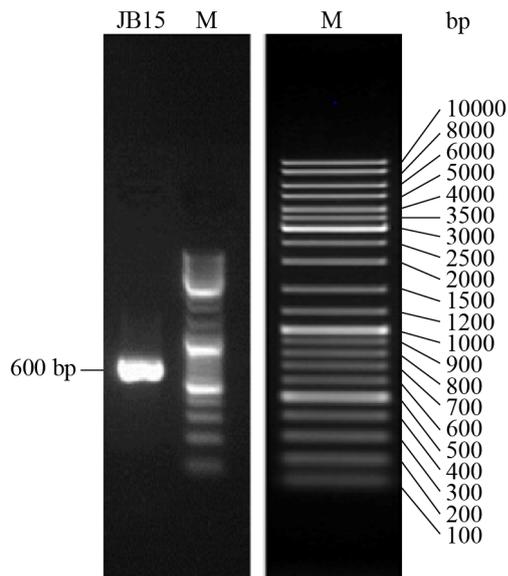


图 2. 分离菌株 JB15 的 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图谱

Figure 2. Agarose gel electrophoresis of PCR amplification of strain JB15.

2.2.2 吸附时间对 JB15 吸附能力的影响: 随吸附时间的增加, 菌体表面活性剂位点吸附能力将趋于饱和, 控制吸附时间能提高微生物修复效率^[11]。如图 5, 随吸附时间的增加, 铅镉吸附率呈先增加后减少的趋势。吸附时间在 10 min 时铅镉吸附率

就达到了 41.49% 和 42.91%, 说明该菌吸附铅镉是一个快速的过程。当吸附时间在 60 min 时, 铅镉吸附率均达到最大, 为 56.49% 和 72.99%。随吸附时间增加, 铅镉吸附率有所下降, 但基本趋向饱和, 可能出现脱附现象。所以, JB15 的最适吸附时间为 60 min。

2.2.3 溶液 pH 对 JB15 吸附能力的影响: 菌体吸附能力与菌体表面所带电荷有关^[12], 电荷通过与重金属离子结合来达到吸附效果, pH 值也是吸附过程中的一个重要因素。图 6 可看出, 随 pH 的增加, 铅镉吸附率逐渐增加。pH 为 3.0–6.0 时, 铅镉吸附速率幅度较大, pH 对 JB15 吸附有显著的影响。pH 为 6.0–7.0 时, 铅镉吸附趋于平缓。pH 在 7.0–9.0 时, 可能是反应体系中 OH⁻ 过多引起的, OH⁻ 与金属离子发生反应形成氢氧化物沉淀从溶液中析出, 从而导致吸附率增加。林海等^[13] 研究发现 pH 较高时, 细胞表面带有负电荷的官能团暴露, 吸附位点增加, 从而使吸附效果增加。张敏等^[14] 研究发现当 pH 值大于离子沉淀点时, 溶液中铅离子与氢氧根结合形成沉淀, 使吸附率增加。综合实际利用, 该菌最适 pH 为 7.0。

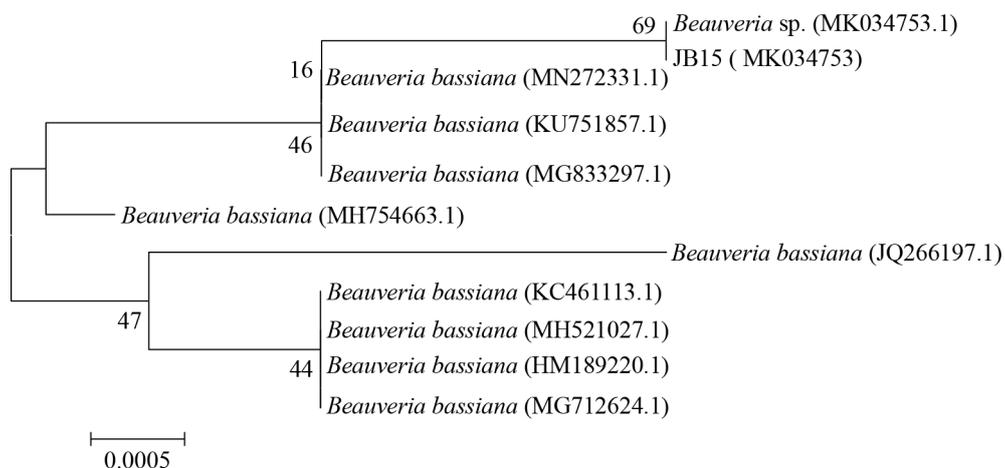


图 3. 菌株 JB15 基于 ITS 基因序列的系统发育树

Figure 3. Strain JB15 is based on the phylogenetic tree of the ITS gene sequence.

