

耐锰菌的筛选、鉴定及其吸附能力分析

李琪^{1,2}, 熊晶晶^{1,2}, 邓国志^{1,2}, 武超^{1,2*}

(1. 安徽大学资源与环境工程学院, 合肥 230601; 2. 湿地生态保护与修复安徽省重点实验室(安徽大学), 合肥 230601)

摘要: 筛选一株具有吸附重金属锰能力的菌株, 且对其吸附机理和吸附效率进行研究分析。通过 16S rDNA 序列进行鉴定; 用最小抑菌浓度(MIC)测试对不同重金属的耐受程度; 研究不同环境因素及锰浓度对菌生长的影响; 用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)、扫描电镜-能谱仪(SEM-EDX)、傅里叶红外显微系统(FT-IR)等仪器对该菌株吸附重金属效率及相关吸附机理进行研究分析。结果发现, 16S rDNA 序列表明该细菌属于 *Ralstonia pickettii* 菌属, 命名为 ADZH5101。*R. pickettii* ADZH5101 对不同重金属耐受性为 $Mn^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+}$, 其中耐受锰浓度可达 $2\ 200\ mg \cdot L^{-1}$ 。SEM-EDX 结果显示吸附后, 细胞表面有晶体析出, 锰离子含量占总元素 16.19%; FT-IR 结果显示参与吸附过程的官能团包括 $-PO_4^{3-}$ 、胺基中的 $-C-N-$ 、 $-M-O$ ($O-M-O$)、酰胺基 ($-CO-NH-$) 和 $C-H$ 基团。同时 ICP-AES 结果显示在锰浓度为 $450\ mg \cdot L^{-1}$ 时去除效果最好, 达到 $180\ mg \cdot L^{-1}$ 左右。

关键词: 细菌; 重金属; 耐受性; 吸附; 锰

中图分类号: X703

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2020)03-0409-06

Screening, identification and adsorption capacity analysis of a manganese-tolerant bacterium

LI Qi^{1,2}, XIONG Jingjing^{1,2}, DENG Guozhi^{1,2}, WU Chao^{1,2}

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Anhui University, Hefei 230601;

2. Anhui Province Key Laboratory of Wetland Ecosystem Protection and Restoration, Anhui University, Hefei 230601)

Abstract: A strain able to adsorb heavy metal manganese was screened, isolated and identified. The strain's tolerance to several heavy metals was evaluated based on minimal inhibitory concentration(MIC). And the influence of different environmental factors and manganese concentration on the growth was investigated. The adsorption efficiency and related adsorption mechanism of heavy metals were studied by inductively coupled plasma emission spectrometer(ICP-AES), scanning electron microscope-energy spectrometer(SEM-EDX), and fourier transform infrared spectrometer(FT-IR). The isolated strain belonged to *Ralstonia pickettii* based on its 16S rDNA sequence and was designated as ADZH5101. The tolerance of *R. pickettii* ADZH5101 to several heavy metals was $Mn^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+}$. The *R. pickettii* ADZH5101 can grow in the presence of Mn^{2+} up to $2\ 200\ mg \cdot L^{-1}$. The results of SEM-EDX showed that crystals were precipitated on the surface of the cells after adsorption, and the content of manganese ions accounted for 16.19% of the total elements. The FT-IR results showed that the functional groups involved in the adsorption process included $-PO_4^{3-}$, $-C-N-$ in the amine group, $M-O$ ($O-M-O$), amide ($-CO-NH-$) and $C-H$ groups. The results of ICP-AES showed that the highest removal efficiency of Mn^{2+} by *R. pickettii* ADZH5101 reached to $\sim 180\ mg \cdot L^{-1}$ when the concentration of dosed manganese in the medium was $450\ mg \cdot L^{-1}$.

