

## 研究报告

## 霍氏肠杆菌 BG200 的分离鉴定及其镉耐受性和对镉胁迫下水稻生长的影响

毛双倍, 毛纯泽, 石於嘉, 樊雪静, 庄永亮, 万幸\*, 孙丽平\*

昆明理工大学 食品科学与工程学院, 云南 昆明 650500

毛双倍, 毛纯泽, 石於嘉, 樊雪静, 庄永亮, 万幸, 孙丽平. 霍氏肠杆菌 BG200 的分离鉴定及其镉耐受性和对镉胁迫下水稻生长的影响[J]. 微生物学通报, 2025, 52(7): 3039-3057.

MAO Shuangbei, MAO Chunze, SHI Yujia, FAN Xuejing, ZHUANG Yongliang, WAN Xing, SUN Liping. Isolation and identification of *Enterobacter hormaechei* BG200 with cadmium tolerance and promoting effect on rice growth under cadmium stress[J]. Microbiology China, 2025, 52(7): 3039-3057.

**摘要:** 【背景】生物性环境修复和保护策略是发展可持续农业、保障粮食生产、保证食品质量安全的重要策略, 因此挖掘并解析对环境镉污染有修复和保护潜能的菌株对农业生产具有重要意义。【目的】揭示霍氏肠杆菌(*Enterobacter hormaechei*) BG200 耐镉性能及其机制, 探究霍氏肠杆菌 BG200 对镉胁迫下水稻幼苗生长性能的影响。【方法】以低镉环境中富镉的灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)子实体为原料, 采用含镉平板培养法对其内生细菌进行分离、纯化并进行 16S rRNA 基因扩增和测序; 采用含镉摇瓶明确菌株的镉耐受性及其对镉的去除作用; 利用转录组测序技术和生物信息学分析菌株在镉胁迫下差异表达基因; 采用水培实验考察耐镉菌液对镉胁迫下水稻种子发芽和幼苗生长发育的影响以及镉积累变化。【结果】分离得到一株具有镉耐性的霍氏肠杆菌 BG200, 镉离子( $\text{Cd}^{2+}$ )对菌株 BG200 生长最低抑制浓度为 200 mg/L。菌株 BG200 对液体中  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附去除率可达 69.22%。菌株 BG200 在  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫环境中由长杆状变为短棒状并聚集, 随镉浓度增加, 菌体表面镉元素占比增加;  $\text{Cd}^{2+}$  可能借助 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)家族和主要异化子超家族(major facilitator superfamily, MFS)转运体或锌铁离子通道进入到菌体内; 菌体显著上调产能和抗氧化系统相关的基因; 菌体内多重耐药转录因子 *MarR*、超氧化物反应转录因子 *SoxS*、外排泵 *MerR* 家族转录因子等表达上调; 同时, 菌体上调外排转运体蛋白细菌抗菌化合物外排家族(proteobacterial antimicrobial compound efflux family, PACE)和属于 MFS 外排转运蛋白的 *GlpT*。添加 BG200 菌液显著提高了镉胁迫下水稻种子的萌发率, 提高了水稻苗的根长、株高、叶绿素、可溶性蛋白含量、抗氧化酶活性[过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)]; 降低水稻叶片中过氧化氢(hydrogen peroxide,  $\text{H}_2\text{O}_2$ )、超氧

资助项目: 云南省高层次科技人才和创新团队专项(202405AS350005)

This work was supported by the Special Project for High-level Scientific and Technological Talents and Innovation Teams of Yunnan Province (202405AS350005).

\*Corresponding authors. E-mail: SUN Liping, lpsun@kust.edu.cn; WAN Xing, 20110094@kust.edu.cn

Received: 2024-10-16; Accepted: 2024-11-28; Published online: 2024-12-17

阴离子(superoxide anion radical,  $O_2^{\cdot-}$ )、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和脯氨酸(proline, Pro)含量,降低水稻植株总镉含量、镉迁移系数和营养液中镉残留量。【结论】霍氏肠杆菌 BG200 具有较高的镉耐性和镉吸附能力,对镉胁迫条件下水稻苗有一定促生性,能降低水稻植株镉含量,在环境镉污染的微生物治理策略上具有应用潜力。

关键词: 霍氏肠杆菌; 镉胁迫; 转录组; 水稻; 生理生化; 转移和富集

## Isolation and identification of *Enterobacter hormaechei* BG200 with cadmium tolerance and promoting effect on rice growth under cadmium stress

MAO Shuangbei, MAO Chunze, SHI Yujia, FAN Xuejing, ZHUANG Yongliang, WAN Xing\*, SUN Liping\*

Faculty of Food Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China

**Abstract: [Background]** Environmental remediation and protection using microbial techniques is an important strategy for developing sustainable agriculture, guaranteeing food production, and ensuring food quality and safety. Therefore, it is of great significance for agricultural production to mine the strains with the potential of remediating and protecting against cadmium pollution. **[Objective]** To reveal the cadmium tolerance and mechanism of *Enterobacter hormaechei* BG200 and investigate the effect of *E. hormaechei* BG200 on the growth of rice seedlings under cadmium stress. **[Methods]** The endophytic bacteria were isolated from *Boletus griseus* by the cadmium-rich plate culture method. The 16S rRNA gene was amplified and sequenced for the isolated strain. The cadmium tolerance of the strain and its removal effect on cadmium were determined. Transcriptome sequencing and bioinformatics were employed to mine the differentially expressed genes of the strain under cadmium stress. Hydroponic experiments were conducted to investigate the effects of the strain on seed germination, seedling growth, and cadmium accumulation of rice under cadmium stress. **[Results]** *E. hormaechei* BG200 with cadmium tolerance was isolated from *B. griseus*. The minimum inhibitory concentration of cadmium ion ( $Cd^{2+}$ ) on the growth of *E. hormaechei* BG200 was 200 mg/L. The removal rate of strain BG200 for  $Cd^{2+}$  in liquid by adsorption reached 69.22%. The cells of strain BG200 exposed to  $Cd^{2+}$  stress changed from long rod to short rod. With the increase in  $Cd^{2+}$  concentration, the proportion of cadmium element on the cell surface of strain BG200 increased.  $Cd^{2+}$  might enter bacterial cells *via* transporters of the ATP-binding cassette family and major facilitator superfamily (MFS) or zinc-iron ion channels. Under cadmium stress, strain BG200 significantly upregulated the expression of genes related to productivity and antioxidant system. In addition, the expression levels of *MarR* family transcription factors associated with multi-drug resistance, *SoxS* family transcription factors associated with superoxide reaction, and *MerR* family transcription factors associated with efflux pumps were upregulated in bacteria. At

the same time, strain BG200 upregulated the expression of proteobacterial antimicrobial compound efflux (PACE) transporters and *GlpT*, an MFS member. The fermentation broth of strain BG200 significantly increased the germination rate of rice seeds under cadmium stress, and it increased the root length, plant height, chlorophyll content, soluble protein, and activities of antioxidant enzymes (catalase, peroxidase, and superoxide dismutase) of rice seedlings. Meanwhile, the fermentation broth reduced the content of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ), malondialdehyde (MDA), and proline (Pro) in rice leaves as well as the total cadmium content and cadmium migration index of rice seedlings under cadmium stress. Moreover, it decreased the cadmium residue in the nutrient solution. **[Conclusion]** *E. hormaechei* BG200 has high cadmium tolerance and adsorption capacity. The fermentation broth of strain BG200 could not only promote the growth of rice seedlings but also reduce the content of cadmium in rice seedlings under cadmium stress. *E. hormaechei* BG200 showcases the potential of application in the microbial remediation of environmental cadmium pollution.

**Keywords:** *Enterobacter hormaechei*; cadmium stress; transcriptome; rice; physiology and biochemistry; transfer and enrichment

在现代工业背景下,土壤镉污染日益严重<sup>[1]</sup>。土壤中污染的镉不能被降解,容易被高等真菌和植物富集,通过食物链进入动物和人体,经过积累对人体健康产生不可逆的损伤<sup>[2]</sup>。水稻是我国主要食物来源,而水稻中镉积累量远高于小麦等其他谷物<sup>[3]</sup>,所以如何治理镉污染土壤并降低农作物尤其是水稻对土壤镉的吸收累积,是农业可持续发展与粮食安全急需解决的问题之一。

重金属修复方法主要有物理修复、化学修复、生物修复、复合修复等<sup>[4]</sup>。生物修复是近年来研究者大力倡导的可有效应对污染、干旱、温室效应等环境问题的重要策略与技术。研究者已发现一些耐镉细菌能通过吸附、吸收、沉淀、络合、转化等方式转变镉存在形态,固定或清除镉,降低土壤中镉对作物的毒性,降低镉在作物体内的积累,实现粮食作物的安全生产<sup>[5]</sup>。

已有大量文献报道从重金属富集植物、重金属污染土壤等体系中分离出重金属耐性细菌,并用于研究细菌或植物-细菌相互作用,以及植物-细菌联合修复对重金属污染的清除和固化作用<sup>[6]</sup>。相较于维管束植物,大型真菌对土壤基质中的金属和类金属具有更强的吸收和

富集性能<sup>[7]</sup>。本团队深入研究了云南野生食用菌有害重金属问题。调研收集的 211 个灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)样本中总镉(Cd)含量很高,为 1.61–48.72 mg/kg,均值为 22.42 mg/kg,即便在总 Cd 含量为 0.03–0.57 mg/kg 的质量良好的土壤环境中,*B. griseus* 中 Cd 依然可达 8.69–24.19 mg/kg (样本数为 22 个),生物富集系数为 24.14–386.00,表明 *B. griseus* 对镉富集不是镉胁迫分化的生态型性状<sup>[8–9]</sup>。富镉的大型真菌已有较多研究报道,但鲜有研究富镉真菌的一些共生细菌及其对镉富集的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

2021 年 6–8 月间,在云南省玉溪市易门县大山脚村,采集新鲜的灰褐牛肝菌子实体。采集后用无菌纱布包裹,置于灭菌滤纸袋中,4 h 内带回实验室。供试水稻品种为‘金梗 616’,淮安金地种业有限公司。生物成分分析标准物质 GBW10025 (GSB-16)螺旋藻,中国地质科学院地球物理地球化学勘察研究所。

### 1.2 培养基、主要试剂和仪器

LB 培养基参考文献[10]配制。1 mg/mL Cd

元素标准液,国家有色金属及电子材料分析测试中心。瓷珠菌种保存管,比克曼生物科技有限公司;能谱仪,赛默飞世尔科技公司;Helios 5 CX 场发射扫描电镜,赛默飞世尔科技公司;Yoshida 水稻营养液,北京酷来博科技有限公司;珍珠岩,史丹利农业集团股份有效公司;NanoDrop 2000 超微量分光光度计,上海实维实验仪器技术有限公司;TJE10C-150 搅拌机,浙江苏泊尔股份有限公司;石墨炉/火焰原子吸收光谱仪,耶拿分析仪器(北京)有限公司;高通量密闭微波消解仪,CEM 公司;双光束紫外可见光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;恒温振荡培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;双人单面洁净工作台,苏州苏洁净化设备有限公司。

