

# $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 对拟康宁木霉的毒性及其抗性机制

林锦美<sup>1</sup>, 段金明<sup>1</sup>, 葛晶晶<sup>2</sup>, 陈锦芳<sup>1</sup>, 占易苍<sup>3</sup>

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 青岛市环境保护宣传教育中心, 山东 青岛 266003; 3. 厦门三达膜环境股份有限公司, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 以实验室筛选到的拟康宁木霉 (*Trichoderma koningiopsis*) 为研究对象, 探讨了重金属  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫对其菌体生长的影响, 并以菌体内的谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 与超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 来表征重金属对菌体的毒性及其抗氧化性。同时, 研究了不同浓度外源 NO 和  $\text{SO}_2$  对重金属胁迫作用下菌体的抗性性能。结果表明, 随着  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  初始浓度的增加, 重金属对拟康宁木霉的毒性增加, 并能够诱导菌体内 GSH 的合成从而抵抗重金属对菌体的毒性, 而  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫下, 菌量与 GSH 呈现显著的负相关性,  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下, 菌量与 GSH 的负相关性不显著。低浓度外源 NO 能够缓解重金属胁迫下对菌体的氧化损伤作用, GSH 与 SOD 表现出较显著的正相关性 ( $P < 0.05$ ); 高浓度 NO 则加重重金属对菌体的损伤作用, GSH 与 SOD 相关性不显著。在不同浓度外源  $\text{SO}_2$  作用下, 菌体的生长均受到抑制, 外源  $\text{SO}_2$  加剧重金属对菌体的损伤作用。

**[关键词]** 拟康宁木霉;  $\text{Cr}^{6+}$ ;  $\text{Ni}^{2+}$ ; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽; 抗性

**[中图分类号]** X 171.5

## Toxicity of $\text{Cr}^{6+}$ and $\text{Ni}^{2+}$ for *Trichoderma koningiopsis* and Its Resistance Mechanisms

LIN Jinmei<sup>1</sup>, DUAN Jinming<sup>1</sup>, GE Jingjing<sup>2</sup>, CHEN Jinfang<sup>1</sup>, ZHAN Yicang<sup>3</sup>

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Qingdao Environmental Protection and Education Center, Qingdao 266003, China;

3. Xiamen Suntar Membrane CO., LTD, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The effect of heavy metal  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress on growth of *Trichoderma koningiopsis* was investigated and the mechanism of microbial resistance to heavy metals was explored based on glutathione (GSH) content and superoxide dismutase (SOD) changes in *T. koningiopsis*. At the same time, the effect of different concentrations of exogenous NO and  $\text{SO}_2$  on microbial resistance for heavy metal stress were studied as well. The results showed that, with the increase of the initial concentration of  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$ , the growth of *T. koningiopsis* reduced gradually, and the content of GSH in *T. koningiopsis* was increased firstly and then decreased. There was a significant negative correlation between GSH content and  $\text{Cr}^{6+}$  concentration. The low concentration of exogenous NO could promote the synthesis of GSH and the activity of SOD in *T. koningiopsis*, while high level of NO could inhibit this phenomenon. The results showed a significant positive correlation between GSH and SOD ( $P < 0.05$ ) under the low concentration of exogenous NO. Different concentration of foreign  $\text{SO}_2$ , inhibited

[收稿日期] 2018-05-14

[修回日期] 2018-07-01

[基金项目] 福建省自然科学基金项目 (2016J01737); 福建省中青年骨干教师教育科研项目 (JA15286, JAT160277, JAT170308)

[作者简介] 林锦美 (1979—), 女, 讲师, 硕士, 从事微生物处理重金属废水研究。

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

the growth of *T. koningiopsis* and increased the damage to it.