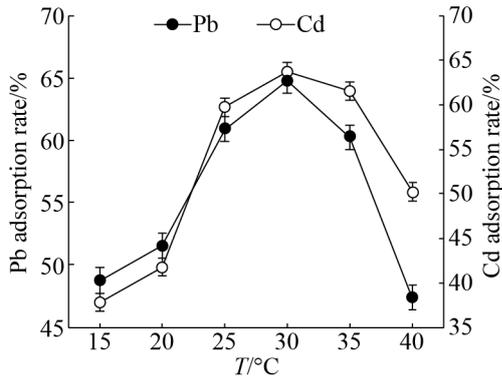


图 4. 吸附温度对 JB15 吸附能力的影响

Figure 4. Effect of adsorption temperature on the adsorption capacity of JB15.

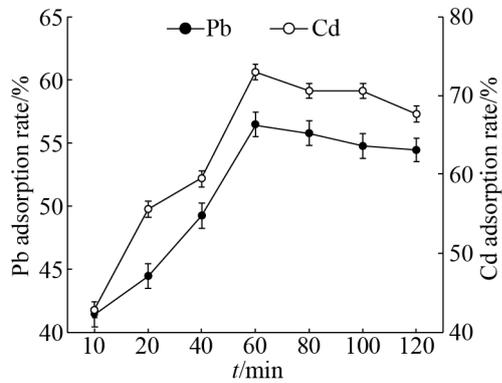


图 5. 吸附时间对 JB15 吸附能力的影响

Figure 5. Effect of adsorption time on JB15 adsorption capacity.

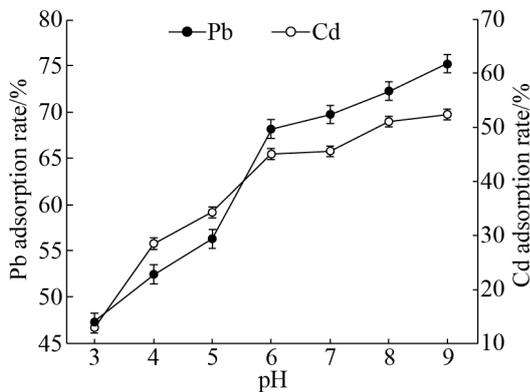


图 6. pH 对 JB15 吸附能力的影响

Figure 6. Effect of pH on the adsorption capacity of JB15.

2.2.4 接种量对 JB15 吸附能力的影响: 随接种量的增加菌体表面活性位点的数量也增加^[14]。如图 7, 随接种量的不断增加, JB15 对铅镉的吸附率也不断增加, 而吸附量不断减少。当接种量为 8.0 g/L 时, 镉吸附率为 62.38% 且逐渐趋向平稳, 铅吸附率为 52.27%, 铅镉吸附量为 19.60 mg/g 和 3.89 mg/g。当接种量为 10.0 g/L, 铅镉吸附率为 54.11% 和 63.78%, 铅镉吸附量为 16.23 mg/g 和 3.18 mg/g。增大接种量可以增加吸附率, 但是接种量过大, 菌丝会聚集成菌丝球, 不利于 JB15 对铅镉的吸附。考虑到铅镉吸附率、吸附量及该菌的利用率, 最适接种量为 8.0 g/L。

