

一株耐盐菌的筛选、鉴定及对苯酚和镉耐性特征

刘亚楼, 樊霆*, 刘如, 潘丹丹, 郭艺慧, 罗娜, 叶文玲, 陈海燕, 何冰

(安徽农业大学资源与环境学院, 农田生态保育与污染防控安徽省重点实验室, 合肥 230036)

摘要: 为了研究高盐环境下菌株生长情况及对污染物的耐性特征, 从危险废物填埋场渗滤液中筛选得到一株耐盐菌, 编号为 WS-1。通过对其形态进行观察, 以及革兰氏染色和 16S rDNA 基因序列分析, 可以鉴定该菌株为葡萄球菌属 (*Staphylococcus* sp.)。通过调节培养基的盐度、pH, 研究其对 WS-1 生长的影响, 并考察 WS-1 对苯酚和镉的耐受性。确定 WS-1 在盐质量分数为 5%~10%、pH 为 7.0、温度 30℃ 时生长最好。WS-1 在苯酚浓度 0~1 000 mg·L⁻¹ 的范围内均可很好生长, 低浓度苯酚能促进菌株生长, 高浓度苯酚会对菌株生长产生抑制作用, 72 h 内, 菌株对苯酚的降解率可达 38% 左右。在 Cd²⁺ 浓度在 1~5 mg·L⁻¹ 时, WS-1 生长不受影响, 当 Cd²⁺ 浓度达到 10 mg·L⁻¹, 抑制作用明显, 延长 WS-1 生长周期。低浓度时 WS-1 对 Cd²⁺ 去除率在 90% 左右, 高浓度 Cd²⁺ 去除率在 40% 左右, 效果不明显。WS-1 可为高盐度含有机废物和重金属废水生物处理提供菌株资源。

关键词: 耐盐菌; 16S rDNA; 生长特性; 苯酚; 镉

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)03-0402-07

Screening, identification and tolerance to phenol and cadmium of a salt-tolerant strain

LIU Yalou, FAN Ting, LIU Ru, PAN Dandan, GUO Yihui, LUO Na, YE Wenling, CHEN Haiyan, HE Bing

(Anhui Province Key Laboratory of Farmland Ecological Conservation and Pollution Prevention,

School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: In order to study the growth of a strain and its tolerance to pollutants in high salt environment, a salt-tolerant strain was screened from a hazardous waste landfill leachate, numbered WS-1. By observing its morphology, as well as Gram staining and 16S rDNA gene sequence analysis, the strain was identified as *Staphylococcus* sp. Effects of pH and salinity on the growth and the tolerance to phenol and cadmium of strain WS-1 were investigated, the results showed that the optimum conditions of WS-1 were salinity 5%~10%, pH 7.0, 30°C. The strain WS-1 could grow well in the range of phenol concentration 0-1000 mg·L⁻¹, which growth was promoted at low-concentration and inhibited at high-concentration of phenol. The degradation rate of phenol by WS-1 was at about 38% in 72 h. When the concentration of Cd²⁺ was 1~5 mg·L⁻¹, the growth of WS-1 was not affected. However, at high concentration of Cd²⁺ (10 mg·L⁻¹), the inhibitory effect was obvious and the growth cycle was prolonged of WS-1. At low concentration, the removal rate of Cd²⁺ was about 40%, at high concentration, the removal rate of Cd²⁺ was about 40% which not obvious. So, WS-1 shows the potential of application in biological treatment of high salinity wastewater including organic and heavy metal pollutions.

Key words: salt-tolerant bacteria; 16S rDNA; growth characteristics; phenol; cadmium

随着我国经济的快速发展, 各种生活以及工业固体废物越来越多。当前垃圾焚烧、高温堆肥、土地填埋是应用较为广泛的固体废物处理方法。土地填埋具有方便、技术成熟、价格便宜等优点, 但填

埋场渗滤液处理是该方法的难题。垃圾渗滤液具有化学需氧量 (COD)、重金属、氨氮、盐度高等特点, 使用常规处理效果不明显。目前主要使用物理化学的方法进行处理。从高盐环境筛选的耐盐菌, 除了

收稿日期: 2019-09-11

基金项目: 安徽省科技重大专项 (18030701186), 安徽省高校自然科学基金项目 (KJ2019A0203), 农田生态保育与污染防控安徽重点实验室开放基金 (FECPP201903) 和大学生创新训练项目 (XJDC2018453) 共同资助。