### 1.3 组织分离与菌株纯化

削除灰褐牛肝菌菌柄根部的泥土,先用 75% 乙醇喷洗并擦拭子实体表面的杂质,再用无菌水冲洗,无菌纱布擦干,置于超净工作台中紫外照射灭菌 15 min。用手术刀纵向剖开子实体,切取菌柄与菌盖连接处组织块(3 mm×3 mm×3 mm),采用点种法将组织块放置在含 9.6 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$  的 LB 固体培养基上,每个平板接种 3 块,静置 4 h 后于 35 °C 倒置培养 3–5 d。在此过程中观察到组织块周围快速萌生的黏液质的菌落,挑取菌落,采用划线法,在 LB 平板上转接、纯化,纯化后收藏于瓷珠菌种保存管。

### 1.4 分离菌株的 16S rRNA 基因序列分析和分类归属

采用划线法培养细菌菌落,记录菌落的颜色、形态、透明度等,在显微镜下观察菌株细胞形态特征及革兰氏染色反应。将培养 3 d 的细菌平板移送北京擎科生物科技股份有限公司昆明分公司,对 16S rRNA 基因进行提取、扩增和序列分析,将序列上传至 NCBI 数据库中进行比对,确定细菌的分类学地位。

### 1.5 分离菌株的耐镉性能测定

将菌株种子培养液接种于含 0、10、50、100、150、200 和 300 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$  的 LB 液体培养基,

37 °C、180 r/min 振荡培养。分别在 0、1、4、8、12、24、36 和 48 h 取培养混合物测定其  $OD_{600}$ ,绘制不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下菌株的生长曲线。菌株没有明显生长的最小  $\text{Cd}^{2+}$  浓度记为  $\text{Cd}^{2+}$  对菌株生长的最低抑制浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。

### 1.6 分离菌株对液体中镉离子去除性能测定

将菌株种子培养液接种于  $\text{Cd}^{2+}$  初始浓度为 10、20、40、60、80、100、120、140 mg/L, pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 的 LB 液体培养基,37 °C、180 r/min 培养 24 h,设置不接种菌株的 LB 液体培养基为对照组。培养结束后,取培养混合物 8 000 r/min 离心 5 min,收集上清液,采用原子吸收分光光度法测定上清液中  $\text{Cd}^{2+}$  含量,按照公式(1)计算菌株对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附去除率(Q)。

$$Q = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:Q 为菌株对培养基中  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率(%); $C_0$  为各条件下对照组上清液中  $\text{Cd}^{2+}$  的浓度(mg/L); $C_1$  为各条件下菌株吸附后上清液中  $\text{Cd}^{2+}$  的浓度(mg/L)。

### 1.7 分离菌株耐镉机制的测定

#### 1.7.1 镉胁迫下菌株细胞形态分析

将菌株种子培养液接种于 pH 7.0、 $\text{Cd}^{2+}$  初始浓度为 0、10、40、100 mg/L 的 LB 液体培养基中,37 °C、180 r/min 振荡培养 24 h 后 10 000 r/min 离心 5 min,收集菌体细胞,经戊二醛固定、乙醇梯度脱水、干燥、喷金等处理后,采用扫描电镜观察菌体表面特征并拍照。同时,在扫描电镜下使用能谱仪进行能谱扫描,分析  $\text{Cd}^{2+}$  处理后的菌体表面元素的变化情况。

#### 1.7.2 镉胁迫下菌株细胞的转录组分析

按照 1.7.1 获得 0–100 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下的菌体细胞,于灭菌冻存管中液氮速冻,–80 °C 保存,干冰保存下移送上海凌恩生物科技有限公司,测定菌株细胞原核转录组。简言之,提取

不同  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下的菌体细胞的总 RNA, 通过琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 检测提取的 RNA 的浓度、纯度和完整性。RNA 检测合格后去除 rRNA 和 mRNA 片段化, 以片段化的 mRNA 为模板, 合成双链 cDNA 并进行纯化。对纯化后的 cDNA 进行末端修复、加 A 尾、连接测序接头、筛选 300–600 bp 片段、PCR 扩增纯化, 获取文库(上海凌恩生物科技有限公司测定)。cDNA 文库在 Illumina 测序平台进行测序。下机数据经过质控、序列比对后得到 mapped reads。使用每百万碱基对测序转录本序列片段每千碱基片段的预期数量(fragments per kilobase of exon per million fragments mapped, FPKM)法计算组间及样本间的相关性系数, 差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)筛选标准为  $|\log_2(\text{fold change, FC})| \geq 1$  且错误发现率(false discovery rate, FDR)  $< 0.05^{[1]}$ 。对筛选获得的 DEG 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析。

通过实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 验证 RNA-Seq 结果中随机选择的菌株细胞中与 Cd 抗性相关的 6 个基因, 用以证明测序结果的准确性。采用引物扩增目的基因, 引物序列如表 1 所示。反应体系: qPCR Mix (TaKaRa) 15  $\mu\text{L}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  25 mmol/L, 引物 P5 10  $\mu\text{mol/L}$ , 引物 P3 10  $\mu\text{mol/L}$ , 模板 2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O

10  $\mu\text{L}$ 。体系反应条件: 95  $^{\circ}\text{C}$  3 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 退火温度依次为 45、50、55、60、65  $^{\circ}\text{C}$ , 各 30 s, 循环 30 次; 72  $^{\circ}\text{C}$  30 s。

## 1.8 分离菌株对镉胁迫下水稻生长发育及镉含量影响的测定

### 1.8.1 水稻种子预处理

供试水稻品种为‘金梗 616’, 用 75%乙醇浸泡种子 3 min, 去离子水清洗 3 遍, 将种子单层平铺于含去离子水滤纸托盘上, 盖 4 层湿润纱布, 置于 28  $^{\circ}\text{C}$  黑暗条件下催芽 24 h, 待种子出芽备用。

### 1.8.2 菌悬液的制备

将菌株接种于 LB 培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、120 r/min 培养 24 h 得到种子液, 按 5%接种量接入 100 mL LB 培养基中培养 24 h, 制成菌悬液。

### 1.8.3 水稻镉胁迫的水培处理和幼苗萌发率的测定

在塑料水培盒中装载一定量的珍珠岩和 300 mL Yoshida 水稻营养液, 以外源加入  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  的方式使营养液中  $\text{Cd}^{2+}$  终浓度分别为 0、10 和 20 mg/L, 将 1.8.1 中已出芽种子随机在每盆栽种 20 颗, 菌株处理组中再加入 5 mL 1.8.2 中制成的菌悬液, 具体处理如表 2 所示, 室外自然光照条件下生长 25 d, 定时定量补充每盆中水稻营养液。每个试验组有 6 盆。

表 1 用于验证转录组测序数据的差异表达基因及其引物序列

Table 1 Differentially expressed genes used to verify transcriptome sequencing data and their primer sequence

| Gene ID       | Description                                    | Primer name | Primer sequence (5'→3') |
|---------------|------------------------------------------------|-------------|-------------------------|
| FR837_RS16450 | Ribosome-associated translation inhibitor RaiA | RaiA-F      | AAGGGTTTGTGCTGACGC      |
|               |                                                | RaiA-R      | GTTGGCGTCTTTCACCGATG    |
| FR837_RS18975 | 3,4-dihydroxy-2-butanone-4-phosphate synthase  | ribB-F      | TGGCAGTTGATGGGGTTAGT    |
|               |                                                | ribB-R      | CTAATTGCCGGGCCAAGTAC    |
| FR837_RS06900 | DUF1471 family periplasmic protein McbA        | McbA-F      | AACCTTTCGCGCCTTGTTTCG   |
|               |                                                | McbA-R      | CGCGCAACCGATGAGTAACC    |
| FR837_RS22040 | Cell-envelope stress modulator CpxP            | CpxP-F      | TGGAGACAATGCATCGCCTT    |
|               |                                                | CpxP-R      | AACCTCACGCAACTGGTTCA    |
| FR837_RS06950 | Outer membrane protein OmpX                    | OmpX-F      | GCTGGGTGTGATCGGTTCTT    |
|               |                                                | OmpX-R      | TGTCGTGTTTGTAGGTCGGG    |
| FR837_RS17580 | RNA polymerase sigma factor RpoS               | RpoS-F      | CGGGTTCGGTTTCTCAACCT    |
|               |                                                | RpoS-R      | TTGTCGAGTTGCTCTGCGAT    |
| 16S rRNA      |                                                | 16S rRNA-F  | TAATACCGCATACGCCCTAC    |
|               |                                                | 16S rRNA-R  | GGACCGTGTCTCAGTTCCAG    |

表 2 水稻镉胁迫的水培试验处理

Table 2 Hydroponic test treatments for cadmium stress in rice

| 试验组                | 具体处理方式                                                                                                                   |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Experimental group | Specific treatment method                                                                                                |
| Cd0-CK             | 无 Cd 营养液, 不添加菌悬液<br>No Cd nutrient solution, no bacterial suspension added                                               |
| Cd0-BG             | 无 Cd 营养液, 添加 BG200 菌悬液 5 mL<br>Without Cd nutrient solution, 5 mL BG200 bacterial suspension was added                   |
| Cd10-CK            | 10 mg/L Cd <sup>2+</sup> 营养液, 不添加菌悬液<br>10 mg/L Cd <sup>2+</sup> nutrient solution without bacterial suspension          |
| Cd10-BG            | 10 mg/L Cd <sup>2+</sup> 营养液, 添加菌悬液 5 mL<br>10 mg/L Cd <sup>2+</sup> nutrient solution, adding 5 mL bacterial suspension |
| Cd20-CK            | 20 mg/L Cd <sup>2+</sup> 营养液, 不添加菌悬液<br>20 mg/L Cd <sup>2+</sup> nutrient solution without bacterial suspension          |
| Cd20-BG            | 20 mg/L Cd <sup>2+</sup> 营养液, 添加菌悬液 5 mL<br>20 mg/L Cd <sup>2+</sup> nutrient solution, adding 5 mL bacterial suspension |

水培处理 7 d 后, 将幼芽长到种子长度的一半, 幼根与种子长度相等记作种子萌发, 种子萌发数/每盆种子数算作萌发率。水培处理 25 d 后, 采用倾倒法分别收集营养液和水稻苗全株。

### 1.8.4 水稻苗生物量及镉含量的测定

随机选取每个实验组 3 盆水稻苗, 用去离子水冲洗 3 遍, 测其根长(cm)和茎长(cm), 然后切分为地上(茎和叶)和地下(根) 2 个部分, 105 °C 杀青 20 min, 80 °C 烘干至恒重, 剪成小段后用搅拌机粉碎, 准确称样, 置于消解管中微波消解, 用原子吸收分光光度法测定总镉含量, 结果表达为 mg/kg, 迁移系数=地上部 Cd 含量/地下部 Cd 含量。

### 1.8.5 水稻苗叶片生化指标的测定

收集各处理组剩余 3 盆水稻苗的新鲜叶片, 参照王波等<sup>[12]</sup>方法测定水稻苗叶绿素含量; 采用试剂盒法测定水稻苗叶片中的活性氧(O<sup>2-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、丙二醛(MDA)、渗透调节物质(可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸)和抗氧化酶活性(CAT、SOD、POD)。