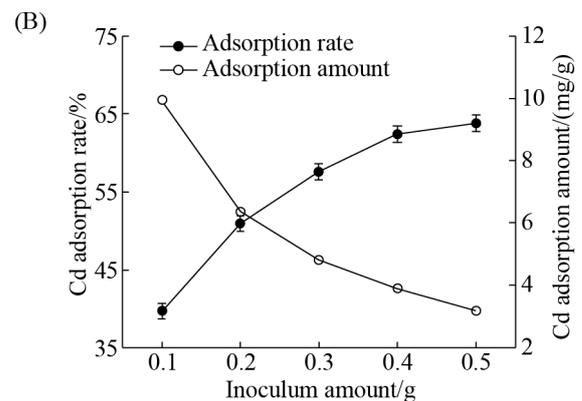
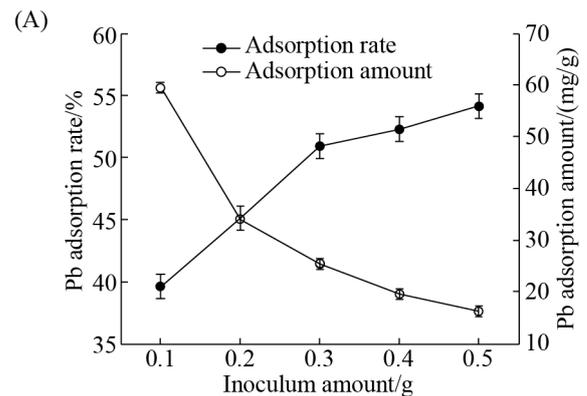


图 7. 接种量对 JB15 吸附能力的影响

Figure 7. Effect of inoculum on JB15 adsorption capacity.

2.3 等温吸附模型

采用 Langmuir 和 Freundlich^[15]等温吸附模型进行拟合, 结果如图 8、9 所示。JB15 吸附铅、镉 Freundlich 等温吸附模型相关系数 R^2 分别为 0.9334 和 0.8214; JB15 吸附铅、镉 Langmuir 等温吸附模型相关系数 R^2 分别为 0.9898 和 0.9921, Langmuir 等温吸附模型 R^2 高于 Freundlich 等温吸附模型 R^2 , 说明 JB15 吸附铅镉的过程更符合 Langmuir 等温吸附方程。

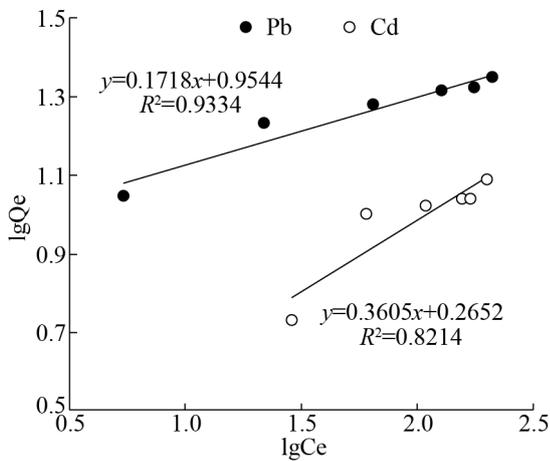


图 8. Freundlich 吸附等温线

Figure 8. Freundlich adsorption isotherm.

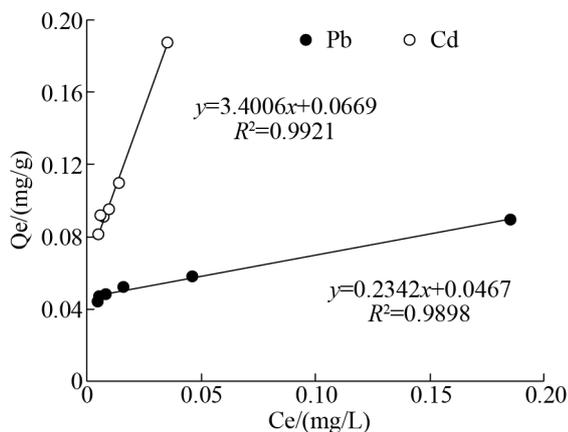


图 9. Langmuir 吸附等温线

Figure 9. Langmuir adsorption isotherm.

3 讨论

本实验从黑龙江省齐齐哈尔市扎龙自然保护区污染土壤中筛选出一株铅镉抗性真菌, 经生理生化和 ITS 鉴定, 该菌为球孢白僵菌, 菌株编号为 JB15。该菌株对铅镉有较高的吸附能力, 这可能与菌体表面的活性位点及官能团羧基、羟基、氨基、酰胺基等基团有关, 通过一系列化学反应将有害重金属转化为化合物^[16-17]。