作者简介: 刘亚楼, 硕士研究生。E-mail: yalouliu@qq.com

* 通信作者: 樊霆, 博士, 副教授。E-mail: fanting@ahau.edu.cn

在工业生产的生物技术中具有重要地位^[1], 还可应用于治理工业生产中污染问题。在海水淡化、危险工业废水处理、环境生物修复等方面, 耐盐菌也具有广阔的应用前景。高盐废水对传统生物处理产生明显的抑制作用, 耐盐菌可强化高盐废水生化处理, 廖焰焰等^[2]从医药废水活性污泥中, 采用逐步提高盐浓度的方法, 驯化、筛选并分离出一株能耐 18% NaCl 的高耐盐菌株, 用于高盐医药废水处理, COD 去除率达到 73%; 王丽娟等^[3]从某煤化工企业生产污水中分离得到一株耐盐菌, 处理实际煤化工含盐废水 24 h, COD 去除率达到 93%; 张岚等^[4]从城市污水处理厂活性污泥中驯化分离得到 2 株能高效降解模拟高盐生活污水中有机物的菌株, 复合菌悬液反应 3 d 后对有机物的去除率达到 82%; 黄中子等^[5]从青海察尔汗盐湖的沉积物中分离出 1 株耐盐苯酚降解菌, 可在 5%~12% 的高盐条件下有效去除高浓度苯酚。因此, 筛选耐盐菌株并研究其应用十分关键。樊霆等^[6]从危废填埋场渗滤液中分离纯化得到 1 株极端耐盐菌, 研究其耐盐特性和耐盐机制。高盐环境中嗜盐细菌可降解苯酚^[7], 利用微生物技术, 能够很好改善传统生物处理含酚废水过程中高盐含量对其抑制问题^[8]。当前对于耐盐菌的研究集中在高盐废水处理和含盐环境有机物去除等方面, 而对高盐环境去除镉 (Cd) 的研究较少。Cd 是一种有毒的重金属, 可对生物系统中产生累积毒性, 造成生物生长迟缓和生物体器官系统毒性^[9]。微生物对重金属的耐受性是其去除重金属的基础^[10]。本研究从危废填埋场渗滤液中筛选出 1 株耐盐菌株, 对菌株进行鉴定及其生长特性、耐盐性, 对苯酚、镉的耐受性和去除能力等方面进行研究, 为该菌株在高盐环境中有机物和重金属去除的研究提供支持。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 从安徽浩悦环境科技有限公司危险废物填埋场的渗滤液中分离, 多次纯化获得。

1.1.2 SC 固态培养基 蛋白胨 10.0 g, 牛肉膏 3.0 g, NaCl 5.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.6, 加琼脂 15~20 g·L⁻¹。

1.1.3 LB 液态培养基 蛋白胨 10.0 g, 酵母粉 5 g, 氯化钠 5 g, pH 7.0。

所有培养基使用时均需在灭菌锅中, 以 120℃ 灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 耐盐菌株的分离纯化 从填埋场渗滤液水面

下约 10 cm 处取得样品约 10 mL, 放入灭过菌的 50 mL 离心中立即带回实验室。取 1.0 mL 样品用无菌水采用 10 倍梯度稀释法稀释 10 倍。离心后将上清液分别制成渗滤液浓度为 10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵ 的稀释液, 然后将稀释液分别涂布到灭菌过的 SC 固态培养基平板上, 在 30℃ 培养箱中培养 7 d。从平板上反复挑取单菌落接种到盐质量分数为 5%、10%、15% 和 20% 的 SC 固态培养基上。然后进行多次纯化接种到斜面培养基上进行保存, 观察纯化后的菌株菌落, 并用电子显微镜和电镜扫描分析菌落形态。

1.2.2 菌株的鉴定 菌株的显微形态、菌落形态、革兰氏染色、生长 pH 值范围、耐受盐质量分数按通用试验方法进行。对菌株做 16S rDNA 鉴定, 在培养基中挑取菌体于 50 μL TaKaRa Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR(Code No.916 4)中变性后离心的上清液作为模板。反应条件为 80℃, 15 min。使用 TaKaRa 16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit(Code No.RR176), 进行 PCR 扩增目的片段。然后进行琼脂糖凝胶电泳, 使用 TaKaRa Mini BEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver.4.0(Code No.976 2)切胶回收目的片段并进行 DNA 测序。DNA 测序由宝生物工程(大连)有限公司完成, 以 SEQ Forward、SEQ Internal 和 SEQ Reverse 为引物进行。将测序后的 16S rDNA 基因序列采用 BLAST 在 GenBank 进行序列同源性比对, 然后根据 16S rDNA 基因序列同源性分析结果, 选取相关模式菌株的 16S rDNA 基因序列, 采用 Neighbor-joining 法构建系统发育树。

1.2.3 菌悬液制备及培养条件 将生存优良的菌株接种于 LB 液态培养基中, 培养 24 h, 根据菌株生长情况将培养基以 4 200 r·min⁻¹ 离心 10 min。清洗过菌体后将其重悬到无菌水, 通过稀释将其制成浓度在 1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹ 左右的菌悬液, 4℃ 冷藏保存备用。

