

刘少芳, 占梦婷, 黄雨珊, 等. *Enterobacter* sp. 菌株的耐锰特性及表征[J]. 中国沙漠, 2024, 44(6): 299-306.

## *Enterobacter* sp. 菌株的耐锰特性及表征

刘少芳<sup>1,2</sup>, 占梦婷<sup>1</sup>, 黄雨珊<sup>1</sup>, 陈敏贤<sup>1</sup>, 蔡霓<sup>3</sup>, 胡志宏<sup>1</sup>, 江雪<sup>1</sup>

(1. 江西科技师范大学 天然微生物药物研究江西省重点实验室/南昌市微生物资源与代谢重点实验室, 江西 南昌 330013; 2. 东华理工大学 放射性地质与勘探技术国防重点学科实验室, 江西 南昌 330013; 3. 湖北省生物农药工程研究中心, 湖北 武汉 430064)

**摘要:** 通过富集培养的方法, 从某铀矿周边的稻田土壤中筛选出了一株表现出较强耐锰能力的细菌菌株 *Enterobacter* sp., 命名为 NM3。经过菌落形态观察、革兰氏染色以及 16S rDNA 序列分析的鉴定, 确认该细菌归于 *Enterobacter* 属。为了研究 NM3 菌株吸附  $Mn^{2+}$  的效率及相关吸附机理, 运用了原子吸收光谱、扫描电镜和傅里叶红外光谱等多种仪器进行深入分析。结果表明: 该菌株对  $Mn^{2+}$  的耐受性高达  $8\ 000\ mg\cdot L^{-1}$ 。在  $Mn^{2+}$  浓度为  $4\ 000\ mg\cdot L^{-1}$  条件下经过 60 h 反应, 去除率可达 93.3%。参与这一吸附过程的主要官能团包括羟基、烷基和酰胺基团等。进一步检测 NM3 菌株的促生特性及其对青菜富集  $Mn^{2+}$  的影响时发现, 该菌株具备产生生长素 IAA 的能力, 能够显著提升胁迫下青菜生物量 34.13%~56.09%, 并且使青菜中的  $Mn^{2+}$  含量下降 50.09%。

**关键词:** 耐锰细菌; 去除率; 植物促生; 锰吸附

文章编号: 1000-694X(2024)06-299-08

DOI: 10.7522/j.issn.1000-694X.2024.00087

中图分类号: Q935

文献标志码: A

## 0 引言

当前, 重金属污染问题在许多国家和地区引发了广泛的环境危机<sup>[1-2]</sup>。 $Mn^{2+}$  通过降雨、地表径流或坝体渗漏等方式, 对水体和土壤等环境介质造成广泛而持续的污染, 进而严重威胁人类健康和其他生物的生存<sup>[3-4]</sup>。锰污染土壤对植物的生长造成了明显的负面影响, 具体表现为植物叶片出现枯黄和坏死, 且叶片厚度减少。首先, 锰污染会影响植物对  $Ca^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  等重要营养元素的吸收和利用效率, 从而妨碍相关代谢活动的正常进行。其次, 锰污染抑制植物根系的生长以及叶面积的扩展, 最终导致植物整体生长量显著减少。此外, 锰还会抑制植物蛋白质的合成, 并破坏叶绿体的结构, 使叶绿素的合成受到抑制, 进一步降低光合作用的速率<sup>[5]</sup>。长期锰污染环境会对机体的中枢神经系统造成损害, 临床表现通常为基底神经节的局部损伤。此外, 锰浓度的失衡可能引发急性或慢性中毒, 而这种中毒可能导致严重且不可逆转的精神障碍以及

锥体外系运动功能的损伤, 症状与帕金森综合征非常相似<sup>[6]</sup>。过量摄入锰可能导致男性生殖能力的降低以及肝脏解毒能力的损害<sup>[7]</sup>。当前, 关于锰污染的探讨依然相对不足, 因而如何有效地修复受到锰污染的土壤, 已成为一个亟待解决的重大挑战。

微生物修复在治理土壤重金属污染方面扮演着重要的角色。这一修复技术主要利用微生物作为介质, 借助其分解、代谢或催化的能力, 对土壤中的污染物进行转化, 以期减轻重金属污染的影响<sup>[8]</sup>。微生物因其体积小、繁殖迅速、代谢活跃以及适应能力强等特性, 在土壤有机物及重金属等污染物的环境修复中展现出良好的应用前景, 因此逐渐成为重金属污染治理的重要研究方向<sup>[9-10]</sup>。一些细菌具备显著的耐锰和吸附锰的能力, 如芽孢杆菌 (*Bacillus* sp. SG-1)<sup>[8]</sup>、阿司肠杆菌 (*Enterobacter asburiae* HF-1)<sup>[11]</sup>、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus* HZ-1)<sup>[12]</sup>、恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida* MnB1)<sup>[13]</sup>、木糖氧化无色杆菌 (*Achromobacter xylosoxidans* M2)、黏

收稿日期: 2024-08-11; 改回日期: 2024-09-18

资助项目: 国家自然科学基金项目(32360080); 江西省自然科学基金项目(20242BAB20286); 放射性地质与勘探技术国防重点学科实验室开放基金项目(2022RGET06)

作者简介: 刘少芳(1988—), 女, 河南濮阳人, 博士, 副教授, 主要从事根际微生物诱导植物抗逆机理研究。E-mail: liushaofanghnp@163.com

通信作者: 胡志宏(E-mail: huzhihong426@163.com); 江雪(E-mail: 1395175812@qq.com)