通过吸附温度对 JB15 吸附铅镉的影响实验可见, 随温度的升高, 铅镉吸附率呈先升高后降低的趋势, 最适温度为 30 °C。Fan 等^[18]研究发现, 简青霉(*Penicillium simplicissimum*)吸附镉时, 改变温度会影响菌体表面的吸附活性位点, 温度过高会造成细胞壁被破坏, 进而吸附位点减少, 影响吸附率。吸附时间对 JB15 吸附铅镉也有影响, 本实验随吸附时间的增大, 铅镉吸附率均呈先增大后减少的趋势, 在吸附前 10 min, 铅镉吸附率就达到了 41.49% 和 42.91%, 是一个快速的过程。Volesky^[19]研究表明生物吸附过程是一个快速的过程, 随时间的增加, 吸附率有下降的趋势, 出现了脱附现象, 可能与吸附反应是放热的过程有关, 反应体系温度过高, 影响吸附位点。pH 对 JB15 吸附铅镉的影响较大, 溶液 pH 较低时, 大量 H^+ 和 H_3O^+ 与金属离子产生竞争关系, 影响菌体吸附金属离子, 当反应体系的 pH 大于 7.0 时, 过量的 OH^- 可能与溶液中的铅离子形成氢氧化铅沉淀, 影响吸附效果。Kiran 等^[20]研究表明 pH 可以影响菌株的吸附位点及溶液中重金属离子的状态, pH 是影响吸附过程的一个因素。随接菌量的增加, 菌体表面活性位点增加, 吸附铅镉效果较好, 但接菌量过大, 菌体活性位点之间易发生静电排斥,

导致单位每克菌体的吸附量降低,阻碍 JB15 吸附铅镉离子。菌株 JB15 更好地符合 Langmuir 等温吸附模型,说明 JB15 对铅镉是单分子层吸附。目前关于球孢白僵菌吸附重金属的研究鲜有报道,但是有研究表明球孢白僵菌具有一定的潜在应用价值, Mascarin^[21]研究表明,球孢白僵菌可作为真菌杀虫剂,是许多虫害治理的一个工具。费泓强等^[22]研究表现球孢白僵菌 D1-5 对玉米幼苗期的生长发育有一定的促进作用,可以影响酶活性变化。隋丽等^[23]发现亚洲玉米螟幼虫在球孢白僵菌-玉米共生体的取食率比未接种球孢白僵菌玉米叶片的取食率低,球孢白僵菌可应用于玉米叶片上,对亚洲玉米螟幼虫的取食行为有抑制作用。