1.2.4 菌株 WS-1 的生长特性实验 分别在不同的 NaCl 质量分数 (0、5%、10%、15%), 不同 pH 值 (4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0), 接种 2% 培养基体积的菌悬液, 振荡培养 2 d。取在不同生长期的菌液, 使用分光光度计测定菌液的 OD₆₀₀ (扣除培养基 OD₆₀₀ 值)。制成 NaCl 质量分数为 0、5%、10%、15% 的 LB 液态培养基, 接种 2% 培养基体积的菌悬液, 然后在培养箱中震荡培养 2 d。每隔 3 h 取一次样, 使用分光光度法测定菌液的 OD₆₀₀。通过酸碱调节 LB 液态培养基的 pH, 使其 pH 分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0, 接种 2% 培养基体积的菌悬液, 振荡培养 24 h 后取样测定培养基的 OD₆₀₀。以上菌

株培养条件为 30℃、转速为 150 r·min⁻¹，每组设 3 个平行样。

1.2.5 菌株 WS-1 对苯酚耐受性实验 LB 培养基中加入已经灭菌处理的苯酚储备液，每个样品设置 3 个平行，使得培养基内苯酚浓度分别为 0、50、100、300、500、700、1 000 mg·L⁻¹，120℃ 灭菌 30 min，备用。将菌株 WS-1 菌悬液按照 2% 培养基体积的接种量接入，摇床中培养，测定对数生长期的 OD₆₀₀。培养条件为 30℃，150 r·min⁻¹。

1.2.6 菌株 WS-1 对苯酚降解能力研究 LB 培养基中加入灭菌处理的苯酚储备液，每个样品设置 3 个平行，使得培养基内苯酚浓度均为 100 mg·L⁻¹，备用。将菌株 WS-1 菌悬液按照 2% 培养基体积的接种量接入，在 30℃，150 r·min⁻¹ 的摇床中培养 72 h，每隔 12 h 测定一次培养基中苯酚浓度，计算苯酚的降解率 D_p (%)：

$$D_p = \frac{C_{0p} - C_{ep}}{C_{0p}} \times 100\% \quad (1)$$

其中 C_{0p} (mg·L⁻¹) 是培养基中初始苯酚浓度， C_{ep} (mg·L⁻¹) 是测量时的苯酚浓度。

1.2.7 菌株 WS-1 对 Cd²⁺ 的耐受性实验 将灭菌的 Cd²⁺ 溶液加入到培养基中，使各培养基中 Cd²⁺ 的终浓度分别为 1、5、10 mg·L⁻¹，并接种 2% 的 1.2.3 中活化菌株悬液，放入 30℃ 恒温摇床内，150 r·min⁻¹ 培养 48 h，然后隔 24 h 用分光光度计测 OD₆₀₀ 值，来反映菌株的生长情况，每个处理设置 3 个平行。

1.2.8 菌株 WS-1 对镉的去除能力 配置 Cd²⁺ 浓度为 0、5、10 mg·L⁻¹ 的 LB 培养基，向各培养基中接种 2% 的活化菌株悬液，放入 30℃ 的恒温摇床内，150 r·min⁻¹ 培养 48 h，每隔 12 h 从摇床中取出培养基，用于分析 OD₆₀₀ 和培养基中残留的 Cd²⁺。将每次取得培养基通过 0.45-μm 醋酸纤维素膜过滤，采用火焰原子吸收分光光度计法测量溶液中 Cd²⁺ 浓度。每组设 3 个重复。Cd²⁺ 的去除率 R_c (%) 计算如下：

$$R_c = \frac{C_{0c} - C_{ec}}{C_{0c}} \times 100\% \quad (2)$$

其中 C_{0c} (mg·L⁻¹) 是初始 Cd²⁺ 浓度， C_{ec} (mg·L⁻¹) 是平衡时的 Cd²⁺ 浓度。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定结果

2.1.1 菌株 WS-1 的形态学特征 耐盐菌株 WS-1 在 SC 固体培养基上，菌株能正常生长，肉眼观察菌株颜色为淡黄色；其中菌株的菌落较小，可明显看到单菌落为圆形，且较为光滑，菌落直径在 0.5~

1 mm (图 1)。在光学显微镜下观察细胞，看到菌株形态呈球状，通过革兰氏染色显示呈阳性 (图 2)，在扫描电镜下 (图 3 和图 4) 具有明显的球状特征，由此可确定 WS-1 为球菌。