Key words: bacteria; heavy metals; tolerance; adsorption; manganese

在工业化快速发展的同时往往伴随着环境污染, 重金属污染在环境中是难以生物降解的、不可

逆, 通过食物链会进入人体, 并产生生物累积, 危害健康。环境中的重金属污染大多是由人为来源引

收稿日期: 2019-08-27

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(1508085ME92), 安徽省高校优秀青年人才支持计划项目(gxyq2018001), 安徽大学高层次人才引进项目(01001770)和安徽大学青年骨干教师培养项目(J01005132)共同资助。

作者简介: 李琪, 硕士研究生。E-mail: 17694785@qq.com

* 通信作者: 武超, 博士, 副教授。E-mail: wuchao@ahu.edu.cn

起的,特别是金属矿石的采矿和冶炼作业^[1]。重金属治理,主要有物理、化学和生物修复,前两种方法虽然取得了很大的进展,但工程量大、处理费用高,而生物修复方法由于具有经济、生态效益等优点,在重金属治理中占据优势地位^[2]。生物吸附是最有希望的方法之一,因其对环境的友好性、高效率、成本效益和大量的可利用性而备受关注^[3]。

一般情况下,在重金属污染区往往存在大量耐受微生物群体,可筛选到对重金属离子具有较强耐受性和吸附能力的微生物^[4]。锰是生物体必需的微量元素之一,可作为多种酶的辅因子,为脂质、蛋白质等代谢所需要,但当水中锰含量超过 0.1 mg·L⁻¹ 时就会对人体造成危害,食用锰超标的水和食物可导致生物机体慢性中毒,造成肝脏、肺等内脏器官的损伤^[6]。本研究从酸矿废水中筛选出一株可以对重金属锰进行生物吸附的菌株,通过宏观检测和微观表征对吸附重金属效率和机理进行研究分析,同时 *Ralstonia pickettii* 属菌在吸附重金属方面的研究相对较少,本研究旨在扩展这方面的研究成果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 选自安徽铜陵酸矿废水,经检测水样 pH=3.86,其中 Mn²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺、Cd²⁺、Ni²⁺ 浓度为 3.95 mg·L⁻¹、2.62 mg·L⁻¹、0.86 mg·L⁻¹、0.09 mg·L⁻¹ 和 0.05 mg·L⁻¹。

1.1.2 仪器与试剂 数显 pH 计,赛多利斯科学仪器有限公司;傅里叶红外显微镜,布鲁克光谱仪器亚太有限公司;紫外可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;电感耦合离子体发射光谱仪,美国赛默飞世尔科技;超高分辨电子显微镜,日立高新技术公司。

YEAST EXTRACT,酪蛋白氨基酸,四水合氯化锰,TYPTONE,其他试剂:国产分析纯。

1.1.3 培养基 富集培养基:蛋白胨 0.5 g·L⁻¹;酵母提取物 0.5 g·L⁻¹;酪蛋白氨基酸 0.5 g·L⁻¹;可溶性淀粉 0.5 g·L⁻¹;磷酸氢二钾 0.5 g·L⁻¹;七水合硫酸镁 0.5 g·L⁻¹;葡萄糖 0.5 g·L⁻¹;丙酮酸钠 0.3 g·L⁻¹;微量元素储备液 5 mL·L⁻¹;1 mol·L⁻¹ HCL 调至 pH=5。选择培养基:根据需求在富集培养基中添加不同浓度的 Mn²⁺^[22]。

微量元素储备液:七水合硫酸镁 3.0 g·L⁻¹;硝基三乙酸 1.5 g·L⁻¹;二水合氯化钙 1.0 g·L⁻¹;氯化钠 1.0 g·L⁻¹;七水合硫酸锰 0.5 g·L⁻¹;七水合硫酸钴 0.18 g·L⁻¹;七水合硫酸锌 0.18 g·L⁻¹;七水合硫

酸碲 0.1 g·L⁻¹;六水合氯化镍 0.025 g·L⁻¹;十二水合硫酸铝钾 0.02 g·L⁻¹;五水合硫酸铜 0.01 g·L⁻¹;硼酸 0.01 g·L⁻¹;二水合钼酸钠 0.01 g·L⁻¹;亚硒酸钠 0.2 g·L⁻¹。