本实验筛选出一株耐铅镉菌株 JB15,实验结果表明,该菌株对铅镉有一定的抗性且能对铅镉有较高的吸附性,可为后续微生物修复重金属污染提供理论基础。

参考文献

- [1] Singh A, Prasad SM. Remediation of heavy metal contaminated ecosystem: an overview on technology advancement. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2015, 12(1): 353–366.
- [2] Dong JF, Zhang F, Hu YH, Li JC, Li W, Wang XS. Effect of nitrogen supplementation on growth of white clover under cadmium stress and alleviation of cadmium toxicity. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(9): 83–91. (in Chinese)
董姬妃, 张帆, 胡雨寒, 李俊承, 李维, 王娴淑. 镉胁迫下增施氮对白三叶草生长的影响和镉毒害的缓解效应研究. *草业学报*, 2017, 26(9): 83–91.
- [3] Yang Z. A study on screening of adsorption of heavy metal zinc strains in pollution soil. *Journal of EMCC*, 2017, 27(3): 87–89. (in Chinese)
杨卓. 污染土壤中重金属锌吸附菌株的筛选研究. *中国环境管理干部学院学报*, 2017, 27(3): 87–89.
- [4] Xiao W, Zhang SY, Zhao Q, Wang YX, Lai YH, Li ZY, Cui XL. Diversity and heavy-metal tolerance of bacteria isolated from Gejiu tin mining area of Yunnan. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(11): 1158–1165. (in Chinese)
肖炜, 张仕颖, 赵琴, 王永霞, 赖泳红, 李治滢, 崔晓龙. 云南个旧锡矿区可培养细菌多样性及其重金属抗性. *微生物学报*, 2013, 53(11): 1158–1165.
- [5] Wang JL, Chen C. Research advances in heavy metal removal by biosorption. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(4): 673–701. (in Chinese)
王建龙, 陈灿. 生物吸附法去除重金属离子的研究进展. *环境科学学报*, 2010, 30(4): 673–701.
- [6] Tao HQ, Guo X, Wang YT, He YT, Liu W, Chen YS, Shen J. Distribution characteristics and ecological risk assessment of pb in soil at a typical lead battery sites. *Environmental Science & Technology*, 2017, 40(S2): 143–148. (in Chinese)
陶红群, 郭欣, 王亚婷, 何玉亭, 柳伟, 陈银松, 沈杰. 典型铅蓄电池场地土壤铅分布特征及生态风险. *环境科学与技术*, 2017, 40(S2): 143–148.
- [7] 江春玉. 植物促生细菌提高植物对铅、镉的耐受性及富集效应研究. 南京农业大学博士学位论文, 2008.
- [8] Xue GS, Hu LJ, Tian Y, Lu XY. Research progress on microbial remediation of controlling heavy metal pollution. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(11): 266–271. (in Chinese)
薛高尚, 胡丽娟, 田云, 卢向阳. 微生物修复技术在重金属污染治理中的研究进展. *中国农学通报*, 2012, 28(11): 266–271.
- [9] Li Q, Zhang P, Liao BH, Peng PQ, Mei JX, Xu JM. Isolation, identification and characterization of a Cd resistant bacterium. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(1): 11–24. (in Chinese)
李倩, 张平, 廖柏寒, 彭佩钦, 梅金星, 徐继敏. 一株耐 Cd 菌株的分离、鉴定及基本特性. *微生物学报*, 2019, 59(1): 11–24.
- [10] Xu SX, Du WT, Wang XY, Zhang JR, Zhang SM, Wu K. Isolation, identification and adsorption characteristics of a Cd-tolerant bacterium. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2017, 46(5): 71–76, 83. (in Chinese)
徐淑霞, 杜文涛, 王晓雅, 张继冉, 张世敏, 吴坤. 1 株耐 Cd 细菌的分离、鉴定及其吸附特性研究. *河南农业科学*, 2017, 46(5): 71–76, 83.
- [11] Zhang XQ, Du J, Cao JR, Si XG, Zhang AJ, Ren HF.

- Isolation, identification and biosorption characteristics of a lead resistant strain NY-3. *Letters in Biotechnology*, 2018, 29(6): 783–788. (in Chinese)
- 张晓青, 杜瑾, 曹军瑞, 司晓光, 张爱君, 任华峰. 一株耐铅菌株 NY-3 的分离鉴定及其吸附特性研究. *生物技术通讯*, 2018, 29(6): 783–788.
- [12] Fan JJ, Okyay TO, Rodrigues DF. The synergism of temperature, pH and growth phases on heavy metal biosorption by two environmental isolates. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 279: 236–243.
- [13] Lin H, Zhu YJ, Dong YB, Cheng H, Huo HX. Breeding and adsorption properties investigation of a strain resistant to acid and copper ions. *Environmental Chemistry*, 2013, 32(4): 599–604. (in Chinese)
- 林海, 朱亦珺, 董颖博, 程煌, 霍汉鑫. 一株耐酸耐铜细菌的选育及其吸附铜离子的特性. *环境化学*, 2013, 32(4): 599–604.
- [14] Zhang M, Gao CH, Li JH, Lu JJ, Jin DS, Gao YJ. Study on the adsorption characteristics and mechanism of a lead resistant aboriginal microorganism. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2018, 46(8): 1321–1328. (in Chinese)
- 张敏, 郜春花, 李建华, 卢晋晶, 靳东升, 郜雅静. 一株耐铅土著微生物的吸附特性及机制研究. *山西农业科学*, 2018, 46(8): 1321–1328.
- [15] Jin Y, Qu JJ, Li Y, Gu HD, Yan LL, Sun XB. Isolation, identification and Pb(II) biosorption characterization of a lead-resistant strain. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(8): 2248–2255. (in Chinese)
- 金羽, 曲娟娟, 李影, 顾海东, 闫立龙, 孙兴滨. 一株耐铅细菌的分离鉴定及其吸附特性研究. *环境科学学报*, 2013, 33(8): 2248–2255.
- [16] 黄飞. 蜡状芽孢杆菌对水体中镉的吸附特性与机理研究. 华南理工大学博士学位论文, 2013.
- [17] Hokkanen S, Bhatnagar A, Sillanpää M. A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity. *Water Research*, 2016, 91: 156–173.
- [18] Fan T, Liu YG, Feng BY, Zeng GM, Yang CP, Zhou M, Zhou HZ, Tan ZF, Wang X. Biosorption of cadmium(II), zinc(II) and lead(II) by *Penicillium simplicissimum*: isotherms, kinetics and thermodynamics. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 160(2/3): 655–661.
- [19] Volesky B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 2001, 59(2/3): 203–216.
- [20] Kiran I, Akar T, Ozcan AS, Ozcan A, Tunali S. Biosorption kinetics and isotherm studies of Acid Red 57 by dried *Cephalosporium aphidicola* cells from aqueous solutions. *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 31(3): 197–203.
- [21] Mascarin GM, Jaronski ST. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 32(11): 177.
- [22] Fei HQ, Sui L, Zhu H, Xu WJ, Chen RZ, Wang YZ, Li QY, Wang DL. Colonization of *Beauveria bassiana* in maize seedlings and its effect on their physiological-biochemical characteristics. *Chinese Journal of Biological Control*, 2016, 32(6): 721–727. (in Chinese)
- 费泓强, 隋丽, 朱慧, 徐文静, 陈日翌, 汪洋洲, 李启云, 王德利. 球孢白僵菌在玉米苗期的定殖及其对玉米生理生化特性的影响. *中国生物防治学报*, 2016, 32(6): 721–727.
- [23] Sui L, Xu WJ, Zhu H, Zhang ZK, Fei HQ, Chen RZ, Wang YZ, Li QY, Lu Y. Effects of *Beauveria bassiana*-corn endophytic symbionts on feeding behavior of the asian corn borer *ostrinia furnacalis*. *Chinese Journal of Biological Control*, 2020, 36(1): 46–51. (in Chinese)
- 隋丽, 徐文静, 朱慧, 张正坤, 费泓强, 陈日翌, 汪洋洲, 李启云, 路杨. 球孢白僵菌-玉米共生体对亚洲玉米螟取食行为的影响. *中国生物防治学报*, 2020, 36(1): 46–51.

