

引用:吕雪茹,高锡钧,丁效可,等. 铁对铜绿假单胞菌厌氧降解三氯吡啶酚的影响机制[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2025, 38(5):773-780.

Citation:LÜ Xueru, GAO XiJun, DING Xiaoke, WANG Shenghui. The impact mechanism of iron on the anaerobic degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2025,38(5):773-780.

文章编号 1672-6634(2025)05-0773-08

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2025010012

铁对铜绿假单胞菌厌氧降解三氯吡啶酚的影响机制

吕雪茹,高锡钧,丁效可,王圣惠

(聊城大学 农业与生物学院,山东 聊城 252059)

摘要 探究 NanoFe₃O₄ 颗粒和 Fe(II)铁离子对铜绿假单胞菌 D-2 厌氧降解 3,5,6-三氯吡啶酚(3,5,6-TRI-CHLOROPYRIDINOL, TCP)的影响机制。设置无铁对照组(A, 0 g/L)、NanoFe₃O₄ 添加组(B, 2.5 g/L)和 Fe(II)添加组(C, 2.5 g/L)与菌株 D-2 厌氧共培养体系。采用 HPLC 检测 NanoFe₃O₄ 和 Fe(II)离子对菌株降解 TCP 的影响,通过转录组测序对菌株进行差异表达基因筛选和代谢通路富集分析。72 h 内,三组处理对 50 mg/L TCP 的降解率分别为 54.08% (A), 40.20% (B)和 60.24% (C)。NanoFe₃O₄ 抑制了 TCP 降解,但 Fe(II)离子显著加速了 TCP 降解,其降解率提高了 14.16%。转录组学分析发现, NanoFe₃O₄ 富集了 DNA 损伤修复相关的通路,并上调了 DNA 损伤应激和修复相关的基因。而 Fe(II)离子显著富集了核糖体、TCA 循环及氧化磷酸化等能量代谢相关的通路,并上调表达了这些通路中铁离子依赖的酶。NanoFe₃O₄ 触发了应急损伤修复系统,引发了菌株的保护机制,导致 TCP 降解率下降 9.78%。而 Fe(II)离子通过上调能量代谢通路中关键酶的表达,激活了能量代谢,致使 TCP 的降解率提高 14.1%。

关键词 NanoFe₃O₄;铁离子;三氯吡啶酚;铜绿假单胞菌;厌氧;降解;转录组学;机制

中图分类号 X172

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



The impact mechanism of iron on the anaerobic degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Pseudomonas aeruginosa*

LÜ Xueru, GAO XiJun, DING Xiaoke, WANG Shenghui

(College of Agriculture and Biology, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract To explore the impact mechanism of NanoFe₃O₄ and Fe(II) ions on the anaerobic degradation of 3,5,6-trichloropyridinol (TCP) by *Pseudomonas aeruginosa* D-2. An anaerobic co-culture system was set up with three treatments: no iron control group (A, 0 g/L), NanoFe₃O₄ treatment (B, 2.5 g/L) and Fe (II) treatment (C, 2.5 g/L). The degradation performance of TCP in different groups was detected using HPLC. The differential gene expression screening and metabolic pathway enrichment analysis of the three treatments were conducted via transcriptome sequencing. Within 72 hours, the degradation rates of 50

收稿日期:2025-01-16

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(41401288);山东省自然科学基金项目(ZR2020MD103);大学生创新创业训练项目(CXCY2024316,202310447070,S202310447021,S202410447008)资助

通信作者:王圣惠,女,汉族,博士,副教授,研究方向:环境污染物微生物修复, E-mail: wangshenghui@lcu.edu.cn。

mg/L TCP for the three treatments were 54.08% (A), 40.20% (B), and 60.24% (C), respectively. NanoFe₃O₄ inhibited TCP degradation, but Fe(II) ions significantly accelerated TCP degradation, increasing its degradation rate by 14.16%. Transcriptomic analysis showed that NanoFe₃O₄ enriched some pathways related to DNA damage stimuli, cell stress responses and DNA damage repair, and upregulated genes associated with DNA damage stress response and DNA repair. While, Fe(II) significantly enriched some pathways related to energy metabolism such as ribosomes, TCA cycle, and oxidative phosphorylation, and upregulated iron-dependent enzyme. NanoFe₃O₄ triggered the emergency damage repair system of strain D-2 and initiated the protective mechanism, leading to a 9.78% decrease in the degradation rate of TCP. Fe(II) ions further activated energy metabolism by up-regulating the expression of key enzymes, thereby resulting in a 14.1% increase in the degradation rate of TCP.