图 1 菌株 WS-1 的菌落特征

Figure 1 The colony characteristics of strain WS-1

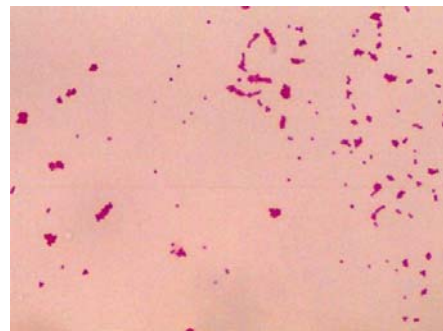


图 2 菌株 WS-1 的革兰氏染色 (1 000×)

Figure 2 The Gram-staining of strain WS-1 (1 000×)

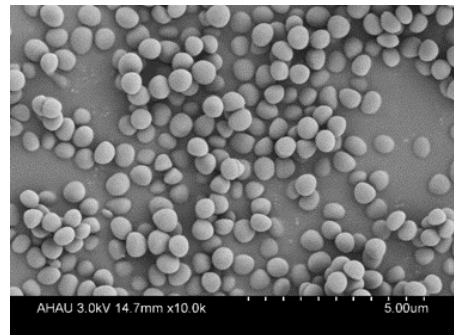


图 3 菌株 WS-1 扫描电镜图片 (10 000×)

Figure 3 The SEM Photographs of strain WS-1 (10 000×)

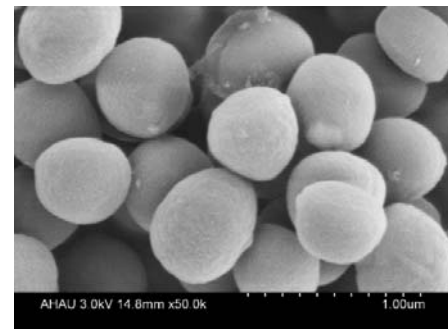


图 4 菌株 WS-1 扫描电镜图片 (5 0000×)

Figure 4 The SEM Photographs of strain WS-1 (5 0000×)

2.1.2 WS-1 的 16s rDNA 鉴定 对 WS-1 菌株进行 16S rDNA 测序分析的分析结果显示, 菌株 WS-1 的基因片段有 1 467 bp。将该序列使用 Blast 软件, 在 Gen-Bank 中进行同源性分析, 分析结果表明该序列与 *Staphylococcus sciuri* strain DSM 20345 的 16S rDNA 序列的同源性为 99%, 这可以说明两种菌株

亲缘关系相当接近。用 MEGA 软件采用 *Neighbor-joining* 法构建系统发育树 (图 5), 结果表明该菌株与 *Staphylococcus sciuri* strain DSM 20345 的 16S rDNA 序列同源性高达 99%。综合形态, 以及 16S rDNA 序列比对结果可确定该菌株属葡萄球菌属。