### 1.8.6 营养液中镉含量的测定

将收集的营养液静置自然沉降 10 min, 过 0.45 μm 滤膜, 移取 1 mL 滤液置于消解管中微波消解, 用原子吸收分光光度法测定总镉含量(mg/L)。

## 1.9 数据处理与统计分析

所有测试至少 3 次重复, 测定结果为平均值±标准偏差。实验数据采用 SPSS 21.0 软件的 ANOVA 法进行单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示差异显著, 使用 Origin 2018 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 分离菌株的分类鉴定结果

采用含镉平板分离得到的菌株在培养基上长出白色、不透明、圆形菌落, 如图 1 所示, 菌落表面光滑, 微凸起且较为湿润。扫描电镜下菌体细胞长杆状, 无芽孢。菌株革兰氏染色为红色, 是 G<sup>-</sup>杆状菌。分离菌株的 16S rRNA 基因序列经 BLAST 比对, 结果显示该菌株与霍氏肠杆菌(*Enterobacter hormaechei*)的相似性达到 100%, 所以将菌株鉴定为霍氏肠杆菌(*Enterobacter hormaechei*)。因菌株分离自灰褐牛肝菌(*B. griseus*), 将菌株命名为 *E. hormaechei* BG200, 简称为菌株 BG200。

### 2.2 菌株 BG200 对 Cd<sup>2+</sup>的耐受性能

如图 2 所示, 随着培养基中 Cd<sup>2+</sup>浓度的增加, 菌株 BG200 的生长出现迟缓期, 最大生长量逐渐降低, 在 Cd<sup>2+</sup>为 200 mg/L 时已不再明显生长, 所以 Cd<sup>2+</sup>对菌株 BG200 生长的最低抑制浓度为 200 mg/L。



图 1 分离菌株的菌落形态(A)及菌体形态(B)

Figure 1 Colony morphology (A) and cell morphology (B) of the isolated strain.

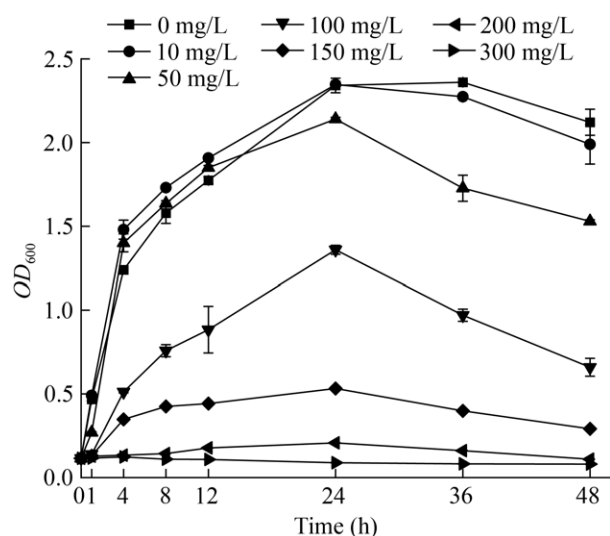


图 2 不同  $\text{Cd}^{2+}$  浓度胁迫下菌株 BG200 的生长曲线

Figure 2 Growth curves of strain BG200 at different concentrations of  $\text{Cd}^{2+}$ .

### 2.3 菌株 BG200 对 $\text{Cd}^{2+}$ 的吸附清除能力

在不同初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度和 pH 条件下, 菌株 BG200 对培养基中  $\text{Cd}^{2+}$  吸附清除的能力表现不同(图 3)。初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度是影响菌株 BG200 吸附清除  $\text{Cd}^{2+}$  的重要因素。由图 3A 可知, 在初始 pH 7.0、培养 24 h 条件下, 随着初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的增加, 菌株 BG200 对  $\text{Cd}^{2+}$  的清除率呈现先增加后降低的趋势,  $\text{Cd}^{2+}$  初始浓度为 40 mg/L 时,

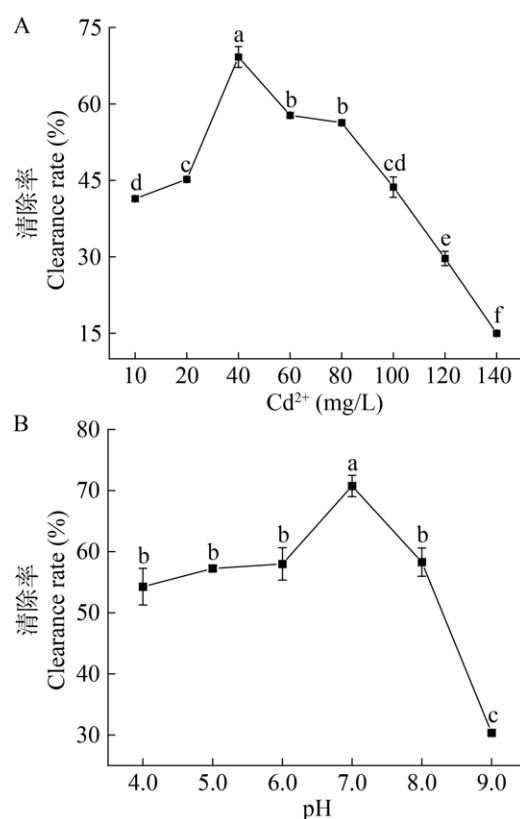


图 3 不同  $\text{Cd}^{2+}$  浓度胁迫下(A)及不同 pH 条件下(B)菌株 BG200 吸附清除  $\text{Cd}^{2+}$  的能力 不同小写字母表示差异显著。

Figure 3 The ability of strain BG200 to adsorb  $\text{Cd}^{2+}$  under different  $\text{Cd}^{2+}$  concentration stress (A) and different pH conditions (B). Different lowercase letters indicate significant difference.



细菌对  $\text{Cd}^{2+}$  的清除率最高, 达到 69.22%。这可能是菌体在生长过程中利用细胞壁上的磷酸根等活性基团吸附和结合了培养基中的  $\text{Cd}^{2+}$ , 也可能将吸附的  $\text{Cd}^{2+}$  转运至细胞内, 然后在细胞内被金属硫蛋白结合或区室化处理, 从而降低了培养基中  $\text{Cd}^{2+}$  的浓度; 但当培养基中  $\text{Cd}^{2+}$  浓度超过细菌的耐受能力, 就会对细菌活性产生毒性作用, 影响其生长能力(图 2), 降低其对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附清除能力。这一结果与 Li 等<sup>[13]</sup>报道的研究结果相一致。

初始 pH 也是影响菌株 BG200 对  $\text{Cd}^{2+}$  吸附清除能力的重要因素。如图 3B 所示, 在初始  $\text{Cd}^{2+}$  为 40 mg/L 培养 24 h 条件下, 随着培养基中 pH 值的增大, 菌株 BG200 对吸附清除率呈现先增加后降低的趋势, 在 pH 7.0 时, 清除率最高, 达到 70.75%。这可能是当初始 pH 值低于 6.0 时, 不适合菌株 BG200 生长, 细菌生物量受到影响, 对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附清除率也降低。当初始 pH 值大于 7.0 时, 不仅会影响到细菌生长, 并且溶液中的  $\text{Cd}^{2+}$  容易与水形成水合氧化物  $\text{Cd}(\text{OH})^+$ , 生成的  $\text{Cd}(\text{OH})^+$  易于与培养基中有机大分子物质络合, 不易被菌体利用。这一结果与刘军生等<sup>[14]</sup>研究的结论相一致。王思宇等<sup>[15]</sup>研究也发现, 初始 pH 值为 7.0 时, 霍氏肠杆菌 EMH2305 对四环素的降解去除率最高。

## 2.4 菌株 BG200 对镉耐受的机理

### 2.4.1 镉胁迫下菌株 BG200 细胞形态的变化

从图 4 可以看出, 不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下菌

株 BG200 菌体形态发生显著变化。无  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时, 菌株 BG200 呈典型的长杆状, 生长状态良好, 个体间界限清晰。随着  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的升高, 菌体细胞由长杆状逐渐变为短棒状, 菌体之间出现成簇聚集现象。对菌体进行能谱扫描, 如表 3 所示, 在无  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时, 菌株 BG200 菌体表面主要由 C、N、O 和 P 等元素组成, 未检测到镉元素的信号; 培养基中添加  $\text{Cd}^{2+}$  后, 菌体表面主要组成元素中出现镉元素信号, 并且随着  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的增加, 其所占元素原子比增加至 0.22%, 这可能是  $\text{Cd}^{2+}$  与菌株 BG200 细胞壁的一些活性基团结合, 滞留在细胞壁上。

### 2.4.2 镉胁迫下菌株 BG200 的转录组分析结果

对不同处理组菌株 BG200 的 DEG 数目进行筛选, 结果如图 5 所示。相较于对照组, 随  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的增加, 各处理组的 DEG 显著增加。相较于对照组, 100 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$  组共有 666 个 DEG, 其中上调基因 304 个, 下调基因 362 个。与对照相比, 各浓度镉胁迫下 BG200 中均呈现上调的差异表达基因如表 4 所示。

利用 GO 数据库对转录组测序结果进行基因功能分析注释, 其中 GO 包括生物过程、细胞组分和分子功能 3 个维度, 结果如图 6 所示。在镉胁迫下, 菌株 BG200 的 DEG 主要富集到生物过程, 其中生物过程显著富集到代谢过程、运动、对化学刺激做出反应、氧化还原过程等,

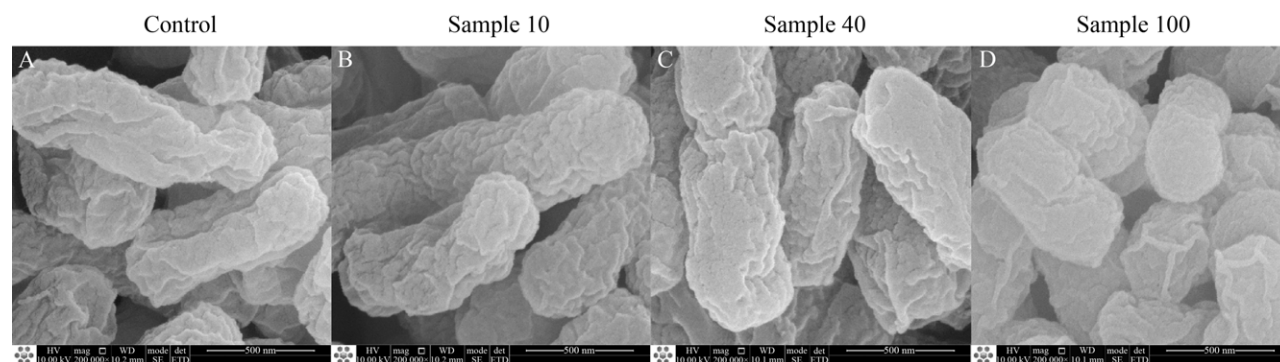


图 4 不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下菌株 BG200 的细胞形态

Figure 4 Cell morphology of strain BG200 at different concentrations of  $\text{Cd}^{2+}$ . A: 0 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$ ; B: 10 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$ ; C: 40 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$ ; D: 100 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$ .