质沙雷菌(*Serratia marcescens* M7a)<sup>[14]</sup>、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis* HM7)<sup>[15]</sup>等。不同细菌在去除锰方面的能力差异显著,去除率为70%~96%。筛选具有高耐受性和吸附能力的微生物,并深入研究其耐受性能及吸附机制,对理论研究与实际应用都具有重要的意义。

植物根际促生细菌(PGPR)是一类能够在植物根际定殖并促进植物生长的有益微生物<sup>[16]</sup>。某些PGPR具备促进植物生长和耐受锰的双重能力。耐锰的沙雷氏菌(*Serratia marcescens* A-4)通过产生铁载体和吲哚乙酸(IAA)有效促进了鸭跖草(*Commelina communis*)的生长<sup>[17]</sup>。因此,在选取具有高耐Mn<sup>2+</sup>能力和去除Mn<sup>2+</sup>功能的细菌时,植物的促生特性可作为评估这些细菌性能的重要指标。

本研究针对某铀矿周边土壤中的细菌进行了深入分析,成功分离出一株具有高耐锰特性的菌株NM3。通过对该菌株的形态特征、生理和生化特性,以及16S rDNA基因序列的分析,对其进行了详细的鉴定。此外,研究还借助扫描电子显微镜、能谱仪及红外光谱等设备,深入探讨了该菌株在吸附Mn<sup>2+</sup>后,细胞表面形态和细胞壁表面化学基团的变化。研究还初步评估了菌株NM3的Mn<sup>2+</sup>吸附效率及其相关的吸附机制。同时,通过生理生化方法对NM3的促生特性进行了研究,特别是检测了该菌株对青菜生物量和锰元素富集的影响。这些研究成果不仅为土壤中的锰污染治理提供了新的微生物资源,也为该菌株在锰污染治理中的实际应用奠定了理论基础,进而为蔬菜的安全生产提供了一定的保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

采集某铀矿周边的稻田土壤根基土后,放入无菌密封袋内。采样后,迅速将样本存放于-4℃的冰箱中,以保持其原始状态,为后续耐锰菌株的筛选提供可靠的样本。

试验使用了牛肉膏蛋白胨液体培养基、改良NBRIP溶磷培养基、King's B培养基、CAS检测培养基、2,4-二硝基酚指示剂、钼锑抗显色剂、PC比色液等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 耐锰菌株的分离及纯化

称量铀矿周边稻田根际土壤5.0 g,放入装有

45 mL无菌水的三角瓶中。为了充分混合土壤和水,在28℃、150 r·min<sup>-1</sup>下振荡30 min。将土壤浑浊液接种到含有3 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup>(化合物为MnCl<sub>2</sub>)的LB培养基中,并在28℃、200 r·min<sup>-1</sup>条件下振荡培养24 h。经过梯度稀释后,将其涂布在含有3 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup>的LB培养基平板上,挑取生长良好且具有代表性的单菌落。接种到含有3 000、4 000、6 000、8 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup>的LB培养基中。挑选在高锰浓度下生长的单菌落,划线至相应锰浓度的平板上,获得纯的、对锰耐受性较高的单菌落,并将其命名为NM3菌株。

#### 1.2.2 NM3菌株的鉴定

在LB液体培养基中对NM3菌株进行过夜培养,并对其生理生化特性进行鉴定及革兰氏染色。从离心后的沉淀物中提取高耐锰菌株的基因组DNA,使用通用引物27F(5'-AGAGTTTATCCTGGGCTCAG-3')和1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')对其16S rDNA进行PCR扩增。PCR产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果与NCBI数据库进行BLAST同源比对。利用MEGA 7.0软件中的邻接法构建系统发育树,分析耐锰菌株与其他物种的亲缘关系。

#### 1.2.3 NM3菌株对不同浓度锰离子耐受性的测定

为观察NM3菌株在不同锰浓度下的生长状况,将活化的NM3菌株加入不同初始浓度(3 000、4 000、6 000、8 000 mg·L<sup>-1</sup>)的Mn<sup>2+</sup>液体培养基中,在30℃、150 r·min<sup>-1</sup>下培养60 h,测定各个时间点的OD<sub>600</sub>,并绘制生长曲线。

#### 1.2.4 NM3菌株对锰离子去除率的测定

将耐锰菌株分别接种到200 mL含有0、4 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup>浓度的LB培养基中,在37℃、200 r·min<sup>-1</sup>条件下培养4天。每12 h取样,8 000 r·min<sup>-1</sup>离心获得菌液,并用0.22 μm过滤器过滤。滤液采用火焰原子吸收光谱法测定样品中Mn<sup>2+</sup>的含量。重复3次。根据检测结果,计算耐锰菌株对Mn<sup>2+</sup>的去除率:

$$\text{去除率}(\%) = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: $C_0$ 为培养液中Mn<sup>2+</sup>的初始浓度(mg·L<sup>-1</sup>); $C_1$ 为培养基中Mn<sup>2+</sup>的浓度(mg·L<sup>-1</sup>)。最终获得耐锰性高且去除锰能力强的菌株NM3。

#### 1.2.5 NM3菌株的扫描电镜-能谱仪(SEM-EDX)分析

耐锰菌株接种到含有4 000 mg·L<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub>的LB

培养基中,在 37 °C、200 r·min<sup>-1</sup> 条件下培养 24 h。离心后富集菌体,并使用 PBS 磷酸缓冲液清洗菌体,然后用 2.5% 戊二醛固定。接着,采用梯度乙醇溶液(30%~100%)脱水,随后将菌体置于乙醇与叔丁醇 1:1 混合液中脱水 15 min。最后,使用冷冻干燥机进行干燥处理。将少量粉末用水溶解,取少量溶液于铜网上。充分干燥后,进行喷金处理,并在扫描电子显微镜(Nova Nano SEM 450)下观察。同时,采用能量色散 X 射线显微分析(energy dispersive X-ray spectroscopy, EDX)进行能谱分析。