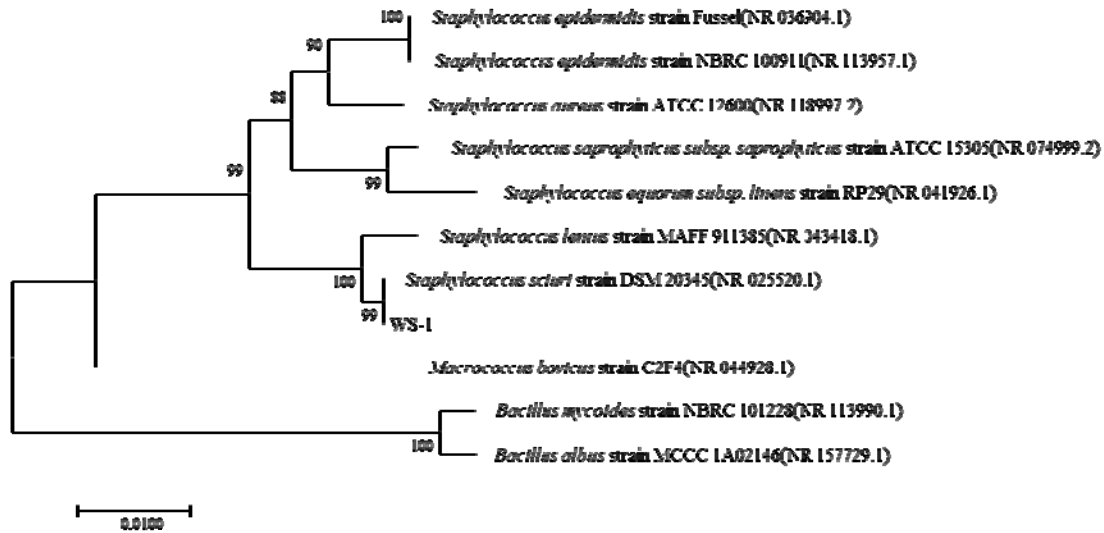


图 5 菌株 WS-1 的 16S rDNA 基因序列系统发育树

Figure 5 Phylogenetic tree of strain WS-1 based on 16S rDNA gene sequence

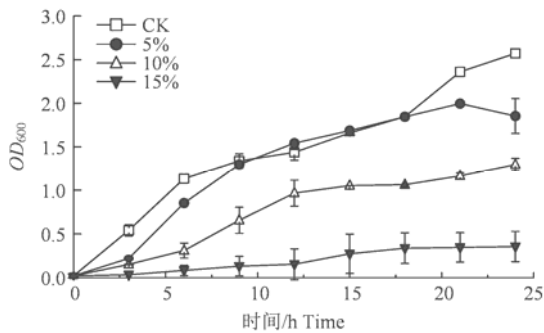


图 6 不同盐质量分数下 WS-1 的生长曲线

Figure 6 Growth curve of strain WS-1 in different salinity

2.2 WS-1 的生长特性

2.2.1 不同盐质量分数对菌株 WS-1 生长的影响

在盐质量分数 0~15% 范围内, 菌株 WS-1 均能生长。通过图 6, 可清楚看到不同盐质量分数下菌株 WS-1 的生长趋势。当盐质量分数为 0 时, WS-1 在 3~9 h 处于对数生长期; 当有盐度时, 0~3 h 为停滞期, 在 3~10 h 处于对数生长期。在不同盐质量分数的培养基中, 菌株 WS-1 的生长量均减少。随着盐质量分数的增加, 对 WS-1 生长出现了明显的抑制作用, 菌株生长量减少, 生长速度减缓; 当盐质量分数达到 15%, 菌株生长量减缓较为明显。随着盐度增加, 停滞期、对数期时间延长, 稳定期缩

短, 生长情况逐渐减弱, 这可能是由于高盐度导致高渗环境导致细胞脱水, 导致微生物发生致死的质壁分离, 并对微生物酶活性进行抑制, 导致生长量降低在开始阶段^[11]。高盐度会抑制菌株的生长, 但菌株具有较强的适应高盐环境的能力。

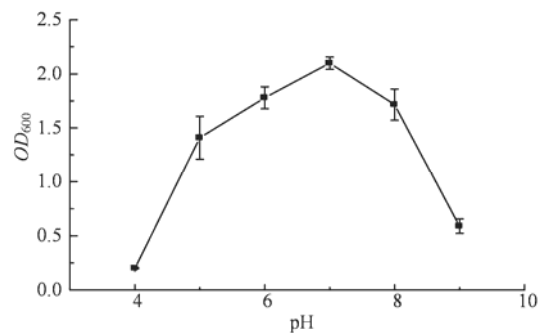


图 7 pH 对 WS-1 生长的影响

Figure 7 Effects of pH value on the growth of strain WS-1

2.2.2 不同 pH 对菌株 WS-1 生长的影响

通过图 7, 在 pH 值 4.0~9.0 范围内, 菌株 WS-1 均能生长。在 pH 值在 4.0~7.0 范围内, 菌株生长量随 pH 值增加而增加, 这可能是因为 pH 影响了微生物体内酶的活性和分泌, 过高或过低的 pH 都会使微生物生长受到抑制^[12]。因此最有利于菌株 WS-1 生长的 pH 在 7.0 左右。