表3 不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下菌株 BG200 菌体表面的元素原子比

Table 3 Elemental atomic ratios on cell surface of strain BG200 under different concentrations of  $\text{Cd}^{2+}$  (%)

| Element | Control     | 10 mg/L $\text{Cd}^{2+}$ | 40 mg/L $\text{Cd}^{2+}$ | 100 mg/L $\text{Cd}^{2+}$ |
|---------|-------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| C       | 68.68±0.09b | 63.31±0.75d              | 72.72±0.74a              | 65.16±0.75c               |
| O       | 16.08±0.08c | 17.26±0.21b              | 14.47±0.02d              | 19.07±0.09a               |
| N       | 13.69±0.38b | 17.27±0.28a              | 10.09±0.12d              | 12.94±0.16c               |
| P       | 0.53±0.03d  | 0.78±0.09c               | 1.28±0.10b               | 1.54±0.09a                |
| Cd      | nd          | 0.02±0.01c               | 0.13±0.12b               | 0.22±0.09a                |

nd: 未检出; 同一行不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。  
nd: Not detected; Different lowercase letters in the same line indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

细胞组分中显著富集到细胞器, 分子功能中显著富集到氧化还原酶活性。

在此基础上, 结合 KEGG 基因组数据库对检测到的 DEG 在代谢通路上进行富集分析, 结果如图 7 所示。在镉胁迫下, 菌株 BG200 的 DEG 显著富集在与关联全局和总体路径相关的不同环境的微生物代谢、与膜转运相关的 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白、与细胞运动相关的鞭毛组装和细菌趋化、与碳水化合物代谢相关的三羧酸循环、与氨基酸代谢相关的酪氨酸和色氨酸代谢等通路中。

表4 镉胁迫下 BG200 上调的差异表达基因及功能

Table 4 Up-regulated gene and function in BG200 under different concentrations of  $\text{Cd}^{2+}$

| Gene ID       | Function                                                 |
|---------------|----------------------------------------------------------|
| FR837_RS06720 | HutU, urocanate hydratase                                |
| FR837_RS06725 | HutH, histidine ammonialyase                             |
| FR837_RS06530 | CydA, cytochrome ubiquinol oxidase subunit I             |
| FR837_RS06540 | CydX, cytochrome bd-I oxidase subunit CydX               |
| FR837_RS06535 | CydB, cytochrome d ubiquinol oxidase subunit II          |
| FR837_RS22060 | SodA, superoxide dismutase [Mn]                          |
| FR837_RS09605 | SodB, superoxide dismutase [Fe]                          |
| FR837_RS01660 | SoxS, superoxide response transcriptional regulator SoxS |
| FR837_RS11770 | Oxidoreductase                                           |
| FR837_RS08960 | KatE, catalase HP11                                      |
| FR837_RS03115 | Organic hydroperoxide resistance protein                 |
| FR837_RS20105 | YhcN, peroxide/acid stress response protein YhcN         |

(待续)

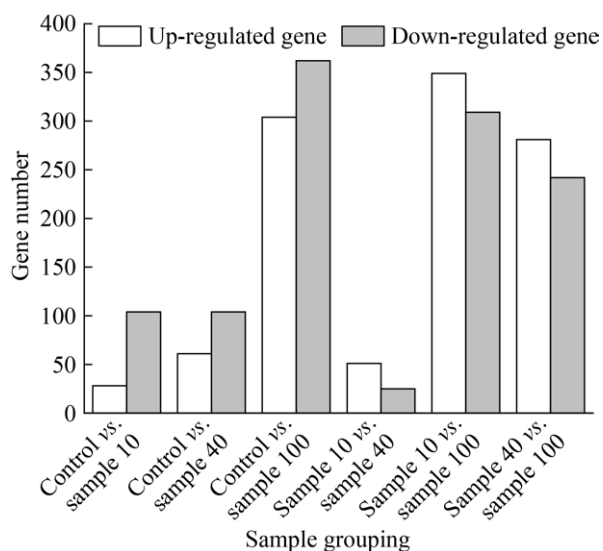


图5 差异表达基因数目统计图

Figure 5 Statistical diagram of the number of differentially expressed genes.

通过对转录组测序结果的分析, 随机筛选出 6 个与镉转运相关的差异表达基因, 分别是与核糖体翻译相关基因 *RaiA*、与 DUF1471 家族的外膜蛋白相关基因 *McbA*、与 3,4-二羟基-2-丁酮-4-磷酸合成酶相关基因 *ribB*、与 RNA 聚合酶  $\sigma$  因子相关基因 *RpoS*、与细胞包膜压力调节器相关基因 *CpxP*, 以及与其外膜蛋白相关基因 *OmpX*。并对其进行 RT-qPCR 验证, 结果如图 8

(续表 4)

| Gene ID       | Function                                                            |
|---------------|---------------------------------------------------------------------|
| FR837_RS03210 | OsmY, molecular chaperone OsmY                                      |
| FR837_RS20960 | GntR, gluconate operon transcriptional repressor GntR               |
| FR837_RS13365 | YodD, YodD family peroxide/acid resistance protein                  |
| FR837_RS21875 | ArgB, acetylglutamate kinase                                        |
| FR837_RS02650 | ArgF, ornithine carbamoyltransferase                                |
| FR837_RS10790 | MarB, multiple antibiotic resistance protein MarB                   |
| FR837_RS10800 | MarR, multiple antibiotic resistance transcriptional regulator MarR |
| FR837_RS03115 | Organic hydroperoxide resistance protein                            |
| FR837_RS12815 | Tellurite resistance TerB family protein                            |
| FR837_RS08515 | BhsA, multiple stress resistance protein BhsA                       |
| FR837_RS10045 | MFS transporter                                                     |
| FR837_RS05745 | ABC transporter substrate-binding protein                           |
| FR837_RS05795 | SitA, zinc ABC transporter substrate-binding protein                |
| FR837_RS05655 | Cation-transporting P-type ATPase                                   |
| FR837_RS12860 | ZunA, zinc ABC transporter substrate-binding protein ZunA           |
| FR837_RS12870 | ZunB, zinc ABC transporter permease subunit ZunB                    |
| FR837_RS12865 | ZunC, zinc ABC transporter ATP-binding protein ZunC                 |
| FR837_RS05845 | FepC, iron-enterobactin ABC transporter ATP-binding protein         |
| FR837_RS05850 | FepG, iron-enterobactin ABC transporter permease                    |
| FR837_RS20845 | FeoA, ferrous iron transporter A                                    |
| FR837_RS05800 | SitB, iron/manganese ABC transporter ATP-binding protein SitB       |
| FR837_RS05805 | SitC, iron/manganese ABC transporter permease subunit SitC          |
| FR837_RS18065 | Multidrug/biocide efflux PACE transporter                           |
| FR837_RS14815 | GlpT, glycerol-3-phosphate transporter                              |
| FR837_RS10795 | MarA, MDR efflux pump AcrAB transcriptional activator MarA          |
| FR837_RS03320 | RobA, MDR efflux pump AcrAB transcriptional activator RobA          |
| FR837_RS12235 | MerR family transcriptional regulator                               |
| FR837_RS05660 | Efflux RND transporter periplasmic adaptor subunit                  |
| FR837_RS05665 | Efflux RND transporter permease subunit                             |
| FR837_RS15460 | CysT, sulfate/thiosulfate ABC transporter permease CysT             |
| FR837_RS11925 | YedF, sulfurtransferase-like selenium metabolism protein YedF       |
| FR837_RS15465 | Sulfate ABC transporter substrate-binding protein                   |
| FR837_RS20905 | GlpE, thiosulfate sulfurtransferase GlpE                            |
| FR837_RS03155 | FhuF, siderophore-iron reductase FhuF                               |
| FR837_RS05820 | TonB-dependent siderophore receptor                                 |
| FR837_RS07195 | ArsC, glutaredoxin-dependent arsenate reductase                     |
| FR837_RS07200 | Arsenic transporter                                                 |
| FR837_RS07205 | Metallorepressor ArsR/SmtB family transcription factor              |
| FR837_RS12370 | Type VI secretion system tube protein Hcp                           |
| FR837_RS12330 | TssF, type VI secretion system baseplate subunit TssF               |
| FR837_RS12390 | TssC, type VI secretion system contractile sheath large subunit     |
| FR837_RS12405 | TagF, type VI secretion system-associated protein TagF              |
| FR837_RS12395 | TssB, type VI secretion system contractile sheath small subunit     |

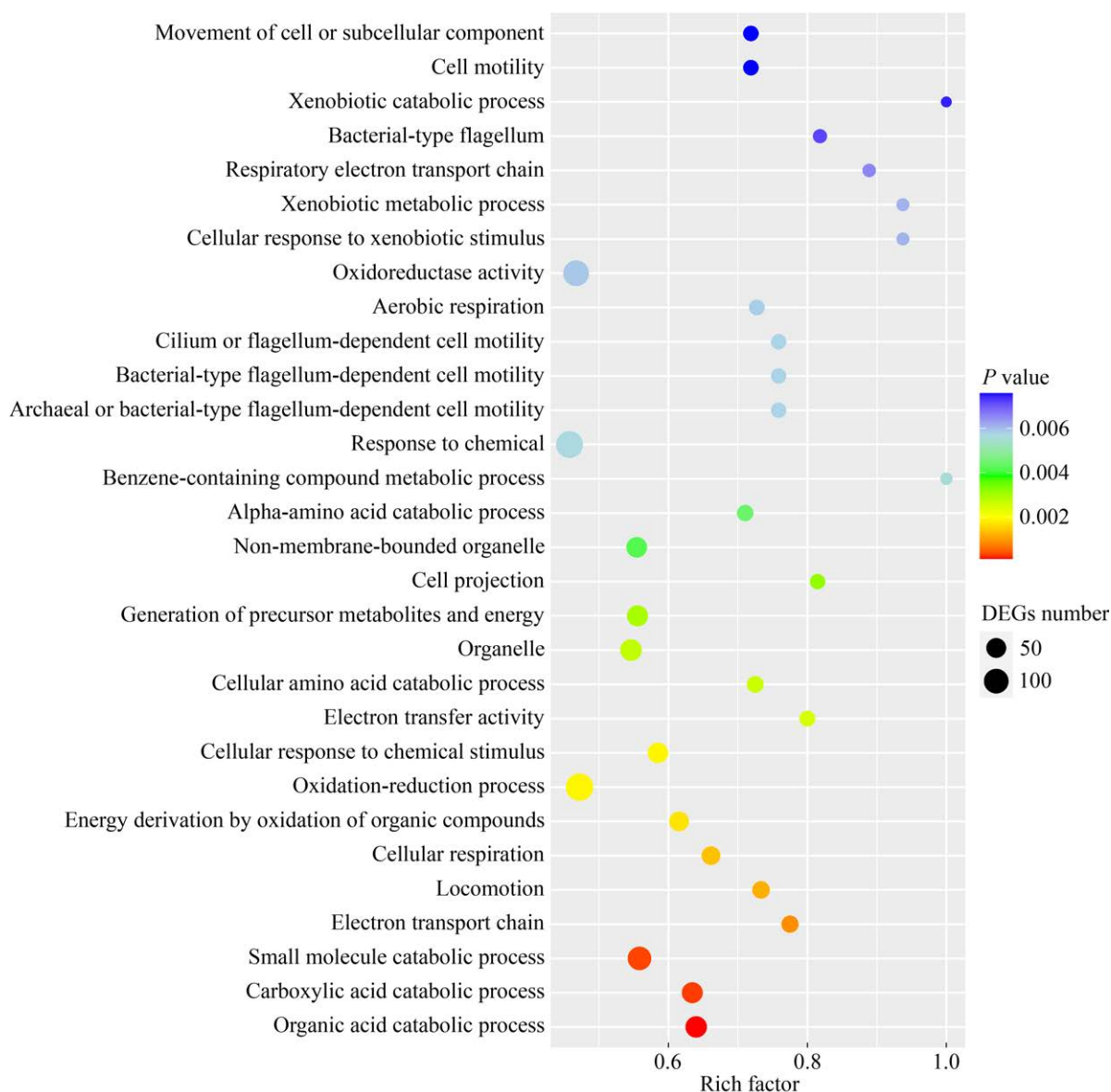


图 6 差异表达基因 GO 富集气泡图

Figure 6 Bubble diagram for GO enrichment of differentially expressed genes.