1.2 方法

1.2.1 筛选分离 将 1 mL 水样加到含 50 mL 富集培养基的 250 mL 锥形瓶于 30℃、150 RPM 摇床中培养 36 h;取富集培养液 2 mL 加到含 550 mg·L⁻¹ Mn²⁺ 的金属选择培养基中培养 36 h;待培养基混浊,取 1 mL 培养液接种到 1 100 mg·L⁻¹ Mn²⁺ 的金属选择培养基培养 36 h,依次提高锰含量以获取耐受性更好的菌株;上述步骤筛选三代后取 10 μL 培养液在 1 650 mg·L⁻¹ Mn²⁺ 的固体培养基上划线,30℃ 培养箱中培养 36 h,取不同形态的单克隆分别接种到含 1 650 mg·L⁻¹ Mn²⁺ 的金属选择培养基确保其耐受性;待培养基混浊后,继续取 10 μL 培养液在 1 650 mg·L⁻¹ Mn²⁺ 下划线、接种,重复 3 次得到一株纯化后对锰具有较高耐受性的菌株,保种。

1.2.2 菌株鉴定 提取菌株基因组,用 16S rDNA 通用引物 Eub-ac27F: 5'-AGAGTTTATCCTGGGCT CAG-3' 和 Eubac1492:5'-GGTTACCTTGTTACGAC TT-3'^[23] 进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物委托上海生物工程技术有限公司测序,测序结果通过 BLAST 与 GenBank 数据库的其他 16S rDNA 序列进行同源性分析。MAGE6.0 软件构建系统进化树。

1.2.3 多种重金属 MIC 测定 用含 Mn²⁺、Cd²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺、Co²⁺ 等重金属浓度分别为 0~6 875 mg·L⁻¹ 的培养基在 96 孔板中对菌株 ADZH5101 进行其他重金属的 MIC 检测,重复 3 次于 30℃ 培养箱培养 3 d。

1.2.4 最适生长条件 pH 值:活化 16 h 的菌液以 OD₆₀₀=0.001 加到 pH=2~7 (pH>7 时金属离子会发生沉淀)的培养基,用 1 mol·L⁻¹ 的 HCL 溶液调节 pH 值,做有无 Mn²⁺ 对照,同时检测生长前后培养基的 pH 值。温度:活化 16 h 的菌液以 OD₆₀₀=0.001 加到培养基,以 20℃、25℃、30℃、35℃ 和 40℃ 的摇床。所有样品每式 4 份,150 RPM 摇床中培养 32 h。

1.2.5 不同 Mn²⁺ 浓度对生长影响 活化 16 h 的菌液加到培养基中,初始 OD₆₀₀=0.001 (细胞数:4×10⁶ CFU·mL⁻¹),Mn²⁺ 浓度范围为 0~2 750 mg·L⁻¹,每式 4 份,于 30℃、150 RPM 摇床中培养,定时用分光光度计检测、培养基校零。

1.2.6 去除效率的检测 将培养 16 h 的菌液以 5% 的浓度转接在 Mn²⁺ 浓度 0~600 mg·L⁻¹ 中培养 32 h,在不同时间段取 2 mL 离心弃上清、重悬,重复 3

次后过滤去除沉淀,用纯水以 1:100 稀释,ICP-AES 检测培养基中 Mn^{2+} 的含量,得出菌去除 Mn^{2+} 效率。

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

其中: P 为去除率; C_0 为初始金属含量; C_1 为不同时间段的重金属含量;

1.2.7 SEM-EDX 分析 取在有无 Mn^{2+} 的培养基活化 32 h 的菌液离心弃上清,戊二醛和磷酸盐缓冲液重悬,静置,离心弃上清;不同浓度乙醇依次重悬、离心弃上清、用 HMDS 重悬静置^[5];最后涡旋混匀,滴在载玻片上,50℃ 热风烘干后喷金,扫描电镜观察分析。



图 1 (A)菌落形态;(B)SEM 下的菌体形态;(C)鞭毛染色

Figure 1 (A)Colony morphology;(B)Morphology of bacteria under SEM;(C)Flagella staining