Keywords NanoFe₃O₄; Fe(II); 3,5,6-trichloropyridine; *Pseudomonas aeruginosa*; anaerobic; degradation; transcriptomics; mechanism

0 引言

3,5,6-三氯吡啶酚(3,5,6-trichloropyridinol, TCP)属于氯代吡啶类化合物,它是有机磷农药毒死蜱及甲基毒死蜱微生物降解产生的高毒、难降解残留物^[1-2]。TCP的高水溶性和流动性导致其更易渗入深层土壤或收纳水体等缺氧或厌氧生境中。厌氧条件下,TCP降解缓慢导致其生态环境的持续性积累和持久性污染^[3]。如何提高TCP厌氧降解效率是解决TCP持久性环境污染的关键^[3-4]。

磁铁矿(主成分Fe₃O₄)是一种广泛分布于自然界中的混合价态氧化铁矿物。近年来发现,NanoFe₃O₄在促进有机物降解中具有显著优势^[5-6]。NanoFe₃O₄的导电性使其充当电子“导线”,通过促进微生物菌群间的直接电子传递,进而促进脱氯代谢^[7-8]。最近,我们实验室也发现 NanoFe₃O₄可能通过其内部铁的氧化还原循环显著加速了微生物菌群对TCP的缺氧或厌氧脱氯降解^[9]。然而,目前 NanoFe₃O₄对单菌的厌氧促降解影响及微生物学机制不清楚。此外,还有研究发现在好氧条件下,可溶性铁离子可以促进多环芳烃的降解^[10],但其在厌氧条件下的促降解效果和微生物学机制却鲜有报道。

基于此,本文以实验室前期筛选的一株TCP降解菌铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa* D-2)为研究对象,采用高效液相色谱检测两种铁处理对菌株D-2降解TCP的影响。同时通过转录组测序对两种铁处理的菌株进行差异表达基因筛选和代谢通路富集分析,推测两种铁处理对菌株D-2厌氧降解TCP的响应机制。本研究首次在单菌体系中揭示 NanoFe₃O₄和Fe(II)在厌氧条件下对污染物降解的影响,旨在阐明铁形态 NanoFe₃O₄ vs. Fe(II)对单菌厌氧代谢TCP的调控机制,以期加速TCP缺氧及厌氧降解的生物修复技术走向实际应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料。铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* D-2 是本实验室前期分离的一株 TCP 降解菌株,其 16srRNA 基因的序列登入号是 MN736551.1。

1.1.2 试剂。TCP(纯度大于 99%),Fluka 公司;甲醇(HPLC 级),赛默飞世尔科技公司;NanoFe₃O₄(40nm),中国上海 Sigma-Aldrich 化学有限公司,其余药品及试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器。Milli-Q 超纯水仪(IQ7000),默克化工技术(上海)有限公司;电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司;恒温摇床(SHZ-82A),常州华冠仪器制造有限公司;TopPette 手动单道可调移液器(10、100、1 000、5 000 μl)大龙兴创实验仪器(北京)股份公司;离心机 5417R,Thermo Fisher;可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;电热恒温水浴锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.1.4 培养基。无机盐培养基(g/L, pH 7.0):NaCl 0.50,NH₄NO₃ 1.00,KH₂PO₄ 0.50,K₂HPO₄ 1.50,(NH₄)₂SO₄ 0.50,MgSO₄·7H₂O 0.50,酵母 0.05。LB 培养基(g/L,pH 7.0):蛋白胨 10.0 g、酵母粉 5.0 g、NaCl 10.0 g。

1.2 方法

1.2.1 厌氧培养基制备及菌株活化接种。厌氧培养基制备:配置无机盐培养基,小火煮沸除尽溶液中大部分溶解氧,随后加入半胱氨酸消除残余氧,并添加刃天青指示厌氧状态。煮至溶液无色后,氮吹下分装至100 mL小瓶并用橡胶塞封口,抽真空,氮气填充,以保证厌氧环境。无菌操作下,将菌株D-2单菌落接种LB液体培养基,35℃摇床培养至对数生长期($OD_{600\text{ nm}} \approx 0.8$)。离心收集菌体并以0.03 g的生物量分别接种于无铁对照组(A, 0 g/L)、 $\text{NanoFe}_3\text{O}_4$ 添加组(B, 2.5 g/L)和Fe(II)离子添加组(C, 2.5 g/L)的MSM(TCP 50 mg/L)厌氧培养基中,同时设置不接菌的对照组,每组三个平行,37℃厌氧培养。

1.2.2 TCP浓度测定。上述培养液在不同时间点取样,离心取上清,分别检测TCP的浓度变化。TCP液相色谱检测条件如:岛津LC-20A HPLC系统(色谱柱VP-ODSC18, 4.6 m, 4.6 mm×250 mm);流动相:甲醇和水比为80:20(V/V);流速1.0 mL/min;检测波长230 nm。

1.2.3 转录组测序及功能基因注释。将跟上述三组同样处理的菌株厌氧培养21 h,对菌体进行离心收集,液氮快速冷冻后使用干冰包装,发往上海派森诺生物技术有限公司。在Illumina PE150模式下进行转录组测序。所得序列通过Cutadapter进行过滤,并与D-2菌株的基因组进行比对。将所有富集的差异表达基因(DEGs)与KEGG数据库进行关联分析。

1.2.4 差异表达基因筛选和代谢通路富集分析。使用DESeq2(v1.38.3)对比较组之间的基因表达进行差异分析,筛选差异表达基因条件为:表达差异倍数 $|\log_2\text{FoldChange}| > 1$,显著性 $P\text{-value} < 0.05$ 。使用ClusterProfiler(v4.6.0)进行富集分析,通过超几何分布方法计算 $P\text{-value}$ (一般显著富集的标准为 $P\text{-value} < 0.05$),找出差异基因(all/up/down)显著富集的GO term/KEGG pathway,从而确定差异基因行使的主要生物学功能。菌株D-2转录组测序数据在NCBI中的登录号为PRJNA1174429。