所示，6 个差异表达基因在 RT-qPCR 结果与 RNA-Seq 的基因表达趋势一致，验证了本次转录组数据的可靠性。

## 2.5 菌株 BG200 对镉胁迫下水稻苗生理生化指标与镉积累的影响

### 2.5.1 菌株 BG200 对镉胁迫下水稻苗萌发率、生长、叶绿素含量的影响

对水稻苗生长指标进行测定，结果如表 5 所示。相较于无  $\text{Cd}^{2+}$  组， $\text{Cd}^{2+}$  胁迫条件下，水稻

苗萌发率、根长、株高、干重、叶绿素含量均显著降低，可见  $\text{Cd}^{2+}$  对水稻具有严重毒作用，使其生长受到抑制。添加 BG200 菌悬液可在一定程度上缓解  $\text{Cd}^{2+}$  对水稻萌发和生长的损伤作用，显著提高了水稻种子萌发率，水稻苗根长和株高，提高了水稻苗叶片中叶绿素含量 ( $P < 0.05$ )。同时结果表明，在无  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时，添加 BG200 菌悬液，没有影响水稻种子萌发率、水稻苗根长和株高，但显著提高了水稻苗叶片中的叶绿素含量。

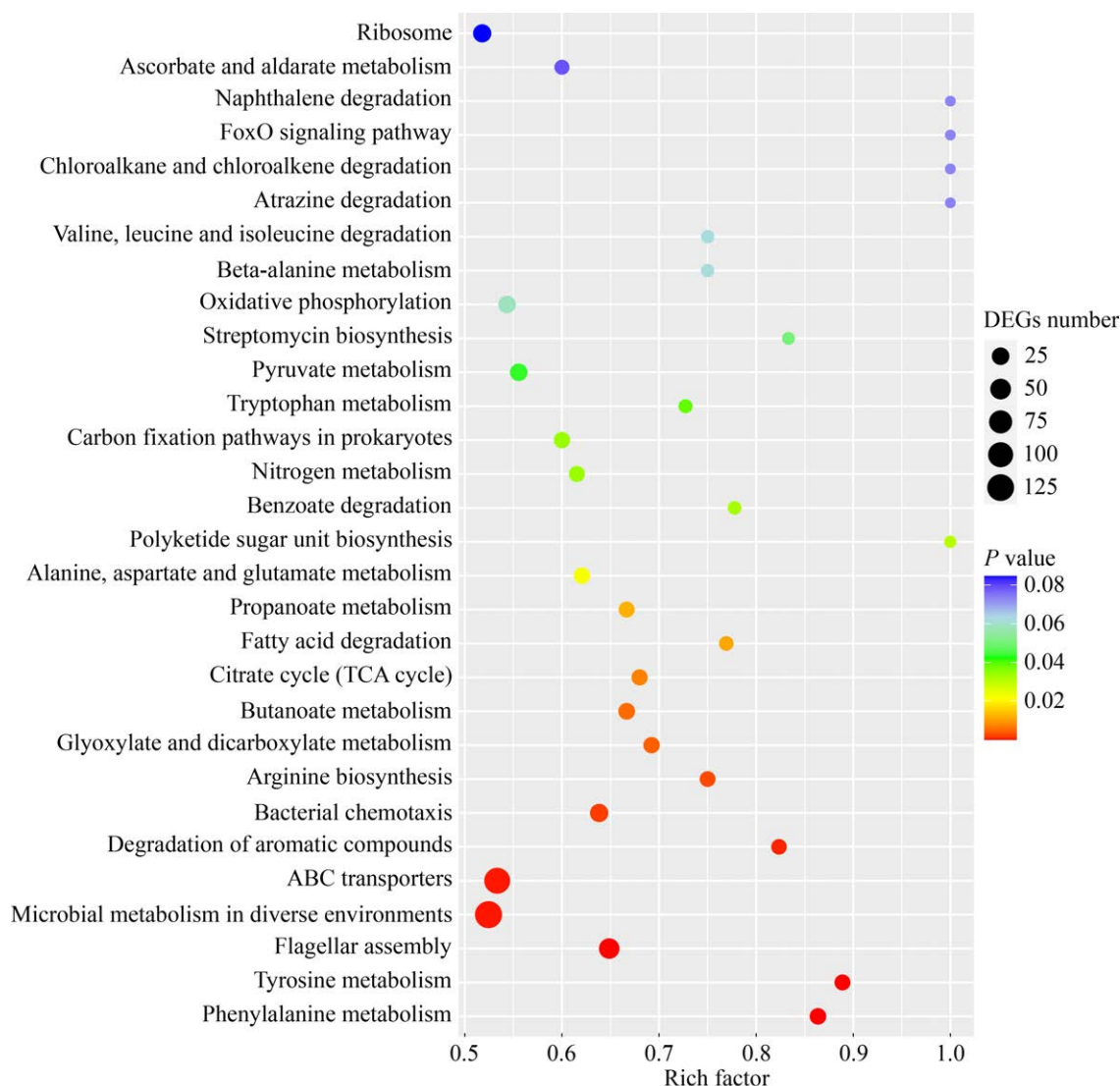


图7 差异表达基因 KEGG 富集气泡图

Figure 7 Bubble diagram for KEGG enrichment of differentially expressed genes.

### 2.5.2 菌株 BG200 对镉胁迫下水稻苗叶片生化指标的影响

对水稻苗叶片生理指标进行测定,结果如表6所示。相较于对照组,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下,水稻苗叶片中可溶性蛋白含量、抗氧化酶(CAT、SOD、POD)的活性显著降低,可溶性糖含量显著上升,Pro 含量和活性氧( $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^-$ )、MDA 含量显著上升,说明随  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的增加,水稻苗受到的损伤加剧,使其抗氧化能力显著降低,加重细胞膜脂过氧化程度。添加 BG200 菌

悬液可显著调节水稻苗叶片生化指标,显著减缓了  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫所导致的可溶性蛋白质含量的降低( $P < 0.05$ ),提升了抗氧化酶系的活性( $P < 0.05$ ),降低了 ROS 的过度积累( $P < 0.05$ ),从而缓解了镉胁迫对水稻苗带来的伤害。

### 2.5.3 菌株 BG200 对镉胁迫条件下水稻苗及营养液中镉含量的影响

测定水稻苗地上部(茎和叶)、地下部(根)和营养液中的镉含量,结果如表7所示。添加 BG200 菌悬液,显著抑制了水稻苗对镉的吸收,

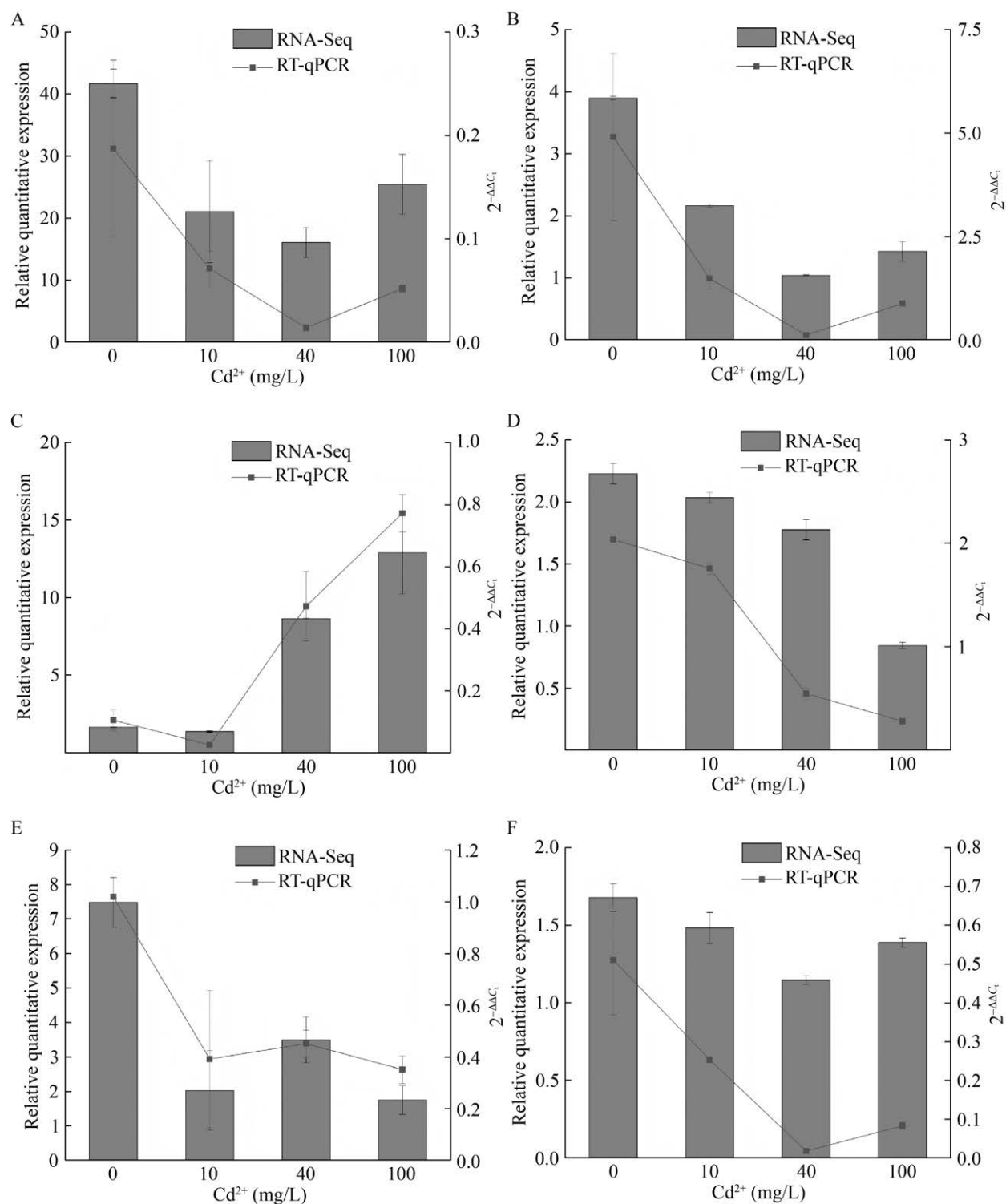


图 8 差异基因 *RaiA* (A)、*McbA* (B)、*ribB* (C)、*RpoS* (D)、*CpxP* (E)、*OmpX* (F)在 RNA-Seq 和 RT-qPCR 中的表达量

Figure 8 Expression levels of differential genes of *RaiA* (A), *McbA* (B), *ribB* (C), *RpoS* (D), *CpxP* (E), *OmpX* (F) during the RNA-Seq and RT-qPCR.