### 1.2.6 NM3 菌株的傅里叶变换红外光谱分析

分别离心收集在含有 0、1 000、3 000、4 000 mg·L<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub> 的 LB 培养基中培养 24 h 的耐 NM3 菌体,随后将其真空冷冻干燥成粉末。取少量粉末与溴化钾按 1:100 的比例进行压片制样。采用傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet is 50)进行 FTIR 分析。

### 1.2.7 NM3 菌株促生特性的测定

将 NM3 菌液接种到 NBRIP 溶磷培养基平板上,根据透明圈的形成情况判断供试菌株的溶磷活性。接着,采用钼锑抗分光光度计法测定供试菌株的溶磷量<sup>[18]</sup>。同时,采用 Salkowski 比色法测定供试菌株产生吲哚乙酸(IAA)的能力<sup>[19]</sup>,并利用 CAS 平板覆盖法检测菌株的铁载体能力<sup>[20]</sup>。

### 1.2.8 NM3 菌株对锰胁迫下青菜生长的影响

本研究以江西科技师范大学的草坪土壤为试验土壤(0.11 mg·kg<sup>-1</sup> 的 Mn<sup>2+</sup>、548 mg·kg<sup>-1</sup> N、8.3 mg·kg<sup>-1</sup> P 和 412 mg·kg<sup>-1</sup> K)。经过筛分处理,添加了 MnCl<sub>2</sub> 溶液,制备出含有 2 000 mg·kg<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup> 的实验用土壤,并将其分别分装至 40 个花盆中,以形成锰胁迫土壤。随后,选取 15 天生长期的均匀大小的青菜(*Brassica rapa* var. *chinensis*)幼苗,逐一移栽至上述 40 个花盆,每盆仅种植一株幼苗。3 天后,在 20 盆青菜的根际灌溉 10 mL 浓度为 1×10<sup>7</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> 的 NM3 菌液,标记为 NM3 处理组;而在另外 20 盆青菜根际灌溉等量的无菌水,标记为对照组(CK)。在植物的生长期间,适量浇水以确保植株的正常生长,经过 15 天的生长后进行收获。取出植株后,用清水彻底洗净并晾干,随后分别称量植株地上部分和根部的鲜重及干重,同时对叶绿素和 Mn<sup>2+</sup> 含量进行检测。

### 1.3 数据处理

利用 SPSS 17 软件对数据进行方差分析,并用

Duncan's 法分析不同处理间的差异,确定处理间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐锰菌株筛选

经过逐级升高 Mn<sup>2+</sup> 浓度的筛选,我们获得了一株高耐锰的菌株,菌株编码为 NM3。

### 2.2 菌株的鉴定

耐锰菌株 NM3 的菌落呈圆形,白色,表面光滑湿润(图 1)。经革兰氏染色, NM3 菌体呈红色,表明 NM3 为革兰氏阴性菌。通过测序获得了 NM3 菌株的 16S rRNA 基因序列(1 439 bp), GenBank 序列登录号为 SRR30170937。NM3 与 *Enterobacter* sp. LF7 的亲缘关系最为接近,置信度为 100%。因此, NM3 菌株被鉴定为 *Enterobacter*。

### 2.3 不同锰浓度下 NM3 菌株的生长状态

NM3 菌株在不同锰浓度下的生长 OD<sub>600</sub> 表明,随着时间的推移,在 5 个 Mn<sup>2+</sup> 浓度下, OD<sub>600</sub> 值均呈现逐渐上升的趋势(图 2)。在 3 000 mg·L<sup>-1</sup> 的 Mn<sup>2+</sup> 浓度下, NM3 的生长几乎不受影响,其生长曲线与 0 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup> 浓度时的生长曲线基本一致。然而,当 Mn<sup>2+</sup> 浓度增加到 4 000 mg·L<sup>-1</sup> 时, NM3 的生长开始受到一定程度的限制,表现在 OD<sub>600</sub> 值低于对照组的情况。值得注意的是, NM3 菌株在 8 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup> 浓度下依然能够缓慢生长,表明其对 Mn<sup>2+</sup> 的耐受能力能够达到 8 000 mg·L<sup>-1</sup>。

### 2.4 NM3 菌株的去除 Mn<sup>2+</sup> 能力

在含有 4 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup> 的 LB 培养基中,测定了 NM3 菌株在 4 天内的 Mn<sup>2+</sup> 含量,并计算了其去除率。NM3 菌株在 24~60 h,对 Mn<sup>2+</sup> 的去除率逐步提高,60 h 时达到了最高的去除率(93.3%)。在 60 h 后,去除率则趋于稳定,显示出 NM3 菌株在去除 Mn<sup>2+</sup> 方面的有效性。

### 2.5 NM3 菌株响应锰胁迫的形态变化

通过扫描电子显微镜(SEM)观察 NM3 菌株在处理 4 000 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup> 后的形态变化(图 3)。与对照组的细胞比较, Mn<sup>2+</sup> 的处理导致 NM3 细胞的形状变得更加圆润且体积增大。此外,在 NM3 细胞的表