**Keywords:** *Trichoderma koningiopsis*;  $\text{Cr}^{6+}$ ;  $\text{Ni}^{2+}$ ; superoxide dismutase; glutathione; resistance

## 0 引言

近年来,随着我国工业的快速发展,越来越多的重金属废水被排放出来<sup>[1]</sup>。重金属废水大部分具有毒性,且具有持久性、累积性,排放到环境水体中会导致生态系统的严重破坏,对环境和人类健康造成极大危害<sup>[2-4]</sup>。自然界中存在一些微生物,在高浓度金属条件下,仍能存活或生长,表现出对金属的抗性。有些菌还能通过生物转化作用或生理代谢活动使金属由高毒状态变为低毒状态,这为微生物法处理重金属废水提供了有利条件。相对于传统方法,微生物法具有环保、成本低、无二次污染等优势,在重金属废水治理中具有良好的发展前景<sup>[5-6]</sup>。

微生物对重金属的抗性机制主要包括胞外沉淀、细胞积累、解毒、生物转化等<sup>[7-10]</sup>。由于重金属是氧供体的一种强竞争离子,具有强氧化特性,在很多生物中都能诱发产生过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )、氢氧自由基( $\cdot\text{OH}$ )等活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS),对细胞内的膜质、蛋白质、DNA 等有很高的反应活性和损伤作用。微生物对重金属有抗性是因为体内存在抗氧化系统。生物系统的抗氧化系统包括抗氧化酶和抗氧化剂。抗氧化酶主要有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT);抗氧化剂主要有胞内的还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)。因此,SOD 和 GSH 可以作为微生物抗重金属强弱的标准。目前,木霉属处理含有重金属的废水研究已有很多报道<sup>[11-12]</sup>,主要包括曲霉属(*Aspergillus*)、根霉属(*Rhizopus*)、青霉菌(*Penicillium*)等,且这些报道主要集中在对重金属的吸附率、影响吸附率的因素等方面,而对于木霉属在处理含重金属废水,尤其对重金属抗性性能的研究鲜有报道<sup>[11-12]</sup>。

本文运用自行筛选、培养、驯化及初步鉴定的拟康宁木霉(*Trichoderma koningiopsis*),对  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的抗性机制进行初步探索,研究不同重金属离子对木霉的抗氧化系统及菌量的影响,同时就不同浓度外源 NO 和  $\text{SO}_2$  对重金属作用下菌体的抗氧化系统的影响进行研究,为阐明 NO/ $\text{SO}_2$  影响重金属胁迫下菌体生长的生理生化机理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 菌种和培养基 拟康宁木霉由集美大学环境工程实验室分离鉴定并保存。培养基的制备:实验采用配好的土豆培养基( $m(\text{土豆}):m(\text{水})=1:5$ ,葡萄糖 25.4 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.1 g/L,  $\text{MgSO}_4$  2.1 g/L)灭菌后接种,30 ℃ 培养 3 d。

1.1.2 模拟废水  $\text{Ni}^{2+}$  标准储备液:准确称取 49.32 g  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,用蒸馏水溶解,稀释定容至 1 000 mL,配制质量浓度为 10 g/L 含  $\text{Ni}^{2+}$  的标准贮备液,于棕色试剂瓶内避光保存。 $\text{Cr}^{6+}$  标准储备液:准确称取 28.28 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,用蒸馏水溶解,稀释定容至 1 000 mL,配制质量浓度为 10 g/L 含  $\text{Cr}^{6+}$  的标准贮备液,于棕色试剂瓶内避光保存。本试验所用铜溶液均由贮备液稀释得到。

### 1.2 仪器和试剂

紫外可见分光光度计(UV751GD,上海精密仪器仪表有限公司),恒温振荡器(SHA-C,江苏省金坛市鸿科仪器厂),智能生化培养箱(PHX,宁波莱福科技有限公司),台式高速离心机(H1650,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

重铬酸钾(优级纯),硝酸镍(优级纯),硝酸(分析纯),氢氧化钠(分析纯)。低粘度树脂包埋试剂盒 Spurr Embedding Kit(北京海德公司)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 毒性及抗性实验 将具有抗  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  菌株活化 24 h 后,分别在不同  $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  浓度的条件

下, 用接种环将驯化后的木霉菌种接到液体培养基中, 于 30 ℃、转速为 120 r/min 培养箱里恒温振荡培养 3 d, 然后将培养后的菌液置于抽滤机内以 0.05 MPa 压力抽滤, 并用去离子水反复清洗, 最后将得到的菌种置于 65 ℃ 烘箱内 24 h 烘干, 用电子天平称其干重以表示细菌的生长量, 并测定获得的菌粉中 GSH 和 SOD 含量。