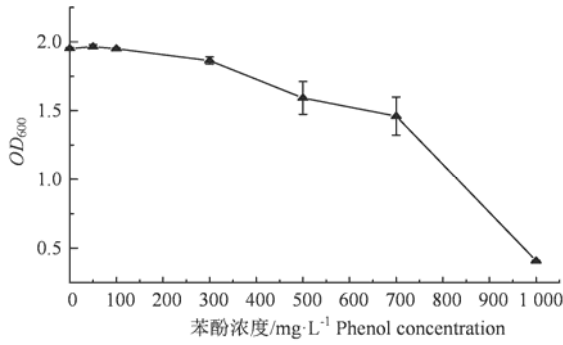


图 8 苯酚浓度对菌株生长的影响

Figure 8 Influence of phenol concentration to the cell growth

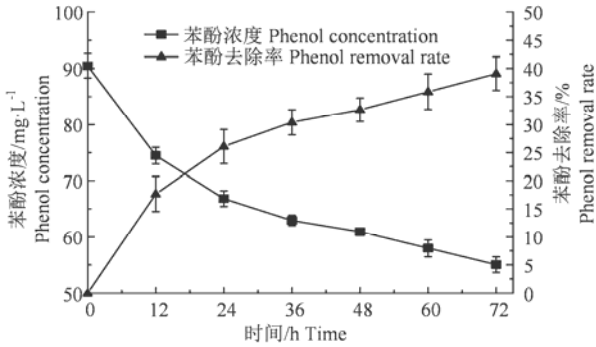


图 9 WS-1 苯酚降解率

Figure 9 The phenol degradation rate of WS-1

2.3 菌株 WS-1 对苯酚的耐受性能

图 8 为菌株 WS-1 对不同苯酚浓度的耐受情况, 当苯酚浓度较低时 (<50 mg·L⁻¹), 苯酚可作为碳源, 对菌体生长有一定的促进作用。随着苯酚浓度的逐渐增高, 菌株悬液 OD₆₀₀ 逐渐减小, 苯酚对菌体生长由促进变为抑制, 生长量减小; 而当苯酚含量很高时 (>300 mg·L⁻¹), 苯酚抑制菌株生长情况较为明显, 生长量锐减。当苯酚含量达到 1 000 mg·L⁻¹

时, 菌株仅少量生长, 菌株生长速率下降, 可能是由于高浓度底物对菌株生长产生抑制作用, 菌株的生长速率下降, 从而影响了菌株对苯酚的代谢。Ceylan 等^[13]通过对 1 株 *Halomonas* sp. AAD12 的研究发现, 在该菌株适应苯酚过程中, 蛋白质组学学会发生变化, 使得最高能耐受苯酚质量浓度升高, 在 800 mg·L⁻¹ 左右, 但是更高苯酚含量会阻碍菌株的生长甚至死亡。所以菌株对苯酚的耐受能力对生物法处理苯酚的研究具有较大的意义。

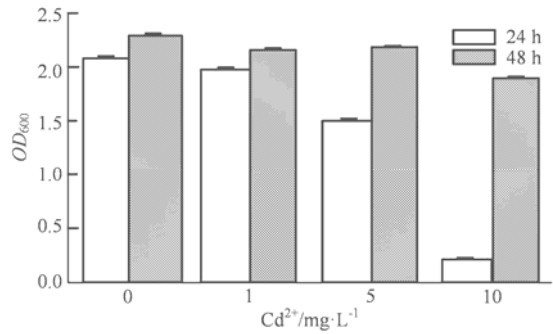


图 10 不同浓度 Cd²⁺对 WS-1 生长的影响

Figure 10 Effects of different concentrations of Cd²⁺ on the growth of WS-1

2.4 菌株 WS-1 对苯酚降解能力

由图 9 可知, 苯酚浓度随着时间慢慢降低, 72 h 内, 菌株 WS-1 对苯酚降解率在 38%左右。在初始 24 h 内, 随着时间增加, 苯酚降解率随之增加, 这应该是菌株生长需要消耗有机物, 部分苯酚用于菌株生长被消耗。随着菌株生长速度的放慢, 苯酚浓度下降速度放缓, 并最终保持在一个平衡浓度, 说明菌株对苯酚有一定的降解能力。

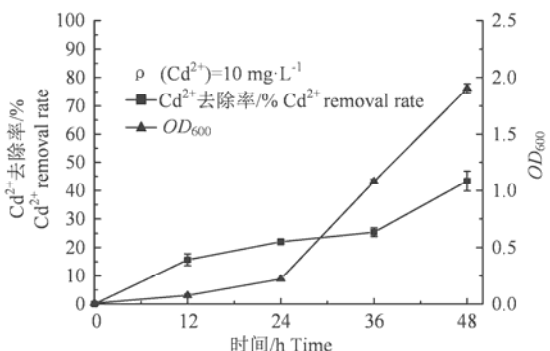
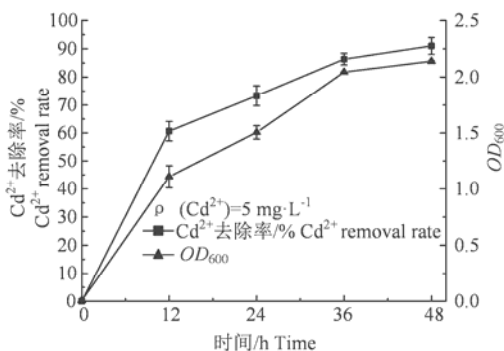


图 11 初始 Cd²⁺浓度对 WS-1 生长和 Cd²⁺去除率的影响

Figure 11 Effects of initial Cd²⁺ concentration on WS-1 growth and Cd²⁺ removal rate

2.5 菌株 WS-1 对 Cd²⁺耐受性能研究

由图 10 可看到, WS-1 在不同 Cd²⁺浓度下的生长情况, 在 Cd²⁺浓度在 0~1 mg·L⁻¹ 时, 对菌株生

长几乎没有影响。当 Cd²⁺浓度在 5 mg·L⁻¹ 时, 对比空白可知对菌株生长产生了一定的抑制作用, 当 Cd²⁺浓度达到 10 mg·L⁻¹ 时, 菌株生长量明显下降。