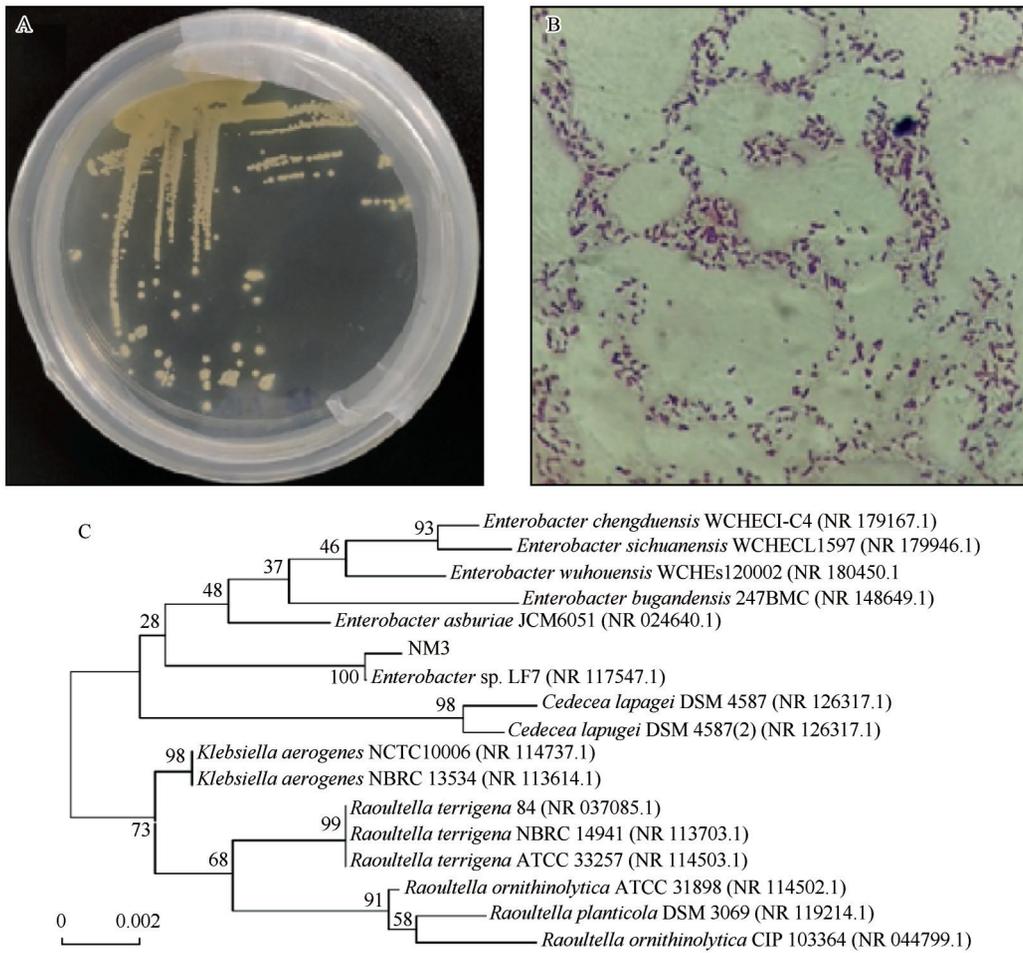


图1 NM3 菌株的菌落形态及系统发育树

Fig.1 Colony morphology and phylogenetic tree of NM3 strain

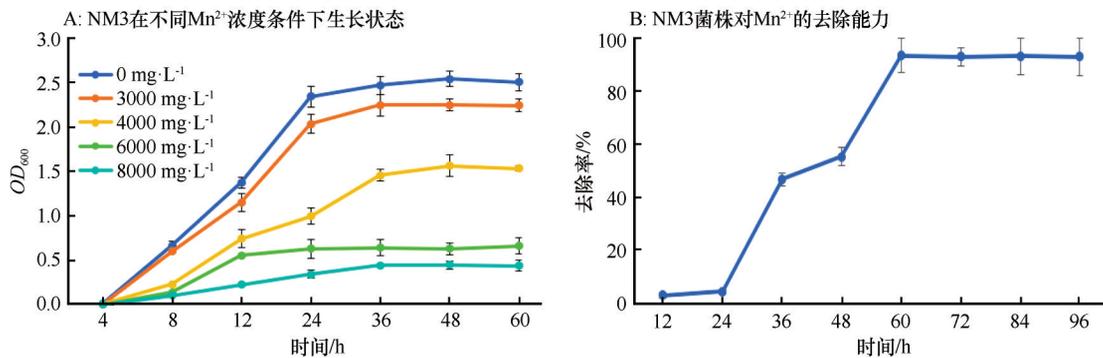


图2 NH3 菌株在锰环境下作用效果

Fig.2 Effect of NH3 strain under manganese condition

面出现了大量不明化合物的颗粒,这些颗粒覆盖在菌株的表面。我们推测这些颗粒可能是NM3菌株吸附的Mn<sup>2+</sup>。进一步的能量色散X射线光谱(EDX)检测结果验证了这一推测,显示菌株表面聚集的颗粒主要由锰元素组成。这种颗粒的聚集现象与NM3菌株对溶液中高浓度Mn<sup>2+</sup>的有效吸附能力可能存在密切的关联。

## 2.6 NM3 菌株与锰结合的官能团分析

FTIR 分析结果显示,NM3在吸附锰前后的红外光谱图峰形变化较小(图4)。在Mn<sup>2+</sup>的吸附过程中未观察到新谱峰的出现,这意味着Mn<sup>2+</sup>并未对细胞壁造成破坏。NM3的吸附主要依赖于细胞表面的一OH基团(吸收峰位于3 288.94~3 282.44 cm<sup>-1</sup>)、饱和