1.3.2 GSH 提取及其测定 参照文献 [13] 采用热水抽提法。取 1 g 烘干的菌粉, 与 4 mL 蒸馏水充分混合后倒入 5 mL 沸腾的水中, 充分混合后放入 95 ~ 100 ℃ 水浴锅中水浴 10 min 后, 立即取出放于冰水中速冷, 然后在转速为 5 000 r/min 下离心 10 min, 取出上清液, 用碘量法测定 GSH 的含量。

1.3.3 SOD 提取及测定 每毫克组织蛋白质在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量作为一个 SOD 活力单位 (U)。培养后的菌液经离心沉淀后用考马斯亮兰法 (蛋白质试剂盒, 南京建成生物工程研究所) 测定出组织中蛋白质含量。每个体系取 3 个试样作为平行实验, 并计算酶液的可溶性蛋白质含量。

#### 1.4 数据处理

每组实验均重复 3 次, 取平均值, 并运用 Origin 软件进行数据处理与图表绘制。采用 Excel 进行方差分析, 显著性水平为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 对拟康宁木霉的毒性

在含有不同重金属溶液中接种拟康宁木霉进行毒性分析试验, 结果如图 1 所示。由图 1 可见, 在重金属  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的胁迫下, 菌体的生长均受到严重影响, 2 种重金属对拟康宁木霉的生长始终表现出抑制作用。说明重金属对菌体有一定毒性作用, 且  $\text{Cr}^{6+}$  对菌体的毒性强于  $\text{Ni}^{2+}$ 。当  $\text{Cr}^{6+}$  质量浓度从 0 升高到 150 mg/L 时, 拟康宁木霉的生长量显著下降, 同时, 菌体内 GSH 的含量呈现先增加后降低的趋势, 并且在  $\text{Cr}^{6+}$  的质量浓度为 100 mg/L 时达到最高。 $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉的影响跟  $\text{Cr}^{6+}$  相似, 当  $\text{Ni}^{2+}$  质量浓度从 0 升高到 300 mg/L 时, 菌体的生长量迅速降低, 而菌体内 GSH 的含量先增加后减少, 且在  $\text{Ni}^{2+}$  质量浓度为 100 mg/L 时, GSH 的含量达到最高。由此可知, 重金属的存在能够诱导拟康宁木霉体内产生 GSH 来减小对其的毒性作用。

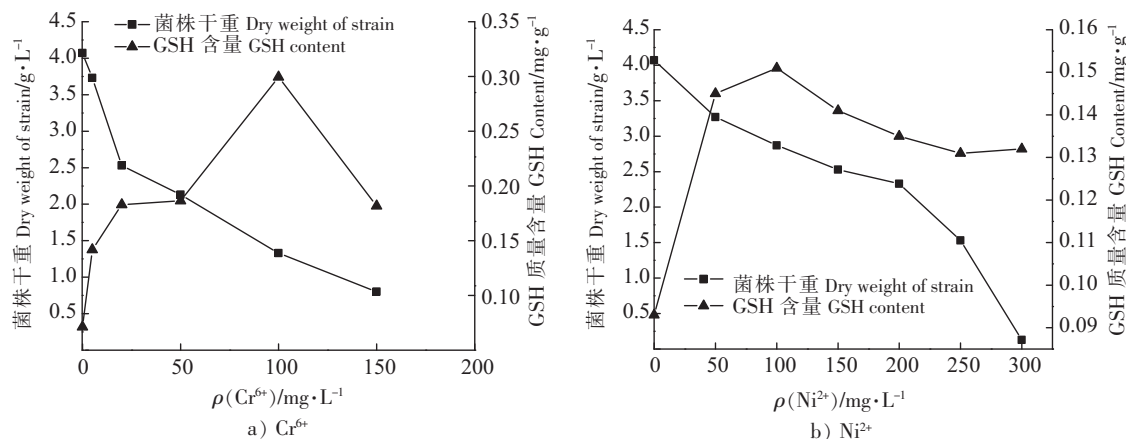


图 1  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉生长量及 GSH 含量的影响

Fig.1 Effects of  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  on growth and GSH content in *Trichoderma koningiopsis*