在 24 h 内, 随着 Cd^{2+} 浓度的升高, WS-1 的生长量随之直线下降, 但在 48 h 内, 菌株的生长量有所增加, 但仍低于空白对照生长量, 这说明高浓度会使得菌株生长周期后延, 并对菌株生长产生一定的毒害作用。

2.6 菌株 WS-1 对 Cd^{2+} 的去除能力

通过对菌体 OD_{600} 和 Cd^{2+} 浓度的检测, 得出不同 Cd^{2+} 浓度下菌株生长状况和对 Cd^{2+} 的去除能力 (图 11)。当 Cd^{2+} 初始浓度设在 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 菌株对 Cd^{2+} 的去除能力较强, 开始 12 h 菌株对 Cd^{2+} 的去除率达到 50% 左右, 在 48 h 内, 菌株对 Cd^{2+} 的去除达到 90%, 菌株对 Cd^{2+} 有较好的去除效果。当 Cd^{2+} 浓度在 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右时, 初始 36 h 对 Cd^{2+} 的去除能力降低, 这可能是因为浓度较高, 导致菌株的生长周期后延, 对数生长期延后, 在 48 h 内, 菌株对 Cd^{2+} 的去除率达到 50% 左右, 这说明 WS-1 对 Cd^{2+} 有一定的去除能力。但高浓度 Cd^{2+} 去除效果明显低于低浓度, 可能是因为对菌株产生一定毒害作用造成的。

3 讨论

危废渗滤液通常含有各种重金属和有机物, 本研究从危险废物填埋场垃圾渗滤液中获得一株耐盐菌 WS-1 菌株, 16S rDNA 基因序列相似性搜索和系统发育地位的分析结果表明, 菌株 WS-1 与 *Staphylococcus* sp. 关系较为密切, 结合形态观察, 该菌株为葡萄球菌 (*Staphylococcus* sp.)。本研究筛选的 *Staphylococcus* sp. WS-1 菌株可以耐受 0~15% 的 NaCl, 最适宜的生长盐度为 5%~10%。金黄色葡萄球菌具有耐盐能力。陈俊等^[14] 研究金黄色葡萄球菌耐盐机理表明, 金黄色葡萄球菌的耐盐生长特性与其细胞壁合成和盐应激蛋白表达有关, 并伴随有菌落、菌体形态的变化。在高盐环境下, 细菌用于生长繁殖能量较少, 是因为需要消耗能力调整自身代谢, 导致自身生长缓慢^[15]。

苯酚及其同源有机物是工业废水中主要的污染物, 因此, 对废水中的苯酚及其同源有机物进行处理, 对于人类健康和环境保护具有重要意义^[16]。本实验筛选耐盐菌 WS-1 对苯酚具有较好的耐受性。当培养基中苯酚浓度 $<100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 苯酚能够充当碳源, 促进菌株生长, 随着苯酚浓度逐渐增大苯酚对菌体生长逐渐转为抑制, 当大苯酚浓度 $>1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 苯酚对菌株生长的抑制作用明显, 这与文献描述的一致^[17]。从内蒙古巴丹吉林沙漠盐湖底泥中筛选出的一株嗜盐苯酚降解菌株与表皮葡萄球

菌 (*Staphylococcus caprae* ATCC 35538) 的相似性达到 99%, 在苯酚浓度 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 盐浓度 10%, pH 8.0, 温度 30°C , 添加适量外加碳源和有机复合氮源时, 菌株生长和对苯酚的降解达到最大, 其生物量 OD_{600} 为 1.6 左右, 苯酚降解率为 83%^[18]。本研究筛选的 WS-1 在 pH 为 7.0, 盐质量分数在 0~10% 的 NaCl 质量浓度环境下生长最佳, 在 72 h 内, 菌株 WS-1 对苯酚降解率可达 38%, 对苯酚具有较好去除效果, 说明从高盐环境中筛选耐盐苯酚降解菌株是可行的。温洪宇等^[19] 从苯酚废水活性污泥中筛选出 4 株苯酚降解菌, 苯酚降解率随盐度升高而降低。从察尔汗盐湖中筛选的中度嗜盐菌 *Acidobacterium* sp. 和 *Chloroflexus* sp. 在 $1.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 和 $350 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚下实现最佳降解, 苯酚生物降解途径为生物对酚羟化酶的初始氧化攻击, 随后儿茶酚 1,2-双加氧酶和儿茶酚 2,3-双加氧酶的环裂变, 从而实现苯酚的降解^[20]。