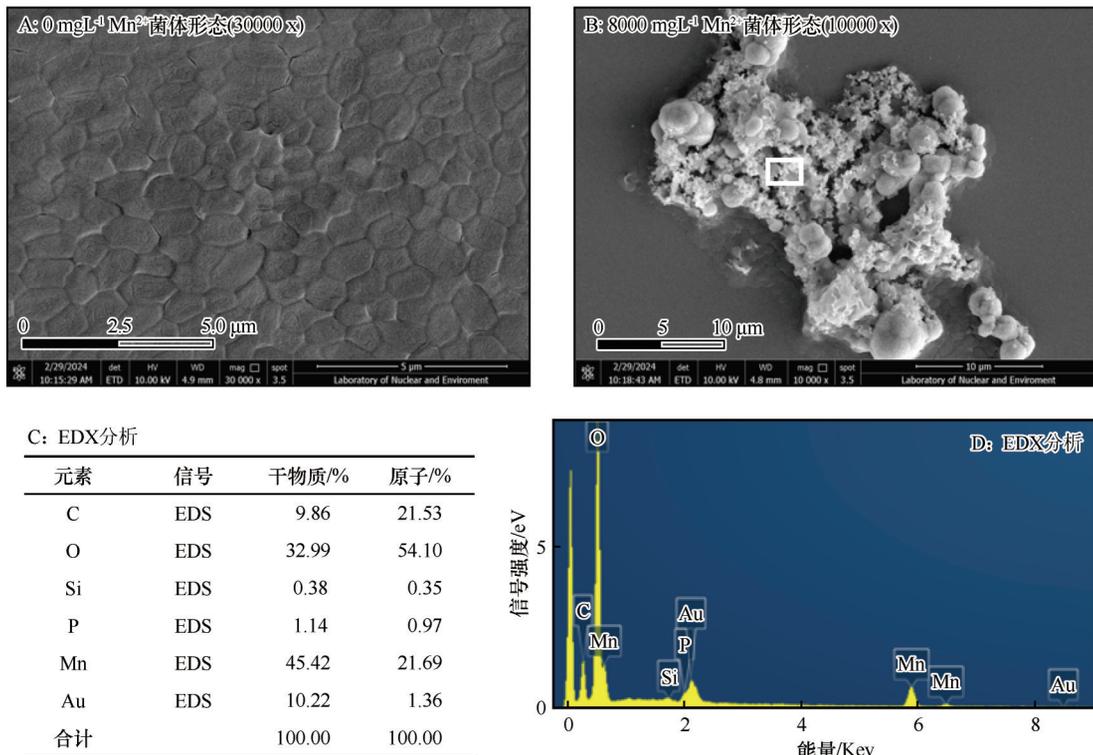


图3 锰胁迫下菌株NM3的SEM图像和EDX元素分析

Fig.3 SEM image and EDX analysis of strain NM3 under manganese stress

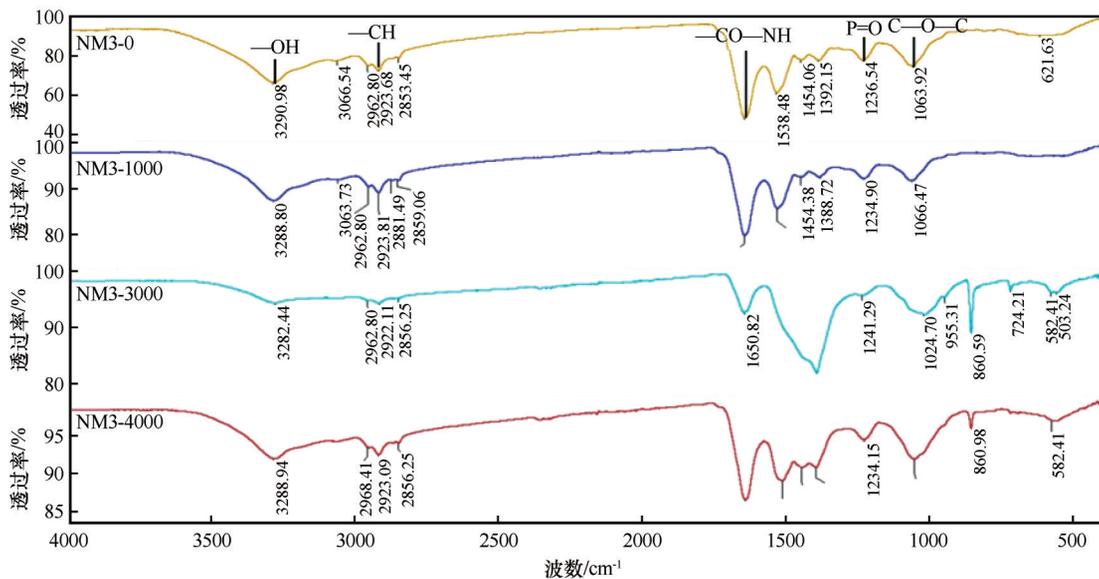


图4 傅里叶变换红外光谱分析图

Fig.4 Fourier transform infrared spectrum analysis

—CH 基团(吸收峰位于  $2\ 923.81\sim 2\ 922.11\ \text{cm}^{-1}$ )、酰胺基团(—RCONH<sub>2</sub>, 吸收峰位于  $1\ 650.82\ \text{cm}^{-1}$ )、P=O 基团(吸收峰位于  $1\ 241.70\sim 1\ 234.15\ \text{cm}^{-1}$ )以及脂肪醚的 C—O—C 键(吸收峰位于  $1\ 066.47\sim 1\ 024.70\ \text{cm}^{-1}$ )等主要成分。在采用  $4\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Mn}^{2+}$  培养的菌株中, 红外光谱图体现出轻微的变化, 特别是