表 5 菌株 BG200 对镉胁迫水稻苗生长性能的影响

Table 5 Effects of strain BG200 on the growth of rice seedlings under different concentrations of Cd<sup>2+</sup>

| 组别 Group | 萌发率                  | 根长               | 株高                | 干重                     | 叶绿素 Chlorophyll |             |
|----------|----------------------|------------------|-------------------|------------------------|-----------------|-------------|
|          | Germination rate (%) | Root length (cm) | Plant height (cm) | Dry weight per pot (g) | Chla (mg/g)     | Chlb (mg/g) |
| Cd0-CK   | 0.80±0.08ab          | 9.86±0.16a       | 19.83±0.85a       | 0.56±0.01a             | 1.46±0.14b      | 0.54±0.04bc |
| Cd0-BG   | 0.80±0.10ab          | 8.90±0.52a       | 18.73±0.50a       | 0.54±0.07a             | 1.90±0.16a      | 0.84±0.04a  |
| Cd10-CK  | 0.75±0.01ab          | 2.70±0.89c       | 6.63±0.21c        | 0.29±0.05b             | 0.47±0.16d      | 0.27±0.18d  |
| Cd10-BG  | 0.85±0.05a           | 4.20±1.23b       | 8.27±1.26b        | 0.32±0.02b             | 1.48±0.23b      | 0.71±0.19ab |
| Cd25-CK  | 0.70±0.05b           | 2.40±0.17c       | 5.37±0.55c        | 0.26±0.08b             | 0.60±0.10cd     | 0.31±0.03d  |
| Cd25-BG  | 0.77±0.03ab          | 2.97±0.68bc      | 8.30±0.69b        | 0.31±0.03b             | 0.78±0.15c      | 0.38±0.12cd |

同一列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ). The same below.

表 6 菌株 BG200 对镉胁迫水稻苗叶片渗透调节物质、抗氧化酶活性、活性氧、MDA 的影响

Table 6 Effects of strain BG200 on osmoregulatory substances, reactive oxygen species, MDA, and antioxidant enzyme activities in leaves of rice seedlings at different concentrations of Cd<sup>2+</sup>

| 指标 Index                               | Cd0-CK        | Cd0-BG        | Cd10-CK       | Cd10-BG       | Cd25-CK      | Cd25-BG       |
|----------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| 渗透调节物质<br>Osmotic regulator            |               |               |               |               |              |               |
| 可溶性糖<br>Soluble sugar (mg/g)           | 15.22±2.80d   | 18.35±2.68b   | 17.52±0.16bc  | 21.06±3.63a   | 15.97±2.82cd | 16.86±1.07bcd |
| 可溶性蛋白<br>Soluble protein (mg/g)        | 4.59±0.04ab   | 4.73±0.04a    | 4.13±0.15c    | 4.43±0.09b    | 3.58±0.18e   | 3.82±0.10d    |
| 脯氨酸<br>Proline (μg/g)                  | 16.63±1.19d   | 13.73±0.88e   | 26.01±1.01c   | 24.36±0.84c   | 36.03±2.83a  | 32.58±0.59b   |
| 抗氧化酶活性<br>Antioxidant enzyme activity  |               |               |               |               |              |               |
| SOD (U/g)                              | 805.28±20.97b | 876.58±27.26a | 599.77±29.35d | 810.50±23.06b | 557.80±2.09e | 709.80±13.61c |
| POD (U/g)                              | 768.96±5.76b  | 786.24±8.64a  | 720.00±7.20c  | 758.88±7.20b  | 692.64±1.44e | 705.60±4.32d  |
| CAT (U/g)                              | 195.12±8.13c  | 209.34±6.09b  | 176.50±2.35d  | 239.83±4.06a  | 150.41±8.13e | 168.69±2.03d  |
| 活性氧 Active oxygen                      |               |               |               |               |              |               |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mmol/g) | 0.30±0.02b    | 0.33±0.06b    | 0.35±0.03ab   | 0.23±0.03c    | 0.39±0.06a   | 0.33±0.01b    |
| O <sup>2-</sup> (μg/g)                 | 5.13±0.01d    | 4.17±0.05e    | 6.49±0.03c    | 5.17±0.03d    | 8.30±0.06a   | 7.36±0.13b    |
| MDA (μmol/g)                           | 0.13±0.00c    | 0.09±0.00f    | 0.14±0.00b    | 0.10±0.00e    | 0.15±0.00a   | 0.11±0.00d    |

表 7 菌株 BG200 对镉胁迫下水稻苗及营养液中镉含量的影响

Table 7 Effects of strain BG200 on cadmium contents in rice seedlings and nutrient solution at different concentrations of Cd<sup>2+</sup>

| 组别 Group | 地上部 Cd 含量<br>Above ground Cd content (mg/kg) | 地下部 Cd 含量<br>Underground Cd content (mg/kg) | 迁移系数<br>Transfer coefficient | 营养液 Cd 含量<br>Cd content in nutrient solution (mg/L) |
|----------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Cd10-CK  | 0.26±0.03c                                   | 1.90±0.07c                                  | 0.14±0.23a                   | 0.007 9±0.000 0b                                    |
| Cd10-BG  | 0.12±0.01d                                   | 1.14±0.35d                                  | 0.11±0.01b                   | 0.004 8±0.000 0c                                    |
| Cd25-CK  | 0.38±0.02a                                   | 2.64±0.01a                                  | 0.14±0.01a                   | 0.012 5±0.000 0a                                    |
| Cd25-BG  | 0.22±0.01b                                   | 2.16±0.07b                                  | 0.10±0.00b                   | 0.008 0±0.000 0b                                    |

水稻苗地上部和地下部镉含量都显著降低,相较于对照组, Cd10-BG、Cd20-BG 地上部分镉含量降幅分别为 53.8%、42.1%,地下部分镉含量降幅分别为 40.0%、18.2%。镉迁移系数也降低,表明菌株 BG200 不仅抑制水稻苗根系对培养液中镉的吸收,同时抑制了水稻苗将镉从根部向地上部分的转运。研究进一步发现, 25 d 培养结束后,添加了 BG200 菌悬液培养体系的营养液中镉含量均显著降低。

### 3 讨论

灰褐牛肝菌是天然富镉的大型真菌,同时镉对活性机体具有生理毒性,所以灰褐牛肝菌必然有一定的生物抗镉策略,帮助其在低镉生境中活化镉、转运镉,并且减缓富集到机体中的镉机体的生理损伤<sup>[16]</sup>。本文中分离筛选获得的灰褐牛肝菌共生细菌霍氏肠杆菌 BG200 不仅镉抗性能较高,并且能吸附清除液体体系中的  $\text{Cd}^{2+}$ 。在镉胁迫环境中,菌株 BG200 显著上调与产能途径相关基因的表达以增强其应对镉的耐受性。如与能量代谢有关的细胞色素氧化酶相关的基因 *CydA*、*CydX*、*CydB* 表达显著上调,细胞色素酶可参与多种次级代谢物合成的酶,可参与细胞能量代谢、逆境胁迫的调节等多种生物学过程<sup>[17]</sup>。组氨酸氨解酶 *HutH* 降解组氨酸氨基生成尿刊酸,尿刊酸水合酶 *HutU* 将其转化为咪唑-4-酮-5-丙酸(imidazolone propionate, IP),最后生成亚胺甲基谷氨酸(formiminoglutamate, FIG)。细菌再通过代谢 FIG 生成谷氨酸盐,谷氨酸盐可进一步代谢成碳源为细胞供能<sup>[18]</sup>。本研究中,镉的胁迫使菌株 BG200 中组氨酸代谢相关的基因 *HutH*、*HutU* 表达上调(表 4)。此外,镉胁迫下,菌株 BG200 细胞中与精氨酸合成相关的乙酰谷氨酸激酶基因 *argB*、氨基甲酰转移酶基因 *argF* 的表达上调(表 4),精氨酸作为多胺的前体,精氨酸的代谢可产生渗透调节物质,缓解镉胁迫引起的渗透压失衡。Huang 等<sup>[19]</sup>发现镉胁迫下芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) LB002

通过调节参与氨基酸合成、代谢和柠檬酸循环代谢相关基因 *argH*、*argF*、*gabT*、*HutH* 的高表达,为碳酸钙的形成提供了碱性环境和必要的碳酸根离子,碳酸钙可以固定  $\text{Cd}^{2+}$ ,从而降低其毒性。本研究与文献报道具有一致性。

一般来讲,活体细胞在镉胁迫下会产生大量 ROS 并造成氧化损伤,细胞可通过上调抗氧化酶系相关基因的表达,清除 Cd 诱导的活性氧自由基。本研究中, *sodA*、*sodB* (超氧化物歧化酶)、氧化还原酶、*katE* (过氧化氢酶)、有机氢过氧化物等抗性蛋白基因表达上调,可能是菌株增强抗氧化酶的产生达到清除体内过量 ROS,修复 Cd 胁迫诱导的细胞损伤。Kerdsomboon 等<sup>[20]</sup>研究发现在 Cd 胁迫下,编码 Cu/Zn 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶基因表达上调,增强了南通铜弧菌(*Cupriavidus nantongensis*) E324 镉抗性。Xu 等<sup>[21]</sup>研究发现侧耳属(*Pleurotus*)真菌上调 CAT、SOD 相关基因的表达,以抵御镉胁迫造成的氧化损伤。

菌株 BG200 受镉胁迫时多种转录因子表达上调,其中包含 MarR 多重抗生素耐药性转录因子、超氧化物反应转录调节因子 SoxS、外排泵 MerR 家族转录调节因子等。转录因子能在逆境条件下将信号传导并放大,通过调节胁迫相关基因的表达,使生物体在逆境条件下产生相应的生理生化反应。郭书巧等<sup>[22]</sup>研究表明细菌应对氧化胁迫时,会刺激 SoxR 由还原态(失活)向氧化态(活化)转化,进而诱导 SoxS 基因表达,增强细胞的抗氧化胁迫能力,使细胞抵抗超氧阴离子、一氧化氮的能力增强。也有研究表明 P 型 ATP 酶是由 MerR 家族调控子对细胞内重金属浓度产生的响应从而进行调节<sup>[23]</sup>。因此,菌株 BG200 可能通过相关转录因子基因的表达上调提高对镉的耐受性。

$\text{Cd}^{2+}$ 作为细菌体内非必要的元素,可能借助其他金属转运体系进入菌株 BG200 体内。转录组结果显示,主要异化子超家族(major facilitator superfamily, MFS)转运体、ATP 结合