### 2.2 外源 NO 对 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫下拟康宁木霉抗性

#### 2.2.1 外源 NO 对 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫下拟康宁木霉生长量的影响

本实验通过测定 NO 的供体硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP)<sup>[14]</sup> 的浓度来反映 NO 对  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下拟康宁木霉生长的影响, 结果见图 2。由图 2 可知, 在没有  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  时, SNP 浓度由 0 增加到 0.1 mmol/L 时, 拟康宁木霉的生长量没有变化; SNP 浓度由 0.1 mmol/L 增加到 0.3 mmol/L 时, 拟康宁

木霉的生长有所抑制。当  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  质量浓度增加到 50 mg/L 时,  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉的生长均呈现一定的抑制作用,但是加入 0.1 mmol/L 的 SNP, 菌体的生长量反而增加, SNP 增加到 0.3 mmol/L 时,菌体的生长量有所降低。当  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  质量浓度为 150 mg/L 时,结果类似。说明一定浓度的 NO 能够降低  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对菌体的毒性作用,促进菌体的生长,但 NO 浓度过高,却不利于菌体的生长。

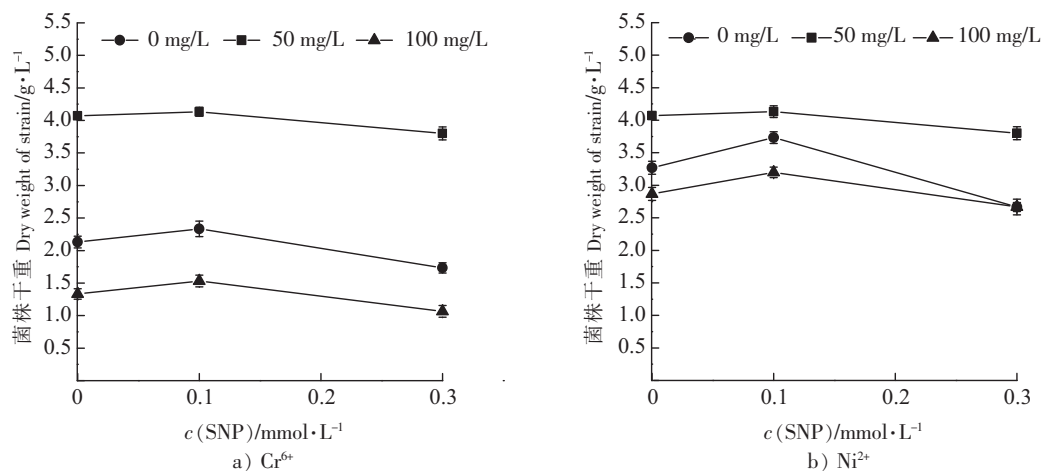


图2 外源 NO 对  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下拟康宁木霉生长量的影响

Fig.2 Effects of exogenous NO on growth in *Trichoderma koningiopsis* under  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress

### 2.2.2 外源 NO 对 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫下拟康宁木霉 GSH 含量的影响

本实验研究了不同外源 NO 浓度对拟康宁木霉中 GSH 含量的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,在含有  $\text{Cr}^{6+}$  的条件下,当 SNP 浓度由 0 升高到 0.2 mmol/L 时,菌体内 GSH 含量也随之升高。继续升高 SNP 浓度,菌体内 GSH 的含量迅速降低。由此表明,一定浓度的外源 NO 能够促进菌体内 GSH 含量的增加,从而抵抗菌体对  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的毒性。在  $\text{Ni}^{2+}$  的条件下,结果和  $\text{Cr}^{6+}$  的情况类似,当 SNP 浓度由 0 升高到 0.3 mmol/L 时,菌体内 GSH 含量也随之升高,继续升高 SNP 浓度,菌体内 GSH 的含量降低。这说明,一定浓度的外源 NO 能够促进菌体内 GSH 含量的增加,从而抵抗菌体对  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的毒性,但是 NO 浓度太高时,反而会起抑制作用。