波数  $3\ 282.44$ 、 $2\ 922.11$  和  $1\ 650.82$  处的峰值相较于  $0$ 、 $1\ 000$ 、 $4\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Mn}^{2+}$  时有所降低, 并且相应的吸收峰减弱, 而在波数  $1\ 454.28$  处的吸收峰则有所增强。综上所述, —OH、饱和—CH、酰胺基团(—CO—NH—)、P=O 及脂肪醚(C—O—C)这几种物质在整个  $\text{Mn}^{2+}$  的吸附过程中发挥了重要作用。

## 2.7 NM3 菌株促生能力评估

为了评估NM3是否具备促进植物生长的能力,本研究对其在产生吲哚乙酸(IAA)、溶磷以及产生铁载体方面的能力进行了检测。研究结果显示,该菌株溶磷和产生铁载体的能力较弱,但能够产生高达 $46.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吲哚乙酸代谢产物(表1),这表明该菌株有可能通过合成IAA来促进植物的生长。

## 2.8 NM3 菌株青菜生长及富集锰的影响

与没有锰胁迫的对照组相比,经NM3菌株处理的青菜展现出明显更好的生长势头。NM3菌株显著提升了青菜地上部分和根部的鲜重,分别提高了

表1 NM3 菌株促生特性

Table 1 NM3 strains

检测特性	检测结果
IAA/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$46.83 \pm 0.92$
溶磷/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.74 \pm 0.02$
铁载体/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$1.21 \pm 0.24$

49.47%和34.13%;同时,干重也分别增加了40.53%和56.09%( $P < 0.05$ ,图5)。值得注意的是,在两个试验组中,叶绿素的含量并未显示出显著差异。另外,NM3菌株处理组中青菜地上部分的锰含量为 $110.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,比对照组的 $221.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 下降了50.09%。这表明NM3菌株能够有效抑制青菜对 $\text{Mn}^{2+}$ 的富集,为无公害青菜的生产提供了有力的依据。

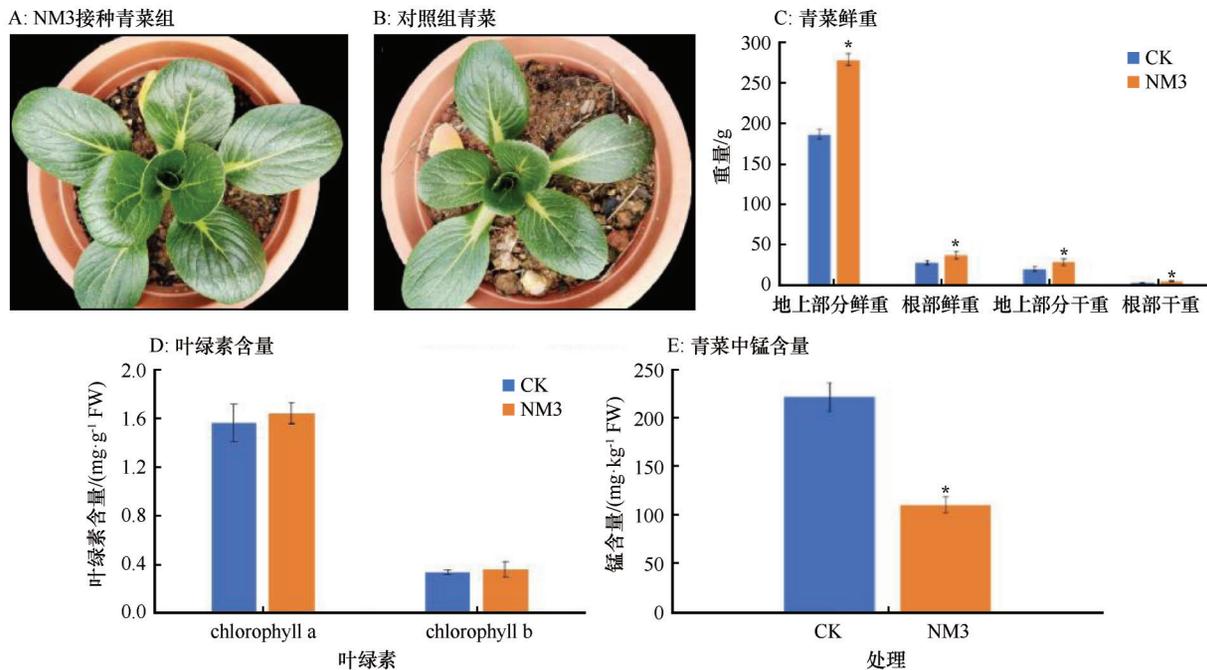


图5 NM3 菌株对青菜生长及富集锰的影响

Fig.5 Effect of NM3 strain on growth and manganese enrichment of green vegetables

## 3 讨论

筛选耐锰菌株并研究其去除锰能力对于生物方法降低锰污染具有重要的意义。目前,多种细菌已被发现具备良好的耐锰和去除锰的能力。何园园等<sup>[12]</sup>对来自张掖市临泽县东小口子铁尾矿的土壤样品进行了分析,成功分离并筛选出具备显著耐锰特性的菌株阿氏肠杆菌和短小芽孢杆菌。这两株菌株显示出对 $\text{Mn}^{2+}$ 具有高度的耐受性,其耐受程度可达 $9000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外,凌薇薇等<sup>[4]</sup>在湖南湘潭鹤岭镇的锰矿栗树恢复区土壤中筛选出8株耐锰