2 结果与分析

2.1 菌株的特征

铜绿假单胞菌株D-2,菌落形态为圆形,表面光滑,呈灰白色。菌株D-2在以TCP(50 mg/L)为唯一碳源MSM平板上的菌落形态如图1(a)所示。菌株D-2菌体长1~3 μm ,宽0.3~1 μm ,呈短杆状,微弯,两端呈钝圆形,无鞭毛,菌株之间排列分散,无一定排列形式,其在双束FIB扫描电子显微镜下的菌体形态如图1(b)所示。菌株D-2能以TCP为唯一碳源生长,说明其具有降解TCP的能力。

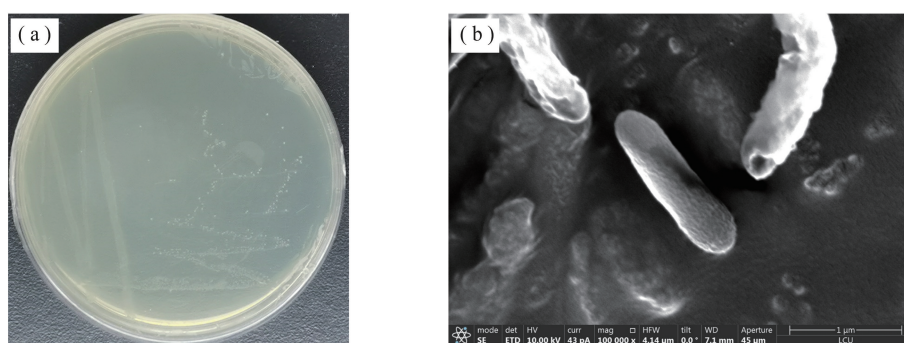


图1 (a) 菌株D-2的菌落形态; (b) 菌株D-2的菌体形态

Fig.1 (a) Colony morphology of Strain D-2; (b) cell morphology of Strain D-2

2.2 $\text{NanoFe}_3\text{O}_4$ 和Fe(II)离子对菌株D-2厌氧降解TCP的影响

在不添加铁的对照组A中,菌株D-2能在72 h内降解27.04 mg/L的TCP,降解率达54.08%(图2)。在 $\text{NanoFe}_3\text{O}_4$ 添加的B组中,菌株D-2在前21 h几乎不降解TCP,但在21 h到36 h时表现出了对TCP的快速降解,并最终在72 h内对50 mg/L TCP的降解率为40.20%。 $\text{NanoFe}_3\text{O}_4$ 的添加导致TCP降解率下降9.78%。然而,添加Fe(II)的C组显著加速了TCP的降解,其在6 h内对TCP的降解率达到了60%,降解效率提高了14.1%。在没有接菌,仅有TCP的空白对照组,随着时间的延长,TCP表现出了轻微的光解,这可能是由于多次取样造成的。以上结果表明, $\text{NanoFe}_3\text{O}_4$ 的添加抑制了菌株对TCP的厌氧降解,但Fe(II)却显著促进了TCP的厌氧降解。

2.3 NanoFe₃O₄ 和 Fe(II) 离子添加下基因表达水平分析

分别对不添加铁的对照组 A, NanoFe₃O₄ 添加组 B 和 Fe(II) 离子添加组 C 进行基因表达水平(lg FPKM + 1) 分析,并施行了层次聚类分析(Hierarchical clustering)。所得结果表明, A 组和 B 组在聚类方面呈现出相似的特征,但 C 组的样本聚类却与 A 和 B 两组存在显著差异。与 A 组进行对比分析发现, C 组的基因转录呈现出逆转的差异变化,即在 A 组中处于低表达聚类区的部分,在 C 组中转变为高表达聚类区,或者反之亦然[图 3(a)]。针对组间的差异表达基因(DEGs, log₂ 倍变化 > 0 且 P < 0.05) 以及共有差异表达基因进行比较分析发现, A 组与 B 组存在上调的差异表达基因 80 个,下调的差异表达基因 17 个; A 组与 C 组中存在上调的差异表达基因 1 365 个,下调的差异表达基因 1 265 个; B 组与 C 组存在上调的差异表达基因

1 260 个,下调的差异表达基因 1 341 个[图 3(b)]。共性差异表达基因的分析表明,这 3 个比较组各自所特有的差异表达基因数目分别为 337、17 和 288,而共有差异表达基因则为 28 个[图 3(c)]。进一步分析发现,显著 DEGs 主要集中在 A vs C 和 B vs C 比较组中,两个比较组中表达量显著上调的共有基因主要包括 50S 核糖体蛋白编码基因 *rplB/I/X/V* (分别编码 L2、L9、L24 和 L22 蛋白,参与核糖体组装、稳定性、翻译过程以及与其他核糖体成分的相互作用), 30S 核糖体蛋白编码基因 *rpsC/G* (分别编码 S3 和 S7 蛋白,参与 mRNA 的解码和翻译准确性和核糖体结构的稳定性), 延伸因子 G 编码基因 *fusA* (促进核糖体在 mRNA 上的转位,诱导核糖体构象变化,参与核糖体循环), DNA 结合转录抑制因子编码基因 *betI* (参与细菌的环境应激响应) 及触发因子基因 *tig* (作为分子伴侣辅助新生肽链的正确折叠,与核糖体结合,直接参与蛋白质合成的质量控制) 等,这些基因编码的蛋白主要是核糖体组分蛋白及蛋白质生物合成重要关键蛋白。以上结果表明, Fe(II) 离子的添加显著上调了核糖体蛋白相关基因的表达水平,可能最终促进了菌体内蛋白的合成。