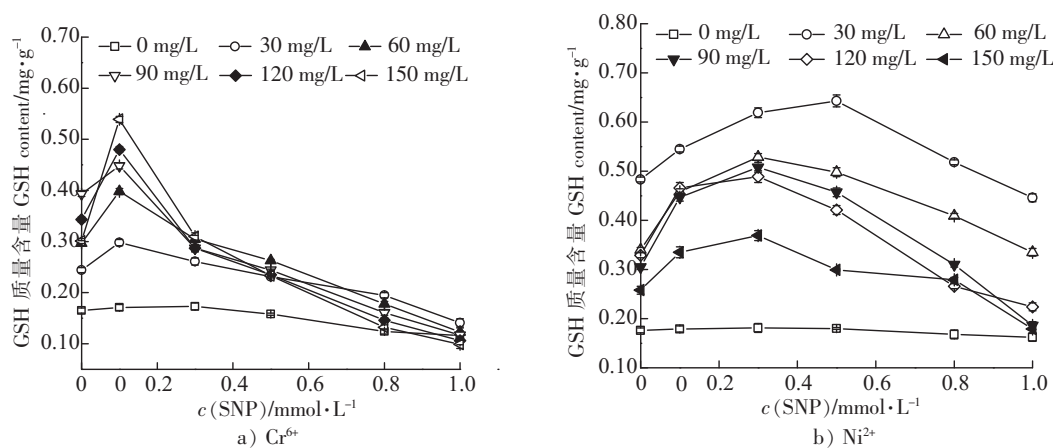


图3  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下外源 NO 对菌体 GSH 含量的影响

Fig.3 Effects of exogenous NO on GSH content in *Trichoderma koningiopsis* under  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress

### 2.2.3 外源 NO 对 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫下拟康宁木霉 SOD 活性的影响

本实验研究了不同浓度的外源 NO 对拟康宁木霉 SOD 活性的影响,结果如图 4 所示。从图 4 中可以看出,在不存在重金属  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的条件下,菌体中 SOD 的活性很低。这是因为没有重金属的诱导,不会激发菌体中 SOD 的活性来抵抗重金属的毒性。在没有外源 NO 的加入时,随着  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  浓度的增加,菌体内 SOD 的活性呈现先增加后降低的趋势,且重金属  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  质量浓度分别为



120, 150 mg/L 时, 菌体内 SOD 活性最高。这说明一定浓度重金属, 可以激发菌体中 SOD 的活性来抵抗重金属的毒性, 但是重金属浓度太高, 对菌体的毒害作用太大, 所以菌体内 SOD 的活性反而会降低。当加入外源 NO 时, 菌体中 SOD 的活性随着外源 NO 浓度的升高呈现先增强后降低的趋势, 且在 NO 浓度为 0.5 mmol/L 时, SOD 活性最高。这表明, 低浓度外源 NO 可以促进菌体内 SOD 活性增强, 而高浓度的外源 NO 对菌体内 SOD 活性却存在抑制作用。

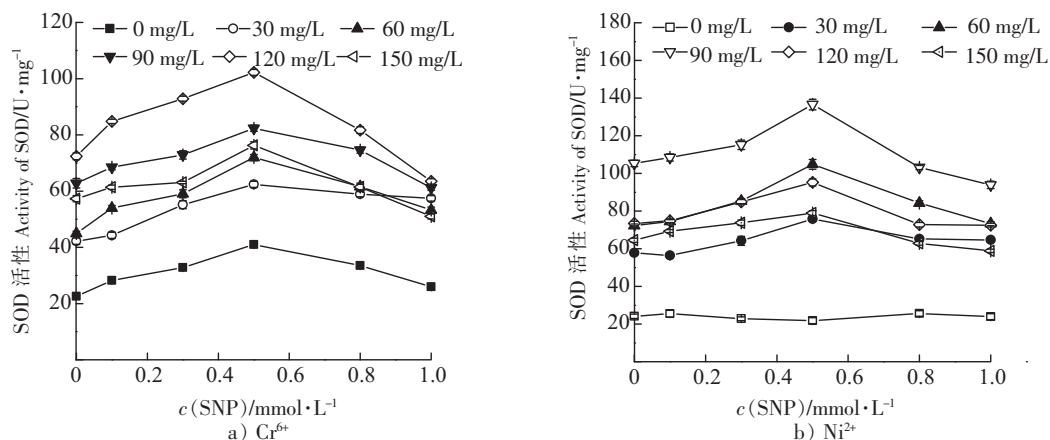


图 4  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下外源 NO 对菌体中 SOD 活性的影响

Fig.4 Effects of exogenous NO on SOD activity in *Trichoderma koningiopsis* under  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress

### 2.3 外源 $\text{SO}_2$ 对 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫下拟康宁木霉抗性

本实验分别研究了在  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  初始质量浓度为 0, 50, 100 mg/L 时不同浓度外源  $\text{SO}_2$  对菌体内 GSH 含量及 SOD 活性的影响, 结果见图 5。由图 5 可以看出, 在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫的菌体中, 当外源  $\text{SO}_2$  浓度由 0 增加到 0.5 mmol/L 时, GSH 的含量及 SOD 的活性迅速降低, 而随着外源  $\text{SO}_2$  浓度由 0.5 mmol/L 升高到 1.0 mmol/L 时, 菌体内 GSH 的含量下降速度有所减缓, 说明  $\text{SO}_2$  对菌体中 GSH 合成及 SOD 活性产生抑制作用。可能原因是: 外源  $\text{SO}_2$  在菌体上发生了氧化反应, 此过程产生了大量的活性氧, 加速了菌体的氧化损伤, 抑制了菌体内 GSH 的合成及 SOD 的活性。

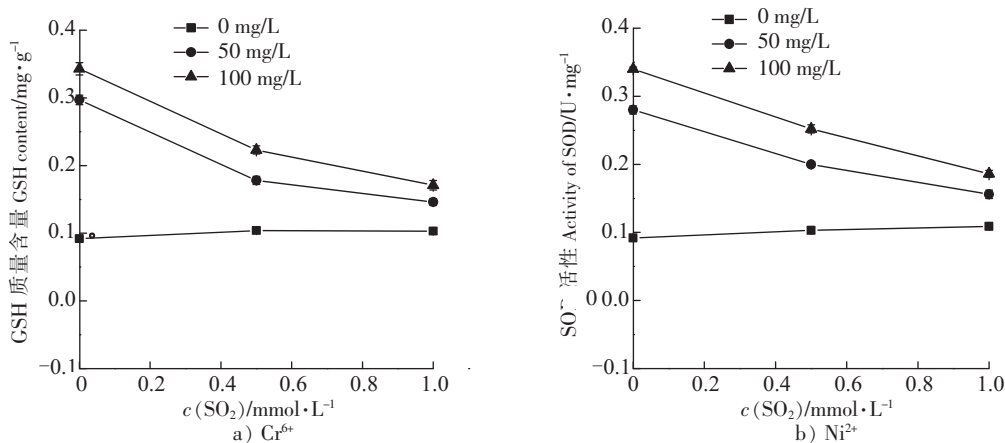


图 5  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下外源  $\text{SO}_2$  对菌体 GSH 及 SOD 含量的影响

Fig.5 Effects of  $\text{SO}_2$  on GSH content and SOD activity in *Trichoderma koningiopsis* under  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress

### 2.4 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 对拟康宁木霉的毒性和抗性相关性分析

通过对不同浓度  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉的毒性和抗性相关性分析表明, 不同浓度重金属胁迫下,  $\text{Cr}^{6+}$  毒性和抗性相关系数为  $-0.7588$  ( $P < 0.05$ ), 表现出显著负相关; 而  $\text{Ni}^{2+}$  毒性与抗性相关系数为  $-0.2987$ , 其负相关性不明显。外源 NO 条件下  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉抗性相关性分析结果见表 1。由表 1 可知, 在不同  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  浓度胁迫下, 低浓度外源 NO 中的 GSH 与 SOD 表现出较

显著的正相关性 ( $P < 0.05$ )，高浓度外源 NO 中的 GSH 与 SOD 相关性不显著。

表 1 外源 NO 对不同浓度  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下拟康宁木霉抗性 GSH/SOD 相关性  
Tab.1 Correlation analysis of exogenous NO on resistance (GSH/SOD) in *Trichoderma koningiopsis* under  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  stress