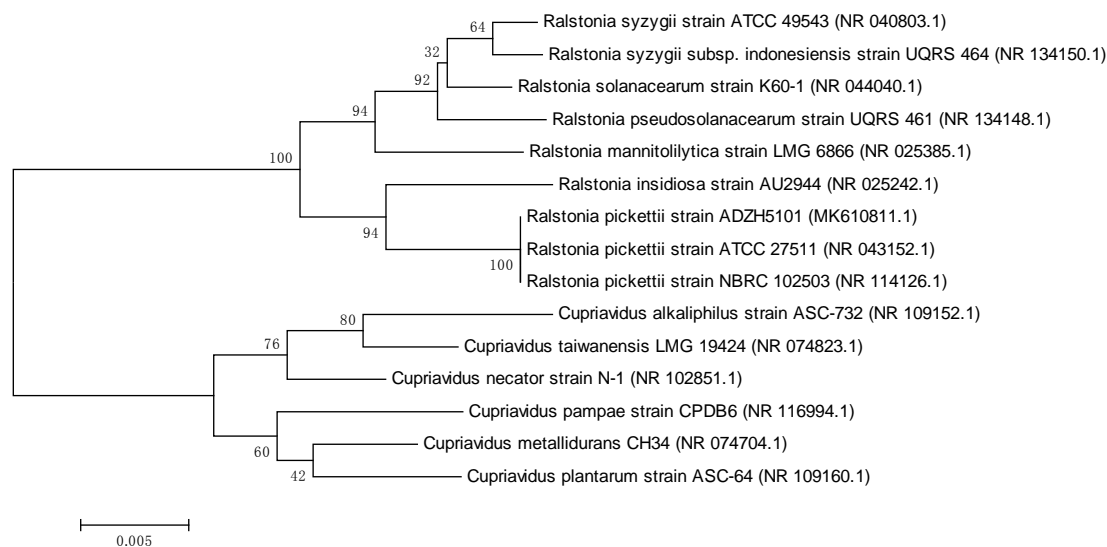


图 2 系统发育分析

Figure 2 Phylogenetic analysis

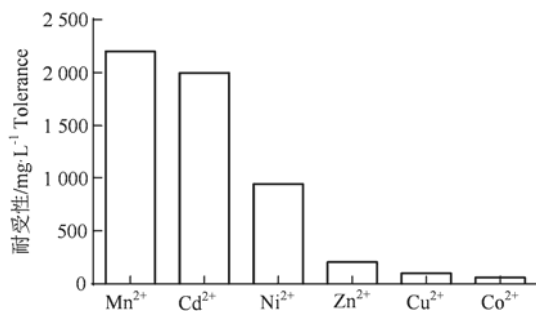


图 3 不同重金属的 MIC

Figure 3 MIC of different heavy metals

1.2.8 FT-IR 观察分析 取在有无 Mn^{2+} 情况下活化 32 h 的菌株离心弃上清,用纯水清洗菌体,80℃ 烘箱烘干;混合溴化钾研磨碾碎最后压制成薄片用红外光谱仪检测。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选

滴板培养、鞭毛染色、扫描电镜以及运动实验观察到菌株的形貌及特征(图 1)。菌落较小,外观呈规则圆形、白色,表面光滑,较粘稠,易挑起;菌体短杆状,表面粗糙;有鞭毛,可运动。

2.2 菌株鉴定

将 16S rDNA 全序列在 NCBI 网站上用 BLAST 软件进行分析对比,显示该菌株与多株皮氏罗尔斯顿菌(*Ralstonia pickettii*)的同源性达到 100%,推测该菌株为 *Ralstonia* 属菌;将 ADZH5101 菌株与同源性最高的 14 株菌通过 MEGA6.06 软件构建系统发育树,如图 2。

2.3 多种重金属 MIC 测定

多种重金属 MIC 结果如图 3,其中对锰的耐受

度高达 $2\ 200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，比先前研究^[6-9]菌株的耐受度高。对 Cd^{2+} 的耐受度达 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，与之前研究相比^[14-15]，耐受程度略高；对 Ni^{2+} 的耐受程度达 $940\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；对 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Co^{2+} 的耐受度较低；菌株的多种重金属耐受性提高其实际应用的价值。

2.4 最适生长条件

不同条件的生长如图 4，图 A：在 $\text{pH}=4\sim 7$ 情况下生长差值较小，说明弱酸对菌株影响不大；当 pH 值降到 4 以下时，菌株无法生长，酸性太大抑制菌株生长； $\text{pH}=5$ 时，菌株生长最好，平行样误差最小，较其他 pH 值生长最稳定。图 B：菌株对培