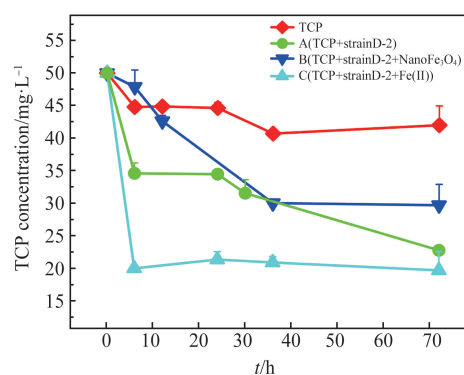
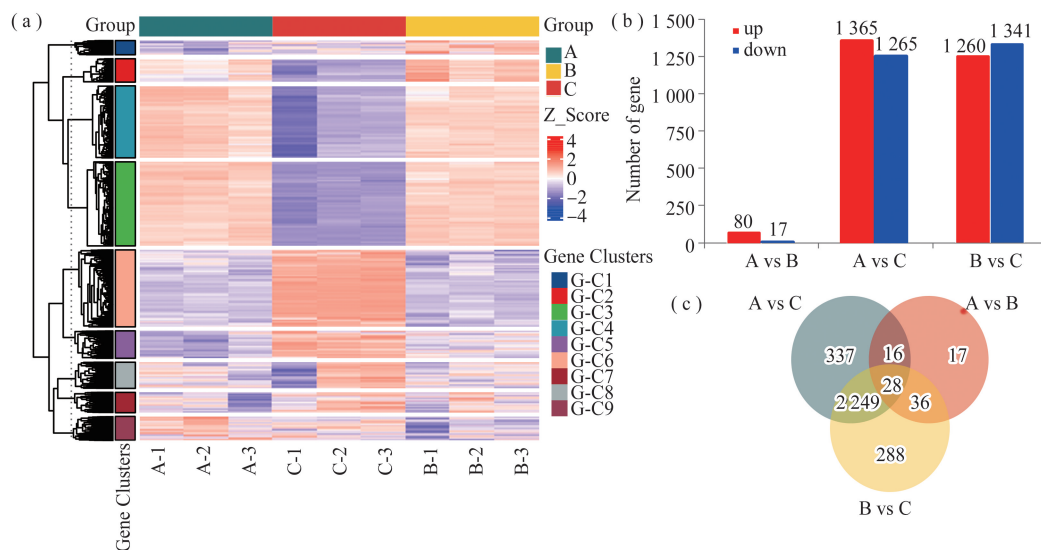


图 2 NanoFe₃O₄ 和 Fe(II) 离子添加下菌株 D-2 对 TCP 的厌氧降解

Fig. 2 Anaerobic degradation of TCP by strain D-2 with addition of NanoFe₃O₄ and Fe(II) ions



注:(a) 层次聚类分析;(b) 组间的差异表达基因;(c) 共性差异表达基因。

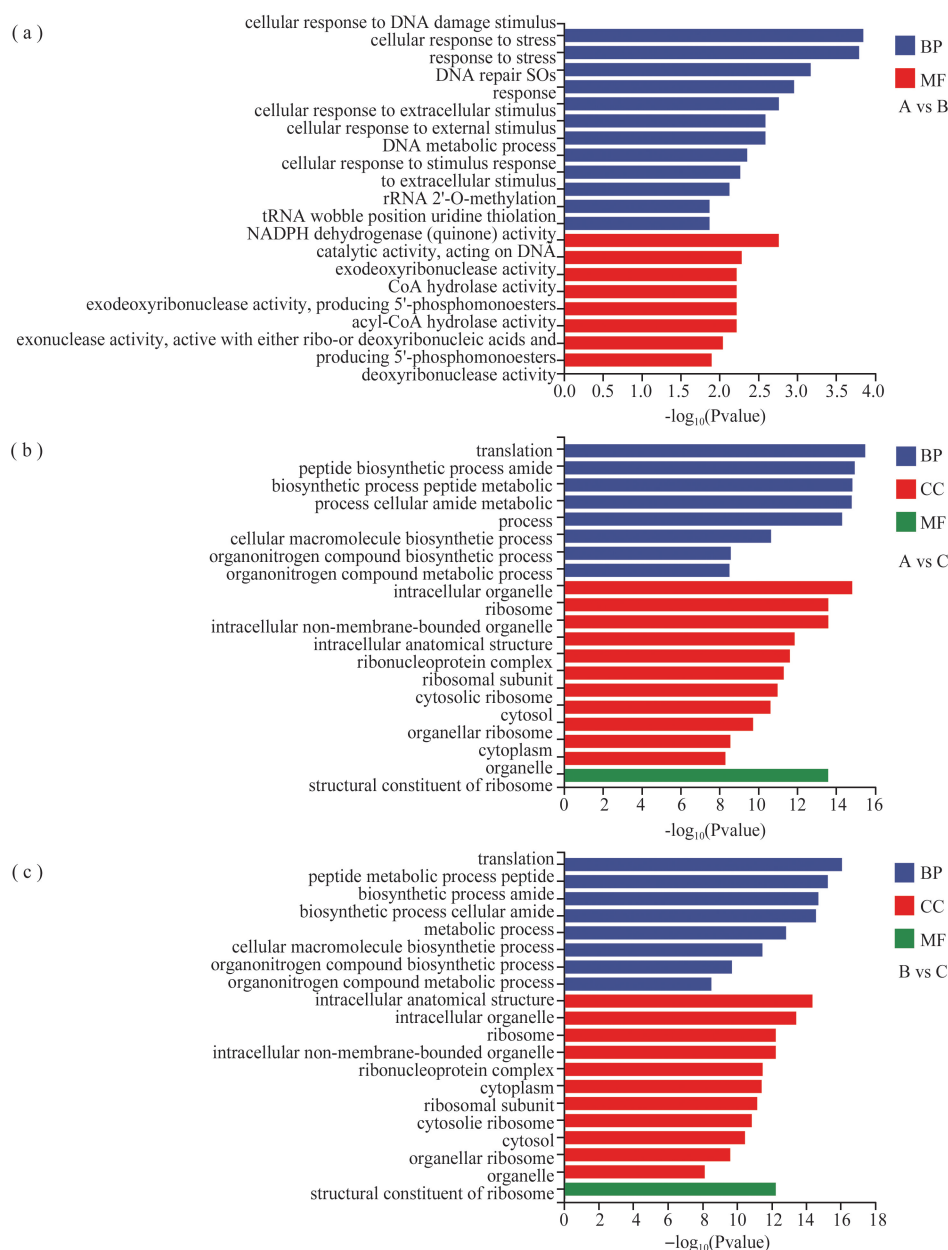
图 3 比较组差异表达基因的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of differentially expressed genes (DEGs) of comparison groups