$c(\text{NO})/$ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	GSH/SOD 相关系数 ( $\text{Cr}^{6+}$ 胁迫) GSH/SOD correlation coefficient ( $\text{Cr}^{6+}$ stress)	GSH/SOD 相关系数 ( $\text{Ni}^{2+}$ 胁迫) GSH/SOD correlation coefficient ( $\text{Ni}^{2+}$ stress)
0.1	0.864 2	0.589 7
0.3	0.752 2	0.673 7
0.5	0.788 6	0.616 9
0.8	0.543 2	0.436 2
1.0	-0.016 7	0.122 3

3 讨论

关于木霉处理废水的研究已有一些报道，如李会东等用木霉处理含铬废水，在 28 ℃、pH 值为 1 的环境条件下，其对  $\text{Cr}^{6+}$  的吸附率高达 99%<sup>[15]</sup>。但这些研究大多集中在生物吸附方面，而对于其抗重金属机制的研究并没有深入进行。本研究发现，拟康宁木霉在处理重金属废水时体内 GSH 的含量及 SOD 的活性发生显著的变化，在  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下，GSH 的含量及 SOD 的活性明显高于无  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下的。当存在  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  时， $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  诱导菌体产生 GSH 和增强 SOD 的活性，从而抵抗重金属的毒性，这跟陈叶福等<sup>[16]</sup>的研究结果类似。然而，在重金属诱导下，拟康宁木霉是通过什么途径合成 GSH 并提高 SOD 的活性的，本文并没有深入研究。从分子和代谢水平阐明 GSH 的合成机制和途径，可能成为未来的研究重点。另外，高浓度  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对拟康宁木霉有明显的抑制作用，而实际中有一些工业废水如电镀废水、冶金废水等，其重金属离子浓度极高，这对微生物处理提出新的挑战。因此，如何提高微生物对重金属离子的抗性，就显得尤为迫切。也许通过基因工程构建工程菌，为我们提供了一条可行的途径。

NO 是一种广泛分布于生物体内的气体活性分子。有研究表明<sup>[17]</sup>，外源 NO 能够提高盐胁迫下种子的萌发，延缓果实等器官的成熟和衰老，以及参与植物抗病反应等，在植物体内对各种生物和非生物胁迫反应的信息传递发挥着重要的作用。但是外源 NO 浓度过高对生物体也具有毒害作用，NO 对生物体的代谢具有双重性<sup>[17-19]</sup>。而 NO 对微生物抗重金属胁迫的研究，目前鲜有报道。本文研究了不同外源 NO 浓度对拟康宁木霉抗重金属的影响，结果显示，低浓度 NO 有利于菌体内 GSH 的合成及 SOD 活性的提高，从而抵抗重金属的毒性，而高浓度外源 NO 反而有抑制作用。这说明，NO 不仅能够调节植物对重金属胁迫下的抗性强弱，对微生物也有相似的作用。但是关于 NO 如何调节微生物的抗性，目前仍不清楚。本实验从 NO 调节菌体中 GSH 的合成及 SOD 的活性来初步阐述了 NO 对微生物抗重金属的机制，但是具体的分子机制还有待进一步研究。

4 结论

- 1) 在  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  的作用下，随着重金属浓度增加，拟康宁木霉菌生长量逐渐减少，GSH 含量先增加后减少。说明重金属诱导菌体生成 GSH，缓解重金属对细胞的氧化损伤作用，而  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫下，菌量与 GSH 呈现显著的负相关性， $\text{Ni}^{2+}$  胁迫下，菌量与 GSH 的负相关性不显著。重金属  $\text{Cr}^{6+}$  对木霉的毒性作用强于  $\text{Ni}^{2+}$ 。
- 2) 低浓度外源 NO 能够增加菌体内 GSH 含量及 SOD 的活性，从而缓解重金属胁迫对菌体的氧化损伤作用，且二者呈现正相关性 ( $P < 0.05$ )；高浓度外源 NO 则加重重金属对菌体的损伤作用，GSH/SOD 相关性不显著。