Isolation, identification and biosorption characteristics of a lead and cadmium resistant fungus

Lin Xie¹, Yu Hao², Xin Qi¹, Bensong Liu¹, Yuchen Wen¹, Lijie Liu¹, Xiaojie Yang¹, Zhongmin Jin^{1*}

¹Life Sciences and Agriculture and Forestry College, Qiqihar University, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

²Hainan Geological Survey and Design Institute, Haikou 570100, Hainan Province, China

Abstract: [Objective] A lead and cadmium resistant strain was isolated from the polluted soil of Zhalong wetland, and the influences on lead and cadmium adsorption under different conditions are discussed. [Methods] The streak plate method and progressive domestication were used for screening lead and cadmium resistant strain. The strain was identified by physiological and biochemical tests, and by ITS sequence analysis. The optimal condition of the lead and cadmium resistant strain was explored, and Langmuir and Freundlich isothermal adsorption models were used. [Results] A lead and cadmium resistant strain JB15 was isolated as *Beauveria bassiana*, and the maximum tolerant Pb²⁺ and Cd²⁺ concentration of the strain was 1200 mg/L and 200 mg/L, respectively. Optimum conditions for adsorption were found at pH of 7.0 with inoculation quantity of 8.0 g/L, at 30 °C for 60 min. Under such conditions, the lead and cadmium adsorption rate reached 52.27% and 62.38%, and the lead and cadmium adsorption capacity reached 19.60 mg/g and 3.98 mg/g, respectively. The adsorption process of the strain was fitted well on Langmuir adsorption isotherm model. [Conclusion] The isolated strain JB15 has a good adsorption effect and provides theoretical foundation for microbial remediation of soil heavy metal contamination.

Keywords: lead and cadmium, isolation and identification, *Beauveria bassiana*, physiological and biochemical, bioadsorption

(本文责编: 李磊)

Supported by the Heilongjiang Provincial Higher Education Fund Research Project (135309483) and by the Qiqihar City Science and Technology Plan Project (2017GG1989)

*Corresponding author. E-mail: yyy6768@163.com

Received: 19 July 2019; Revised: 26 October 2019; Published online: 21 January 2020