2.4 差异基因的 GO 富集分析

利用基因功能分类 GO 数据库,对 3 个比较组显著差异表达基因(DEGs)的表达水平进行全面系统的评估(Padj < 0.05,图 4)。最终结果显示, A vs C 和 B vs C 比较组的 DEGs 富集度显著高于 A vs B 比较

组。三个比较组高丰度的 DEGs 都主要集中在细胞的组件作用(Cellular Component,CC)以及所参与的生物学过程(Biological Process,BP),但在基因分子功能(Molecular Function,MF)方面三个比较组略有差异。无铁组 A *vs* NanoFe₃O₄ 组 B,BP 类别主要富集于细胞对 DNA 损伤刺激的反应,细胞的胁迫反应以及 DNA 的修复等。CC 类别主要富集于 DNA 催化活性,核酸外切酶活性等。这些类别中显著上调的基因主要是核酸外切酶 III 编码基因 *xthA*、起 DNA 修复作用的 *recA*、*recN* 等(表 1)。但两者在 MF 类别中无差异。GO 富集分析表明,NanoFe₃O₄ 富集了与 DNA 损伤刺激、细胞胁迫以及 DNA 损伤修复相关的通路,并上调了 DNA 损伤应激和修复相关的基因,由此推测 NanoFe₃O₄ 可能触发了菌株的保护机制。A *vs* C 和 B *vs* C,BP 类别主要富集于翻译及多肽的生物合成等,CC 类别主要富集于细胞内的细胞器和核糖体组分,MF 主要富集于核糖体的结构组成[图 4(b,c)]。这些类别中显著上调的基因主要是一些与核糖体的组成单位及能量代谢相关的基因,如延伸因子 G 编码基因 *fusA*,核糖体蛋白编码基因 *rplB/I/X/V* 等(表 1)。即 Fe(II)富集了与蛋白质翻译及多肽合成相关的通路,并上调了与核糖体的组成单位及能量代谢相关的基因,这表明 Fe(II)可能激活了菌体的蛋白质合成和能量代谢。



注:(a) 对照组 A *vs* NanoFe₃O₄ 添加组 B;(b) 对照组 A *vs* Fe(II)添加组 C;(c) NanoFe₃O₄ 添加组 B *vs* Fe(II)添加组 C。

图 4 NanoFe₃O₄ 和 Fe(II)添加下菌株 D-2 差异基因的 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis of differentially expressed genes in strain D-2 with the addition of NanoFe₃O₄ and Fe(II)