3) 在不同浓度外源  $\text{SO}_2$  作用下, GSH 的含量和 SOD 的活性均随外源  $\text{SO}_2$  浓度的增加而降低, 说明外源  $\text{SO}_2$  加剧重金属对菌体的损伤作用。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] LO Y C, CHENG C L, HAN Y L, et al. Recovery of high-value metals from geothermal sites by biosorption and bio-accumulation [J]. Bioresource Technology, 2014, 160: 182-190. DOI:10.1016/j.biortech.2014.02.008.
- [2] SRIVASTAVA N K, MAJUMDER C B. Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 151(1): 1-8. DOI:10.1016/j.jhazmat.2007.09.101.
- [3] 朴永哲, 黄玮, 崔玉波. 细菌对重金属的抗性及其解毒机理研究进展 [J]. 安全与环境学报, 2015, 15(6): 250-254. DOI:10.13637/j.issn.1009-6094.2015.06.052.
- [4] 罗成科, 毕江涛, 肖国举, 等. 宁东基地不同工业园区周边土壤重金属污染特征及其评价 [J]. 生态环境学报, 2017, 26(7): 1221-1227. DOI:10.16258/j.cnki.1674-5906.2017.07.019.
- [5] DIXIT R, WASIULL A H, MALAVIYA D, et al. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes [J]. Sustainability, 2015, 7(2): 2189-2212. DOI:10.3390/su7022189.
- [6] WANG J, CHEN C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review [J]. Biotechnol Adv, 2006, 24(5): 427-451. DOI:10.1016/j.biotechadv.2006.03.001.
- [7] 龙云川, 万合锋, 周少奇. 微生物对重金属废水的修复研究 [J]. 贵州科学, 2017, 35(2): 1-6
- [8] QUINTELAS C, PEREIRA R, KAPLAN E, et al. Removal of Ni (II) from aqueous solutions by an *Arthrobacter viscosus* biofilm supported on zeolite: from laboratory to pilot scale [J]. Bioresource Technol, 2013, 142: 368-374. DOI:10.1016/j.biortech.2013.05.059.
- [9] PARK D, YUN Y S, PARK J M. The past, present, and future trends of biosorption [J]. Biotechnol Bioproc E, 2010, 15(1): 86-102. DOI:10.1007/s12257-009-0199-4.
- [10] CARPIO I E M, MACHADO S G, SAKATA S K, et al. Copper removal using a heavy-metal resistant microbial consortium in a fixed-bed reactor [J]. Water Res, 2014, 62: 156-166. DOI:10.1016/j.watres.2014.05.043.
- [11] CHEN F, TAN N, LONG W, et al. Enhancement of uranium (VI) biosorption by chemically modified marine-derived mangrove endophytic fungus *Fusarium* sp<sup>#ZZF51</sup> [J]. J Radioanal Nucl Ch, 2014, 299(1): 193-201.
- [12] 潘蓉, 曹理想, 张仁铎. 青霉菌和镰刀菌对重金属  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  的吸附特性 [J]. 环境科学学报, 2010, 30(3): 477-484.
- [13] 安贤惠. 还原型谷胱甘肽提取方法初探 [J]. 淮海工学院学报, 2003, 12(2): 49-52.
- [14] 樊霆. 真菌对重金属的抗性机制和富集特性研究 [D]. 长沙: 湖南大学, 2009.
- [15] 李会东, 彭智辉, 康健, 等. 木霉生物吸附重金属铬机理的研究 [J]. 激光生物学报, 2010, 19(3): 353-357.
- [16] 陈叶福, 李军侠, 沈世超, 等. 酿酒酵母谷胱甘肽产量与镉盐抗性关系的研究与应用 [J]. 中国酿造, 2012, 31(4): 40-43.
- [17] 王森, 李秋荣, 付士磊, 等. 一氧化氮对杨树耐旱性的影响 [J]. 应用生态学报, 2005, 16(5): 805-810. DOI:10.13287/j.1001-9332.2005.0046.
- [18] TU J, SHEN W B, XU L L. Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45: 1055-1062.
- [19] 汤绍虎, 周启贵, 孙敏, 等. 外源 NO 对渗透胁迫下黄瓜种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(2): 419-425.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)