菌,其中耐受程度最高的80号菌能够承受 $4000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的锰。李琪等<sup>[21]</sup>则从安徽铜陵酸矿废水中筛选出1株耐锰菌,该菌株对锰的耐受程度约为 $2200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,被鉴定为多株皮氏罗尔斯顿菌。在本研究中,我们从某铀矿周边稻田根际土壤中筛选出了1株耐锰菌,即*Enterobacter* sp. NM3,其对锰的耐受能力可达到 $8000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

耐锰菌株对 $\text{Mn}^{2+}$ 的吸附性能直接影响其去除 $\text{Mn}^{2+}$ 的能力,因此在筛选耐锰菌株时,菌株对 $\text{Mn}^{2+}$ 的吸附效率成为重要的检测标准。在黄慧敏<sup>[22]</sup>的

研究中,从湖南湘潭的锰矿区筛选出了3株耐锰细菌,包括 *Bacillus cereus* HM5、*Bacillus thuringiensis* HM7 和 *Ralstonia picketti* HM8。在  $\text{Mn}^{2+}$  浓度为  $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的液体培养基中,这3株细菌对锰的去除率分别达到了 99.51%、95.04% 和 46.02%。董婕玉<sup>[23]</sup> 从锰矿废弃地中筛选出的耐锰细菌蜡样芽孢杆菌 EA-1,其对  $\text{Mn}^{2+}$  的最高吸附率达 91.96%。本研究筛选的 NM3 菌株在  $4\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Mn}^{2+}$  浓度下反应 60 h 后,去除率达到 93.3%,展现出更强的去锰能力。同时,该菌株还能生成促进植物生长的代谢产物 IAA,其产量高达  $46.83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通过对青菜进行的促生实验发现,NM3 能够使青菜的生物量增加 34.13%~56.09%,并使青菜中的锰含量降低 50.09%,从而防止青菜吸收过量的  $\text{Mn}^{2+}$ ,保障人类的健康。青菜中锰含量的降低可能是由于 NM3 在根际的定殖作用,吸附并固定  $\text{Mn}^{2+}$ ,从而减少了青菜根系对  $\text{Mn}^{2+}$  的吸收;也可能是因为 NM3 通过产生 IAA 促进了青菜的生长,使得青菜的生物量增加,导致单位体积内的  $\text{Mn}^{2+}$  浓度下降。

此外,FTIR 红外光谱分析表明,NM3 菌株能够利用其表面上的一OH、饱和—CH、酰胺基团(—CO—NH—)、P=O、脂肪醚(C—O—C)等官能团与  $\text{Mn}^{2+}$  离子结合,从而实现去除水体中  $\text{Mn}^{2+}$  的效果。需要注意的是,不同的菌株在吸附  $\text{Mn}^{2+}$  时所需的官能团可能不同,比如 *Bacillus cereus* HM-5 能够通过—OH、烷基、酰胺和磷酸基等结构吸附  $\text{Mn}^{2+}$ <sup>[24]</sup>。本研究利用扫描电镜和傅里叶红外光谱对 NM3 菌株吸附锰的性能进行了分析。然而,该菌株如何利用细胞表面基团与  $\text{Mn}^{2+}$  离子结合的具体机制仍然需进一步研究。同时,对于 NM3 菌株对其他重金属的耐受能力也亟需开展验证,如对镉、铅、铜等重金属的耐受情况。此外,未来的研究方向还应包括 NM3 菌株与其他微生物的联合修复能力,以及 NM3 菌株与耐重金属植物的联合应用如何影响重金属污染的修复效果。

综上所述,本研究筛选出的高耐锰菌株 NM3 展现出显著的去除  $\text{Mn}^{2+}$  能力,并且能够合成生长素 IAA,有利于促进植物的生长,减轻植物在富集锰时所面临的问题。这一研究成果不仅为土壤中锰污染的治理提供了新的微生物资源,同时也为该菌株在应对锰污染方面的实际应用奠定了理论基础,从而为确保蔬菜安全提供了一定的保障。