菌株 WS-1 在低浓度下对 Cd 具有较好的去除效果, 但高浓度 Cd 消耗了菌株生长的能量, 使得 WS-1 生长周期被延缓。菌株吸附重金属要消耗能量, 属于主动吸附, 通过细胞内部发生酶促作用, 或者细胞壁上的官能团与重金属形成化学键, 从而进行生物转运、生物沉淀和生物积累等活动^[21]。菌株对镉的去除随着时间延长而增加, 镉的去除率符合菌株生长实际状况^[22]。盐胁迫下, 部分菌株如 *Pichia kudriavzevii* 对镉的耐受性有明显的交叉保护作用, 改善了菌株对镉的耐受性^[10]。另外, 还可研究该菌株高盐环境下废水处理、石油污染海水和土壤修复的应用。本研究可为探索该菌的耐盐机理以及其他应用方面提供理论以及研究依据。

参考文献:

- [1] YIN J, CHEN J C, WU Q, et al. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology[J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(7): 1433-1442.
- [2] 廖焰焰, 王帅, 杨林, 等. 一株高效耐盐菌的筛选鉴定及污水处理特性研究[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(9): 3867-3873.
- [3] 王丽娟, 钱子雯, 沈海波, 等. 一株耐盐菌的分离及其降解特性[J]. *化工进展*, 2017, 36(3): 1047-1051.
- [4] 张岚, 张兆昌, 张玉秀, 等. 活性污泥中耐盐菌的筛选及其对有机物的去除研究[J]. *中国给水排水*, 2016, 32(23): 88-91.
- [5] 黄中子, 李辉, 刘勇弟, 等. 一株耐盐菌对苯酚的降解及其影响因素研究[J]. *水处理技术*, 2015, 41(6): 52-56.
- [6] 樊霆, 伍玲丽, 李云云, 等. 一株极端耐盐菌的分离鉴定及特性[J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(10): 1722-1728.

- [7] TENA-GARITAONAINDIA M, LLAMAS I, TORAL L, et al. Chemotaxis of halophilic bacterium *Halomonas anticariensis* FP35 towards the environmental pollutants phenol and naphthalene[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 669: 631-636.
- [8] 严洲. 高盐废水中 2, 4-二氯-3, 5-二甲基苯酚的生物降解研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2017.
- [9] ZHANG H, REYNOLDS M. Cadmium exposure in living organisms: a short review[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 678: 761-767.
- [10] LI C S, YANG X Q, XU Y, et al. Cadmium detoxification induced by salt stress improves cadmium tolerance of multi-stress-tolerant *Pichia kudriavzevii*[J]. *Environ Pollut*, 2018, 242: 845-854.
- [11] HART B T, BAILEY P, EDWARDS R, et al. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota[J]. *Hydrobiologia*, 1991, 210(1/2): 105-144.
- [12] ZHOU W Z, ZHANG H O, MA Y H, et al. Bio-removal of cadmium by growing deep-Sea bacterium *Pseudoalteromonas* sp. SCSE709-6[J]. *Extremophiles*, 2013, 17(5): 723-731.
- [13] CEYLAN S, AKBULUT B S, DENIZCI A A, et al. Proteomic insight into phenolic adaptation of a moderately halophilic *Halomonas* sp. strain AAD12[J]. *Can J Microbiol*, 2011, 57(4): 295-302.
- [14] 陈俊, 张惠萍, 朱希贵, 等. 金黄色葡萄球菌耐盐生长的形态观察及机理的初步研究[J]. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2010, 25(4): 517-520.
- [15] 刘晓丹, 刘金亮, 魏毅, 等. 一株极端耐盐曲霉的分离、鉴定及生物学特性分析[J]. *吉林大学学报(理学版)*, 2011, 49(3): 548-553.
- [16] 任瑞凡, 刘永阳, 曲文浩, 等. 一株苯酚降解菌株的筛选鉴定及特性研究[J]. *天津农业科学*, 2018, 24(11): 11-16.
- [17] 宋柳琼. 中度嗜盐菌处理高盐废水的生长特性研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2013.
- [18] 宋晓雪. 巴丹吉林沙漠盐湖嗜(耐)盐苯酚降解菌的筛选及其降解特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2016.
- [19] 温洪宇, 杨柳, 韩宝平, 等. 盐度对细菌菌株降解苯酚的影响[J]. *环境科学与技术*, 2010, 33(11): 33-38.
- [20] HUANG Z Z, WANG P, LI H, et al. Community analysis and metabolic pathway of halophilic bacteria for phenol degradation in saline environment[J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2014, 94: 115-120.
- [21] 蔡佳亮, 黄艺, 礼晓. 生物吸附剂对污染物吸附的细胞学机理[J]. *生态学杂志*, 2008, 27(6): 1005-1011.
- [22] 郭山, 桂恒俊, 陈翩, 等. 凤眼莲根际耐 Cd、Zn 细菌的分离鉴定及对 Cd、Zn 去除效果研究[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(3): 530-537.