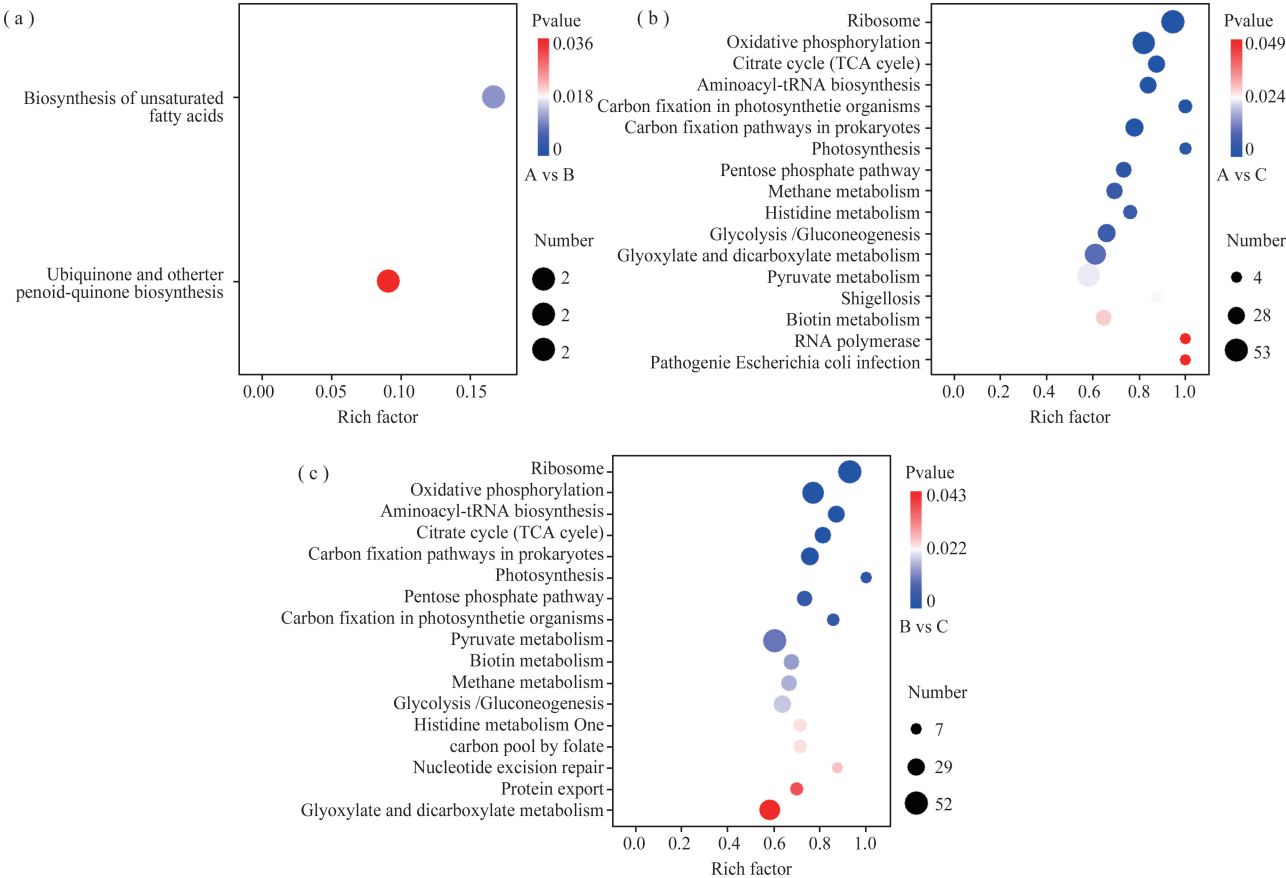
表 1 GO 富集分析比较实验组与空白组的显著 DEGs

Tab. 1 GO enrichment analysis comparing significant DEGs between the experimental group and the control group

调节	对照组	基因名字
Up genes	A vs B	<i>xthA, RecA/N, dinB, imuA, rsmI</i>
	A vs C	<i>fusA, rplB/I/X/V, icd, sdhA, sucC, gap, zwf, tkt, nuoG</i>
	B vs C	<i>infA, bioB/C/D/F, pdhA, lpdA, alc, pdhA, puuE, queC, ahpF, folE2</i>
Down genes	A vs B	NNL25_RS28595, NNL25_RS04200
	A vs C	<i>queC, alr, pdhA, hemW, murI, bioC, iscU, fdhD, phaZ, narH</i>
	B vs C	<i>fusA, rplB/E/I/X/V, rpsB/C//FG/S, glnA, rpoA, rpsF</i>

2.5 差异基因的 KEGG 代谢通路富集分析

基于差异表达基因的 KEGG 代谢通路富集分析,绘制各比较组的气泡图(图 5)。其结果显示, A vs B 比较组仅在不饱和脂肪酸的生物合成、泛醌、其他萘类醌生物合成以及卟啉代谢等几个方面存在轻微上调,而生物素代谢方面存在轻微下调。相比于无铁组 A, Fe (II) 添加的 C 组中核糖体、氧化磷酸化途径、三羧酸循环(TCA cycle)及氨酰 tRNA 合成途径等被显著富集。这些途径中存在着较高丰度的差异表达基因(表 2),如 50S 核糖体蛋白编码基因 *rplB/I/X/V*, 30S 核糖体蛋白编码基因 *rpsC/G*, 延伸因子 G 编码基因 *fusA*, 泛醇细胞色素 c 还原酶铁硫亚基 *petA* (负责将电子从泛醇传递到细胞色素 c, 同时将质子从线粒体基质泵到膜间隙), ATP 合酶亚基 *atpA/D/E/G* (负责合成 ATP 的关键酶), 异柠檬酸脱氢酶基因 *icd* (催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -酮戊二酸), 二氢硫酰脱氢酶基因 *lpdA* (催化二氢硫辛酰胺氧化为硫辛酰胺, 同时将 NAD 还原为 NADH), 琥珀酸辅酶 A 连接酶基因 *sucD* (催化琥珀酰辅酶 A 转化为琥珀酸) 等, 这些酶大部分包含铁离子或以铁离子为辅酶或辅基。由此推测, Fe(II) 离子促进了能量循环代谢通路中一些铁离子



注: (a) 对照组 A vs NanoFe₃O₄ 添加组 B; (b) 对照组 A vs Fe(II) 添加组 C; (c) NanoFe₃O₄ 添加组 B vs Fe(II) 添加组 C。