## 参考文献:

- [1] Wan W, Xing Y, Qin X, et al. A manganese-oxidizing bacterial consortium and its biogenic Mn oxides for dye decolorization and heavy metal adsorption [J]. *Chemosphere*, 2020, 253 (C): 126627.
- [2] 杜孔昌,张景光,冯丽. 路域土壤植物系统重金属污染研究综述[J]. *中国沙漠*, 2014, 34(6): 1598–1604.
- [3] Barboza N R, Guerra-Sá R, Leão V A. Mechanisms of manganese bioremediation by microbes: an overview [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2016, 91 (11): 2733–2739.
- [4] 凌薇薇,吴晓芙,陈永华,等. 除 Mn 微生物的筛选及其除 Mn 特性研究[J]. *中南林业科技大学学报*, 2011, 31(6): 152–156.
- [5] 张玉秀,李林峰,柴团耀,等. Mn 对植物毒害及植物耐 Mn 机理研究进展[J]. *植物学报*, 2010, 45(4): 506–520.
- [6] 丁宏伟,李岩. Mn 的神经毒性机制研究进展[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(8): 1022–1025.
- [7] 张鹏,敬海明,刘建中,等. Mn 毒性不同病程动物模型的建立与评价[J]. *毒理学杂志*, 2013, 27(6): 442–446.
- [8] Cheng C, Han H, Wang Y, et al. Biochar and metal-immobilizing *Serratia liquefaciens* CL-1 synergistically reduced metal accumulation in wheat grains in a metal-contaminated soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 139972.
- [9] Kalsi A, Celin S M, Bhanot P, et al. Microbial remediation approaches for explosive contaminated soil: critical assessment of available technologies, recent innovations and future prospects [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 18: 100721.
- [10] Zheng X, Xu W, Dong J, et al. The effects of biochar and its applications in the microbial remediation of contaminated soil: a review [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 438: 129557.
- [11] Van Waasbergen L G, Hildebrand M, Tebo B M. Identification and characterization of a gene cluster involved in manganese oxidation by spores of the marine *Bacillus* sp. strain SG-1 [J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(12): 3517–3530.
- [12] 何园园,薛林贵,刘映彤. 两株耐 Mn 菌的筛选及其生物学性能研究[J]. *兰州交通大学学报*, 2022, 41(2): 128–136.
- [13] Caspi R, Tebo B M, Haygood M G. c-type cytochromes and manganese oxidation in *Pseudomonas putida* MnB1 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64 (10): 3549–3555.
- [14] 赵晗,许文娟,郝莹,等. 环境中耐 Mn 细菌的筛选鉴定及除 Mn 性能研究[J]. *环境与健康杂志*, 2016, 33(4): 303–307.
- [15] Huang H, Zhao Y, Xu Z, et al. A high Mn (II)-tolerance strain, *Bacillus thuringiensis* HM7, isolated from manganese ore and its biosorption characteristics [J]. *PeerJ*, 2020, 8: e8589.
- [16] 刘少芳,王若愚. 植物根际促生细菌提高植物耐盐性研究进展[J]. *中国沙漠*, 2019, 39(2): 1–12.
- [17] 王琛,谢更新,晏铭,等. 耐 Mn 菌株的鉴定及其对超富集植物 Mn 积累的调控作用[J]. *应用与环境生物学报*, 2024(4): 1–15.

- [18] Rani R, Usmani Z, Gupta P, et al. Effects of organochlorine pesticides on plant growth-promoting traits of phosphate-solubilizing rhizobacterium, *Paenibacillus* sp. IITISM08 [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25: 5668–5680.
- [19] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the *Salkowski reagent* for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793–796.
- [20] 雷平, 黄军, 黄彬彬, 等. 1株产铁载体辣椒内生细菌的分离鉴定及其促生长作用[J]. 激光生物学报, 2020, 29(4): 379–384.
- [21] 李琪, 熊晶晶, 邓国志, 等. 耐Mn菌的筛选、鉴定及其吸附能力分析[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(3): 409–414.
- [22] 黄慧敏. 耐Mn细菌筛选及对构树修复Mn污染土壤影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.
- [23] 董婕玉. 耐Mn菌株的筛选及其强化栲树修复重金属污染土壤的效果研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2023.
- [24] Xu Z G, Yi D, He H M, et al. Biosorption characteristics of Mn (II) by *Bacillus cereus* strain HM-5 isolated from soil contaminated by manganese ore [J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2018, 28(1): 463–472.

## Manganese resistance and characterization of *Enterobacter* sp. strain

Liu Shaofang<sup>1,2</sup>, Zhan Mengting<sup>1</sup>, Huang Yushan<sup>1</sup>, Chen Minxian<sup>1</sup>,  
Cai Ni<sup>3</sup>, Hu Zhihong<sup>1</sup>, Jiang Xue<sup>1</sup>

(1. Laboratory of Natural Microbial Medicine Research of Jiangxi Province / Key Laboratory of Microbial resources and metabolism of Nanchang City, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China; 2. Fundamental Science on Radioactive Geology and Exploration Technology Laboratory, East China University of Technology, Nanchang 330013, China; 3. Hubei Biopesticide Engineering Research Centre, Wuhan 430064, China)

**Abstract:** A bacterial strain exhibiting strong manganese (Mn) tolerance was isolated from paddy soil surrounding a uranium mine using the enrichment culture method and designated as NM3. The bacterium was identified as belonging to the *Enterobacter* genus through colony morphology, Gram staining, and 16S rDNA sequence analysis. To investigate the adsorption efficiency of Mn<sup>2+</sup> by the NM3 strain and the associated adsorption mechanisms, we employed atomic absorption spectroscopy, scanning electron microscopy, and Fourier-transform infrared spectroscopy for comprehensive analysis. The results indicated that the strain tolerated Mn<sup>2+</sup> concentrations of up to 8 000 mg·L<sup>-1</sup>. After a 60-hour reaction period at a Mn<sup>2+</sup> concentration of 4 000 mg·L<sup>-1</sup>, the removal rate reached 93.3%. The primary functional groups involved in this adsorption process were identified as hydroxyl, alkyl, and amide groups. Further evaluation of the growth-promoting properties of the NM3 strain and its impact on Mn<sup>2+</sup> accumulation in green vegetables revealed that the strain produced auxin indole-3-acetic acid (IAA), which significantly enhanced the biomass of green vegetables under Mn stress, with increases ranging from 34.13% to 56.09%. Additionally, the Mn<sup>2+</sup> content in the green vegetables decreased by 50.09%. In summary, the NM3 strain not only demonstrates high tolerance and strong adsorption capacity but also represents a promising new microbial resource for mitigating soil Mn pollution, thereby ensuring vegetable safety.

**Key words:** manganese resistant bacteria; removal rate; plant promotion; manganese adsorptions