蛋白中的基因 *SitB*、铁-肠杆菌素 ABC 转运体 ATP 结合蛋白基因 *fepC* 表达上调(表 4)。ABC 转运体是机体抵抗致病因素及药物攻击的关键,尤其是让金属离子以离子/复合物的方式在细胞膜上传输,进而维持金属离子的动态稳定<sup>[24]</sup>。有研究发现,在  $\text{Cu}^{2+}$  胁迫下,根内球囊霉(*Glomus intraradices*)中的 *GintABC1* 表达上调,说明  $\text{Cu}^{2+}$  可诱导 ABC 转运体 *GintABC1* 的表达<sup>[25]</sup>。ZIP 家族成员广泛存在于各种真核生物中,能转运锌、铁、镍、镉等金属离子<sup>[26]</sup>。本研究中,与锌 ABC 转运体底物结合蛋白基因 *ZunA*、*ZunB*、*ZunC* 和亚铁转运体 *feoA* 表达上调。邵波等<sup>[27]</sup>研究表明 PC-3 细胞中锌转运体家族基因 *ZnT-1* 在 Cd 胁迫下被诱导表达,镉对锌转运体的调节作用会对细胞内、外锌稳态造成影响。职帅等<sup>[28]</sup>研究发现水稻锌铁转运蛋白基因 *OsZIP5* 和 *OsZIP9* 同时受镉胁迫的诱导表达,具备  $\text{Cd}^{2+}$  转运活性。

微生物可通过对重金属的吸附、外排、转化等机制提高其对重金属的抗性,而主动外排是最通用的抗性机制之一<sup>[29]</sup>。本研究中,菌株 BG200 在镉胁迫下,外排转运体(proteobacterial antimicrobial compound efflux, PACE)、MFS 外排转运蛋白基因 *GIPT*、MarA-MDR 外排泵 AcrAB 转录激活因子基因 *MarA* 表达上调,可能是菌体内 Cd 积累到某一水平后,通过外排转运体将 Cd 转运到胞外以降低镉损伤。Alquethamy 等<sup>[30]</sup>研究报道了鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)的 CzcCBA 重金属外排系统提供了从胞质-周质-胞外转运通路参与镉的转运过程。

本研究中菌株 BG200 菌悬液可显著提升镉胁迫环境下水稻种子的萌发率,增加水稻苗根长、株高、干重和叶片中叶绿素含量,与饶文华等<sup>[31]</sup>利用苏云芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)提高镉胁迫下水稻萌发及叶绿素含量的结果一致。于方明等<sup>[32]</sup>发现肠杆菌(*Enterobacter* sp.) FM-1 可通过分泌吡啶乙酸和铁载体促进镉胁迫

下积雪草生长。此外,已报道的霍氏肠杆菌 FY<sup>[33]</sup>可作为果蝇肠道有益共生菌,通过定殖于果蝇肠道中显著促进果蝇发育并提高果蝇生长速率。

在逆境条件下,植物通过可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸等渗透调节物质,协同调控细胞内水分和渗透势,维持其正常生长<sup>[34]</sup>。镉进入植物体内会引起氧化应激反应,并产生大量 ROS,这些 ROS 与不饱和脂肪酸发生反应,产生 MDA 等脂质过氧化物<sup>[35-36]</sup>。植物通过启动自身抗氧化酶体系,如抗氧化酶(CAT、POD、SOD)和抗氧化剂的活性,及时清除活性氧,缓解或消除 Cd 的毒害<sup>[37-38]</sup>。本研究中菌株 BG200 减缓了镉胁迫下水稻苗叶片中可溶性蛋白含量的降低和 Pro 含量的升高。这与董芮萌等<sup>[39]</sup>对碱蓬内生菌高 Y1-1 的研究结果相一致。但 Thanwisai 等<sup>[40]</sup>研究发现 *Colonized taiwanensis* KCU2500-3 可通过进一步提高水稻 Pro 含量以抵御 Cd 毒害作用。这可能是菌株 BG200 能降低水稻对镉的吸收,直接缓解重金属镉对水稻造成的损伤,使水稻植株不需要通过合成大量 Pro 来维持细胞渗透压的相对稳定。菌株 BG200 显著降低了镉胁迫水稻苗中 ROS 及 MDA 的积累,显著增加抗氧化酶活性。Ali 等<sup>[41]</sup>研究发现,芽孢杆菌提高水稻植株体内抗氧化酶活性以抵抗 Cd 胁迫。在钠胁迫下,棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*) T246 提高抗氧化酶活性以减少 ROS 积累,从而增强自身耐盐性<sup>[42]</sup>。

本研究中分离菌株 BG200 显著降低了 Cd 胁迫下水稻苗地上和地下部分中总 Cd 含量,也显著降低了 Cd 迁移系数和营养液中 Cd 含量。可能是菌株定殖于水稻根部细胞后,自身对 Cd 有较高的固定和吸附能力,不仅降低了水稻根部对 Cd 的吸收和转运,同时也固化降低了培养液中游离 Cd 的赋存,从而,缓解 Cd 损伤后通过增加水稻生物量使植株中 Cd 分布产生稀释效应,这也可能是菌株 BG200 能直接缓解 Cd 对水稻的氧化损伤的原因。Wang 等<sup>[43]</sup>研究发现

伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia* sp.) Y4 定殖于水稻根系表面, 并通过生物吸附积累更多的 Cd, 降低根际有效态 Cd 含量从而减少 Cd 在水稻中的积累。巨型芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) H3 和新根瘤菌(*Neorhizobium huautlense*) T1-17 能提高 Cd 胁迫下水稻生物量, 并将 Cd 固定在根际土壤中来减少植株体内 Cd 的积累<sup>[44]</sup>。但尚需考虑的问题是, 菌株 BG200 是否能够在田间土壤中发挥其固镉、控镉的作用, 这就需要在未来研究中探究其是否能够在根际土壤定殖, 明确其是否能在根系密集土层进行有效的空间分布。通过文献调研发现: 接种 *Enterobacter* sp. PMB-5 能够刺激土壤菌群活性及其结构的改变, 降低土壤中 Cd 的生物可利用性, 降低植株对 Cd 的吸收<sup>[45]</sup>; 印度梨形孢(*Piriformospora indica*)可成功定殖于王草根系, 并通过促进根系分泌有机酸从而降低土壤 pH、提高土壤微生物相对丰度来改善根际土壤环境, 降低土壤有效态镉含量, 促进镉从土壤向地上部的转运<sup>[46]</sup>。因此, 本研究将在未来工作中探究菌株 BG200 在植物根系的定殖、对土壤微生物群落结构和土壤 pH 及不同镉形态的影响, 以提升菌株 BG200 的应用价值。

## 4 结论

本研究从灰褐牛肝菌中分离获得的霍氏肠杆菌 BG200 具有较高的耐镉性能, 可吸附清除液体体系中的镉离子, 还可提高镉胁迫环境中水稻的抗逆性能, 在重金属镉污染的环境治理中具有潜在的应用价值。

## 作者贡献声明

毛双倍: 方案策划、实验开展、数据获取与处理、撰写文章; 毛纯泽: 实验和数据处理; 石於嘉: 实验和数据处理; 樊雪静: 学术指导和方案策划; 庄永亮: 学术指导和经费支持; 万幸: 方案策划; 孙丽平: 项目管理、论文修改与审稿、学术指导。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明绝无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。

## REFERENCES

- [1] WANG H, JIA YF, WANG SF, ZHU HJ, WU X. Bioavailability of cadmium adsorbed on various oxides minerals to wetland plant species *Phragmites australis*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 167(1/2/3): 641-646.
- [2] ANGON PB, ISLAM MS, KC S, DAS A, ANJUM N, POUDEL A, SUCHI SA. Sources, effects and present perspectives of heavy metals contamination: soil, plants and human food chain[J]. Heliyon, 2024, 10(7): e28357.
- [3] LIN Q, HAMID Y, YANG HJ, JIANG JF, SHAN AQ, WANG M, HUSSAIN B, FENG Y, LI TQ, HE ZL, YANG XE. Cadmium mobility and health risk assessment in the soil-rice-human system using *in vitro* bioaccessibility and *in vivo* bioavailability assay: two year field experiment[J]. Science of The Total Environment, 2023, 867: 161564.
- [4] NIE J, WANG QM, HAN LJ, LI JS. Synergistic remediation strategies for soil contaminated with compound heavy metals and organic pollutants[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024, 12(4): 113145.
- [5] HUANG MY, SHEN SL, MENG Z, SI GZ, WU XN, FENG TT, LIU CE, CHEN JQ, DUAN CQ. Mechanisms involved in the sequestration and resistance of cadmium for a plant-associated *Pseudomonas* strain[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 266: 115527.
- [6] YANG SD, LIU HW, XIE PH, WEN T, SHEN QR, YUAN J. Emerging pathways for engineering the rhizosphere microbiome for optimal plant health[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(11): 4441-4449.
- [7] WANG Y, WANG XT, LAN WQ, WEI YM, XU F, XU H. Impacts and tolerance responses of *Coprinus comatus* and *Pleurotus cornucopiae* on cadmium contaminated soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 211: 111929.
- [8] SUN LP, CHANG WD, BAO CJ, ZHUANG YL. Metal contents, bioaccumulation, and health risk assessment in wild edible Boletaceae mushrooms[J]. Journal of Food Science, 2017, 82(6): 1500-1508.
- [9] 赵迎春, 鲍长俊, 孙丽平. 云南省不同产地灰褐牛肝菌矿质元素含量测定及相关性分析[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2017, 26(5): 349-354.  
ZHAO YC, BAO CJ, SUN LP. Determination and analysis of mineral elements in *Boletus griseus* from different places of Yunnan province[J]. Journal of Yunnan Minzu University (Natural Sciences Edition), 2017, 26(5): 349-354 (in Chinese).
- [10] 相凯文, 李丹丹, 郭自春, 任宗玲, 田慎重, 高磊, 彭新华, 蔡燕飞. 一株高产吡啶乙酸促生菌的筛选鉴定、条件优化、应用效果及其代谢途径[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2599-2612.