图 5 差异基因的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes

依赖和非依赖的酶的增强表达,加速了厌氧条件下菌株 D-2 体内的能量代谢,进而促进了 TCP 的快速降解。B vs C 比较组代谢通路的富集情况与 A vs C 比较组的比对分析相似,即 Fe(II) 添加的 C 组也显著富集了核糖体、氨酰 tRNA 合成、氧化磷酸化以及三羧酸循环等与蛋白质合成及能量代谢相关的通路。KEGG 代谢通路富集分析进一步证实了 Fe(II) 离子通过富集核糖体、TCA 循环及氧化磷酸化等能量代谢相关的通路,激活了菌体在厌氧条件下的能量代谢。

3 讨论

铜绿假单胞菌是一种具有多样代谢能力的好氧和兼性厌氧细菌^[11]。目前已有研究报道,该菌属不仅可以进行有氧呼吸,还能在低氧或无氧环境下通过发酵或其他电子受体生存并产生能量^[12-13],如硝酸盐、硫酸盐和铁离子。这些代谢特性使得它们能够在不同环境条件下降解多种芳香族有机污染物^[14-15]。本研究发现,铜绿假单胞菌 D-2 能在厌氧条件下降解氯代吡啶类化合物 TCP,这与之前的研究报道一致。

表 2 KEGG 代谢通路富集分析实验组与空白组的显著 DEGs

Tab. 2 KEGG pathway enrichment analysis of significant DEGs in the experimental group compared to the control group

调节	对照组	基因名字
Up genes	A vs B	<i>xthA, zur, phzA, tusA, recA, gtdA, amrR, ccoN</i>
	A vs C	<i>rplB/I/X/V, rpsC/G, fusA, lpdA, lcd, sucD, odhB, ppk2, petA, atpA/D/E/G</i>
	B vs C	<i>rplB/I/X/V, rpsC/G, fusA, lpdA, coxB, cyoA/B/C/E, ctaD, ccoN, trxB, gloA, hxsC, hemW, cif</i>
Down genes	A vs B	<i>nirM, NNL25_RS28600, NNL25_RS20735</i>
	A vs C	<i>cyoA/B/C/E, gcwP, lpdA, alr, coxB, fumC, gloA</i>
	B vs C	<i>AtpA/D, ppk2, sdhA, glnA, acnB, gcwP</i>

之前的研究已经证明,在好氧条件下,可溶性硝酸铁可能通过增强一些以铁离子作为辅因子的单加氧酶或双加氧酶的活性进而促进多环芳烃的降解,或通过刺激生物表面活性剂的产生来提高多环芳烃的生物利用度^[16]。最近有研究发现,Fe(III)和 Fe(II) 离子与赤红球菌(*Rhodococcus ruber strain L9*)的互作促进了芘的降解^[17]。铁离子与芘通过“阳离子- π ”的弱相互作用,降低了芘的电子密度,使芘更容易进入细胞并刺激细菌迅速调节其基因表达、RNA 转录和氨基酸编码,以合成大量与芘降解相关的蛋白,从而提高芘的降解效率。然而,厌氧条件下铁离子的促降解作用尚未见报道。本研究首次发现 Fe(II) 离子显著促进了铜绿假单胞菌对 TCP 的厌氧降解。Fe(II) 的添加显著富集了核糖体、TCA 循环通路、氧化磷酸化途径等能量代谢相关的通路,并通过上调表达这些能量代谢通路中包含铁离子或以铁离子为辅酶或辅基的酶的活性,加速了菌株 D-2 体内能量的生成,从而促进了 TCP 的快速厌氧降解。这与重金属离子 Cu(II) 和 As(V) 通过下调能量代谢通路中关键基因的表达,减弱体内能量生成,进而抑制微生物对卤代芳香族化合物降解的研究相吻合^[16]。

最近有研究报道, NanoFe₃O₄ 主要通过其导电特性介导微生物菌群间的直接电子传递进而促进脱氯代谢^[7],或通过其内部 Fe(III)/Fe(II) 的氧化还原循环增强了微生物菌群对卤代芳烃的缺氧或厌氧脱氯降^[18-19]。我们实验室前期也发现, NanoFe₃O₄ 也能显著促进微生物菌群对 TCP 的缺氧降解^[8]。然而,目前尚未发现 NanoFe₃O₄ 对单菌促降解的报道。本研究首次发现, NanoFe₃O₄ 对铜绿假单胞菌产生了抑制 TCP 厌氧降解的效果。NanoFe₃O₄ 触发了菌株 D-2 应急损伤修复系统,诱导了 DNA 损伤修复相关基因的上调表达,引发了菌株自身的保护机制。这可能与 NanoFe₃O₄ 自身的物理化学特性有关。本研究使用的是 40 nm 的 NanoFe₃O₄, 有研究报道粒径小于 50 nm 的纳米铁颗粒能穿过细胞膜,进入细胞的各个部位,如线粒体、DNA 等,从而造成氧化损伤^[8]。此外, NanoFe₃O₄ 进入细胞后还可能产生活性氧物质,进而导致 DNA 损伤^[20]。这些特性对菌株产生了损伤,进而抑制了菌株对 TCP 的降解。此外,单菌体系 NanoFe₃O₄ 并未发挥“电子导线”或“氧还循环”的作用,这可能与假单胞菌自身不具备进行电子传递的纤毛或胞外分泌蛋白有关。