- XIANG KW, LI DD, GUO ZC, REN ZL, TIAN SZ, GAO L, PENG XH, CAI YF. A high IAA-producing bacterial strain with plant growth-promoting effect: screening, identification, culture condition optimization, application, and genome-wide analysis[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2599-2612 (in Chinese).
- [11] XU JG, HU HX, HAN BZ, CHEN JY. Interactions between *Salmonella* Enteritidis and food processing facility isolate *Bacillus paramycoides* B5 in dual-species biofilms[J]. LWT, 2022, 156: 113053.
- [12] 王波, 张然然, 杨如意, 石晓菁, 苏楠楠, 朱濛, 胥树婷. 外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(12): 2710-2718.
- WANG B, ZHANG RR, YANG RY, SHI XJ, SU NN, ZHU M, ZAN ST. Effect of exogenous selenium(Se) and Se-tolerant bacterium on the growth, physiology, and Se and cadmium(Cd) accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown under Cd stress[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2020, 39(12): 2710-2718 (in Chinese).
- [13] LI HF, LIN YB, GUAN WM, CHANG JL, XU L, GUO JK, WEI GH. Biosorption of Zn(II) by live and dead cells of *Streptomyces ciscaucasicus* strain CCNWHX 72-14[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 179(1/2/3): 151-159.
- [14] 刘军生, 解修超, 罗阳兰, 邓百万, 柏秋月, 燕孟琛, 白星. 抗镉内生细菌阿耶波多氏芽孢杆菌的分离鉴定及生物学特性[J]. 生物技术通报, 2019, 35(2): 64-72.
- LIU JS, XIE XC, LUO YL, DENG BW, BAI QY, YAN MC, BAI X. Isolation, identification, and biological characteristics of a cadmium-resistant endophytic bacteria *Bacillus aryabhattai*[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(2): 64-72 (in Chinese).
- [15] 王思宇, 葛紫怡, 陈义轩, 朱晓琳, 刘赛男, 孟军. 一株霍氏肠杆菌对四环素的降解作用及其降解产物的毒性评估[J]. 微生物学报, 2024, 64(3): 826-839.
- WANG SY, GE ZY, CHEN YX, ZHU XL, LIU SN, MENG J. Biodegradation of tetracycline by an *Enterobacter hormaechei* strain and toxicity of degradation products[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(3): 826-839 (in Chinese).
- [16] WANG YN, MAO CZ, SHI YJ, FAN XJ, SUN LP, ZHUANG YL. Transcriptome analysis of the response of *Hypomyces chrysospermus* to cadmium stress[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 990693.
- [17] BENDER RA. Regulation of the histidine utilization (hut) system in bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2012, 76(3): 565-584.
- [18] MAGASANI B, BOWSER HR. The degradation of histidine by *Aerobacter aerogenes*[J]. Journal of Biological Chemistry, 1955, 213(2): 571-580.
- [19] HUANG SS, LIU RL, SUN ML, LI XF, GUAN Y, LIAN B. Transcriptome expression analysis of the gene regulation mechanism of bacterial mineralization tolerance to high concentrations of Cd<sup>2+</sup>[J]. Science of The Total Environment, 2022, 806: 150911.
- [20] KERDSOMBOON K, TECHO T, MHUANTONG W, LIMCHAROENSUK T, LUANGKAMCHORN ST, LAOBURIN P, AUESUKAREE C. Genomic and transcriptomic analyses reveal insights into cadmium resistance mechanisms of *Cupriavidus nantongensis* strain E324[J]. Science of The Total Environment, 2024, 952: 175915.
- [21] XU F, CHEN P, LI H, QIAO SY, WANG JX, WANG Y, WANG XT, WU BH, LIU HK, WANG C, XU H. Comparative transcriptome analysis reveals the differential response to cadmium stress of two *Pleurotus* fungi: *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus ostreatus*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 125814.
- [22] 郭书巧, 徐鹏, 倪万潮. 细菌的氧化应激及基因表达调控[J]. 生物技术通报, 2008, 24(4): 5-8.
- GUO SQ, XU P, NI WC. Redox sensing and expression regulation of antioxidant genes of bacteria[J]. Biotechnology Bulletin, 2008, 24(4): 5-8 (in Chinese).
- [23] 邓旭, 黄慧炜, 梁彩柳, 刘冰. 一株海洋细菌高汞抗性 & 高富集能力的分析[J]. 深圳大学学报(理工版), 2016, 33(6): 551-557.
- DENG X, HUANG HW, LIANG CL, LIU B. Analysis of a marine bacterium with high mercury resistance and bioaccumulation capacity[J]. Journal of Shenzhen University (Science and Engineering), 2016, 33(6): 551-557 (in Chinese).
- [24] DO THT, MARTINOIA E, LEE Y. Functions of ABC transporters in plant growth and development[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2018, 41: 32-38.
- [25] GONZÁLEZ-GUERRERO M, BENABDELLAH K, VALDERAS A, AZCÓN-AGUILAR C, FERROL N. GintABC1 encodes a putative ABC transporter of the MRP subfamily induced by Cu, Cd, and oxidative stress in *Glomus intraradices*[J]. Mycorrhiza, 2010, 20(2): 137-146.
- [26] BASHIR K, RASHEED S, KOBAYASHI T, SEKI M, NISHIZAWA NK. Regulating subcellular metal homeostasis: the key to crop improvement[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1192.
- [27] 邵波, 常秀丽, 金泰虞, 周袁芬. 镉诱导 PC-3 细胞金属硫蛋白和锌转运体的基因表达[J]. 环境与职业医学, 2006, 23(1): 21-23.
- SHAO B, CHANG XL, JIN TY, ZHOU YF. Metallothionein and zinc transporter gene expression in human prostate cancer cells exposed to cadmium[J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2006, 23(1): 21-23 (in Chinese).
- [28] 职帅, 李畅, 陈景光, 赵鹏, 叶国友. 锌铁转运蛋白基因 OsZIP5 和 OsZIP9 参与水稻 Zn<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 的吸收和转运[J]. 分子植物育种, 2021, 19(1): 137-148.
- ZHI S, LI C, CHEN JG, ZHAO P, YE GY. Zinc-iron transporter genes OsZIP5 and OsZIP9 are involved in the uptake and transport of Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> in rice[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(1): 137-148 (in Chinese).
- [29] 文雅, 冷艳, 李师翁. 微生物重金属耐受性及其机制的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2020, 43(9): 79-86.
- WEN Y, LENG Y, LI SW. Research progress on microbial tolerance to heavy metals and its mechanisms[J]. Environmental Science & Technology, 2020, 43(9): 79-86 (in Chinese).
- [30] ALQUETHAMY SF, ADAMS FG, MAHARJAN R, DELGADO NN, ZANG MG, GANIO K, PATON JC, HASSAN KA, PAULSEN IT, McDEVITT CA, CAIN AK, EIJKELKAMP BA. The molecular basis of *Acinetobacter baumannii* cadmium toxicity and resistance[J]. Applied and Environmental Microbiology,

- 2021, 87(22): e0171821.
- [31] 饶文华, 李澜, 吴薇, 陈锦灿, 潘晓鸿. 苏云金芽胞杆菌对镉胁迫下水稻种苗生长发育的影响[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(11): 1458-1464.
- RAO WH, LI L, WU W, CHEN JC, PAN XH. Effects of *Bacillus thuringiensis* on the growth parameters of rice (*Oryza sativa*) seedlings under the cadmium stress[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2015, 23(11): 1458-1464 (in Chinese).
- [32] 于方明, 余秋平, 刘可慧, 王洋, 周振明, 陈朝述, 李艺. 肠杆菌 FM-1 强化积雪草修复镉污染土壤机理[J]. 中国环境科学, 2018, 38(12): 4625-4630.
- YU FM, YU QP, LIU KH, WANG Y, ZHOU ZM, CHEN CS, LI Y. Improvement of cadmium-contaminated soil phytoremediation by *Centella asiatica* L. through bioaugmentation of *Enterobacter* sp. FM-1[J]. China Environmental Science, 2018, 38(12): 4625-4630 (in Chinese).
- [33] 康茹雪, 李耀星, 白倩, 高艳萍, 刘威. 霍氏肠杆菌对黑腹果蝇生长和发育的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4010-4020.
- KANG RX, LI YX, BAI Q, GAO YP, LIU W. *Enterobacter hormaechei* promotes the growth and development of *Drosophila melanogaster*[J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 4010-4020 (in Chinese).
- [34] HOSSAIN MA, PIYATIDA P, Da SILVA JAT, FUJITA M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation[J]. Journal of Botany, 2012, 2012(1): 872875.
- [35] TORABI FARSANI A, ARABI M, SHADKHAH M. Ecotoxicity of chlorpyrifos on earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826): modifications in oxidative biomarkers[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2021, 249: 109145.
- [36] LIU LY, CHEN H, YUAN J, WANG YX, WENG BQ, LIU PH, LI GX. Effects of cadmium stress on physiological indexes and fruiting body nutritions of *Agaricus brasiliensis*[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 8653.
- [37] 史静, 潘根兴, 夏运生, 张仕颖, 张乃明. 镉胁迫对两品种水稻生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 生态环境学报, 2013, 22(5): 832-837.
- SHI J, PAN GX, XIA YS, ZHANG SY, ZHANG NM. Effects of Cd on different rice growth and antioxidant enzyme system[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2013, 22(5): 832-837 (in Chinese).
- [38] LIN XY, MOU RX, CAO ZY, XU P, WU XL, ZHU ZW, CHEN MX. Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains[J]. Science of The Total Environment, 2016, 569: 97-104.
- [39] 董芮萌, 王佳瑶, 朱梦卓, 赵晓妍, 朱淼, 汪雅楠, 王泽, 马莲菊. 内生菌对镉和盐单一及复合胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(19): 31-34, 37.
- DONG RM, WANG JY, ZHU MZ, ZHAO XY, ZHU M, WANG YN, WANG Z, MA LJ. Effects of endophytes on growth and physiological characteristics of rice seedlings under single and combined stresses of cadmium and salt[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(19): 31-34, 37 (in Chinese).
- [40] THANWISAI L, KIM TRAN HT, SIRIPORNADULSIL W, SIRIPORNADULSIL S. A cadmium-tolerant endophytic bacterium reduces oxidative stress and Cd uptake in KDML105 rice seedlings by inducing glutathione reductase-related activity and increasing the proline content[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 192: 72-86.
- [41] ALI Q, AYAZ M, YU CJ, WANG YJ, GU Q, WU HJ, GAO XW. Cadmium tolerant microbial strains possess different mechanisms for cadmium biosorption and immobilization in rice seedlings[J]. Chemosphere, 2022, 303: 135206.
- [42] 唐家全, 郝大志, 李婷婷, 张慧, 陈捷. 棘孢木霉菌对钠胁迫的生理响应机制[J]. 微生物学通报, 2021, 48(1): 23-34.
- TANG JQ, HAO DZ, LI TT, ZHANG H, CHEN J. Physiological response of *Trichoderma asperellum* to Na<sup>+</sup> stress[J]. Microbiology China, 2021, 48(1): 23-34 (in Chinese).
- [43] WANG CR, HUANG YC, YANG XR, XUE WJ, ZHANG X, ZHANG YH, PANG J, LIU YM, LIU ZQ. *Burkholderia* sp. Y4 inhibits cadmium accumulation in rice by increasing essential nutrient uptake and preferentially absorbing cadmium[J]. Chemosphere, 2020, 252: 126603.
- [44] LI Y, PANG HD, HE LY, WANG Q, SHENG XF. Cd immobilization and reduced tissue Cd accumulation of rice (*Oryza sativa* Wuyun-23) in the presence of heavy metal-resistant bacteria[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 138: 56-63.
- [45] HUANG HY, LEI L, SHANGGUAN YX, JIAN JN, DAI JT, WANG Y, XU H, LIU HK. Comprehensive bioremediation effect of phosphorus-mineralized bacterium *Enterobacter* sp. PMB-5 on cadmium contaminated soil-crop system[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 470: 134227.
- [46] ZHANG KL, ZHANG HX, XIE C, ZHU ZQ, LIN L, AN QL, ZHANG X, WU WD, LI D. *Piriformospora indica* colonization enhances remediation of cadmium and chromium co-contaminated soils by king grass through plant growth promotion and rhizosphere microecological regulation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 462: 132728.