4 结论

Fe(II)离子显著加速了铜绿假单胞菌 D-2 对 TCP 的厌氧降解,其在 6 h 内对 TCP 的降解率达到了 60%,降解效率提高了 14.1%。Fe(II)离子显著富集了 TCA 循环及氧化磷酸化等能量代谢相关的通路,并上调表达了这些通路中铁离子依赖的酶,激活了菌株 D-2 的能量代谢,进而促进了 TCP 的厌氧降解。NanoFe₃O₄ 富集了 DNA 损伤应急反应,细胞胁迫反应以及 DNA 损伤修复相关的通路,触发了菌株 D-2 的应急损伤修复系统,引发了菌株的保护机制,导致 TCP 降解率下降 9.78%,进而抑制了菌株 D-2 对 TCP 的厌氧降解。

参 考 文 献

- [1] 贾楠,岳彩旭,吕雪茹,等.一株 3,5,6-三氯-2-吡啶酚降解菌 *Delftia* sp. DFT 的分离鉴定及降解途径研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2024,37(2): 89-100.
- [2] 岳彩旭,贾楠,吕雪茹,等.一株 3,5,6-三氯-2-吡啶酚降解菌的全基因组测序及功能挖掘[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2023,36(4): 101-110.
- [3] WANG S H, ZHANG C, LÜ Z W, et al. Degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by a microbial consortium in dryland soil with anaerobic incubation[J]. Biodegradation, 2019, 30(2/3):161-171.
- [4] 岳彩旭,贾楠,王圣惠. 3,5,6-三氯-2-吡啶酚的微生物降解及催化机制综述[J]. 环境科学与技术,2022,45(11):10-16.
- [5] XUE L L, FENG X, XU Y, et al. The dechlorination of pentachlorophenol under a sulfate and iron reduction co-occurring anaerobic environment[J]. Chemosphere, 2017, 182(4):166-173.
- [6] DHAR K, SUBASHCHANDRABOSE S R, VENKATESWARLU K, et al. Anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: a comprehensive review[J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2020, 251:25-108.
- [7] LEITÃO P, AULENTA F, ROSSETTI S, et al. Impact of magnetite nanoparticles on the syntrophic dechlorination of 1, 2-dichloroethane[J]. Science of the Total Environment, 2018, 624:17-23.
- [8] XIAO L L, LIU F H, KUMAR P S, et al. Rapid removal of chloramphenicol via the synergy of *Geobacter* and metal oxide nanoparticles[J]. Chemosphere, 2022, 286(13): 131943.
- [9] ZHANG C, WANG S H, LÜ Z W, et al. NanoFe₃O₄ accelerates anoxic biodegradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol[J]. Chemosphere, 2019, 235:185-193.
- [10] LIU J, ZHANG A N, LIU Y J, et al. Analysis of the mechanism for enhanced *pyrene biodegradation* based on the interactions between iron-ions and *Rhodococcus ruber* strain L9[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 225: 112789.
- [11] SILBY M W, WINSTANLEY C, GODFREY S A C, et al. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2011, 35(4):652-680.
- [12] XING B B, LI J, LI L L, et al. Promoting denitrification via high electron conversion ratio in the iron valence cycle: prospects for *Pseudomonas* sp. JM-7 application in environmental engineering[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 487:150495.
- [13] CAO D, CHEN X Q, NAN J, et al. Biomolecular insights into the inhibition of heavy metals on reductive dechlorination of 2,4,6-trichlorophenol in *Pseudomonas* sp. CP-1[J]. Water Research, 2023, 247:120836.
- [14] TANG L Y, YANG J, LIU X N, et al. Biodegradation of phenanthrene-Cr(VI) co-contamination by *Pseudomonas aeruginosa* AO-4 and characterization of enhanced degradation of phenanthrene[J]. Science of the Total Environment, 2024, 918:170744.
- [15] BOSMA T, DAMBORSKÝ J, STUCKI G, et al. Biodegradation of 1,2,3-trichloropropane through directed evolution and heterologous expression of a haloalkane dehalogenase gene[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 68(7):3582-3587.
- [16] ZHANG N C, DAN A, CHAO Y Q, et al. Mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons degradation in the rhizosphere of *Phragmites australis*: organic acid co-metabolism, iron-driven, and microbial response[J]. Environmental Pollution, 2023, 327: 121608.
- [17] LIU J, ZHANG A N, LIU Y J, et al. Analysis of the mechanism for enhanced *Pyrene biodegradation* based on the interactions between iron-ions and *Rhodococcus ruber* strain L9[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 225(10):112789.
- [18] FAN Q Y, WANG L L, FU Y, et al. Iron redox cycling in layered clay minerals and its impact on contaminant dynamics: a review[J]. Science of The Total Environment, 2023, 855: 159003.
- [19] XU H, WANG M W, HEI S Q, et al. Neglected role of iron redox cycle in direct interspecies electron transfer in anaerobic methanogenesis: inspired from biogeochemical processes[J]. Water Research, 2024, 262:122125.
- [20] ANSARI M O, PARVEEN N, AHMAD M F, et al. Evaluation of DNA interaction, genotoxicity and oxidative stress induced by iron oxide nanoparticles both in vitro and in vivo: attenuation by thymoquinone[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):6912.

(责任编辑:刘庆松)