养基 pH 值变化。对照组，在 32 h 后 pH 值基本无变化；实验组， $\text{pH}=4、5、6$ 均涨至 $7\sim 8$ 之间，而 $\text{pH}=7$ 升到 8.2 左右，推测该菌株在酸性条件的中能够产氢基化合物^[15]，与之前的研究^[15]中耐 Cd^{2+} 菌株具有相似能力。图 C：温度对生长的影响。在 30°C 情况下，菌株生长最好， OD_{600} 达到 1.5 左右；当 25°C 和 35°C 时， OD_{600} 值相近，略小于 30°C 时的 OD_{600} 值； 40°C 时， OD_{600} 值只有 1.1 左右属于缓慢下降，说明温度略高对菌株生长的影响不大；而 20°C 时， OD_{600} 值只有 0.5 左右，说明低温对菌株的生长的影响较大，该菌株不适用于低温环境。

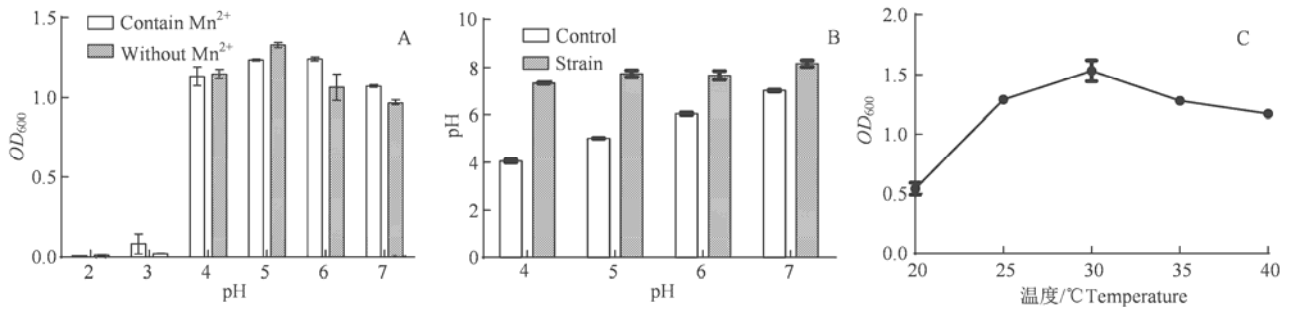


图 4 (A) pH 值对生长影响；(B)菌株生长对 pH 值影响；(C)温度对生长影响

Figure 4 (A)Effect of pH on growth;(B)Effect of strain growth on pH value;(C)Effect of temperature on growth

2.5 不同 Mn^{2+} 浓度对生长影响

培养基 Mn^{2+} 初始浓度为 0、275、550、1 650 和 $2\ 750\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，培养 32 h 测 OD_{600} 值绘制生长曲线（图 5）。无 Mn^{2+} 存在时 4 h 开始生长，随着 Mn^{2+} 浓度的增加，菌株滞缓时间越长， $1\ 650\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，菌株到 8 h 开始生长；菌株 ADZH5101 的生长对数期集中在 $8\sim 24\ \text{h}$ 之间，24 h 后达到平衡期，其 $OD_{600}=1.4$ 左右；在 $1\ 650\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时， OD_{600} 值只有 0.9 左右，重金属对菌株的生长抑制较为明显。耐受浓度范围内 OD_{600} 在 $0.8\sim 1.0$ 之间，与之前研究^[6]中的菌株相比菌株 AD5101 的生长能力较强。

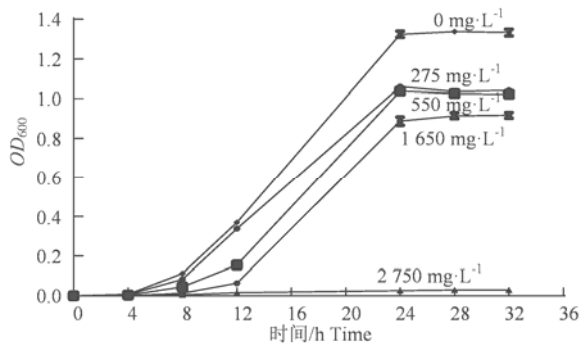


图 5 不同 Mn^{2+} 浓度对菌的影响

Figure 5 Effect of different Mn^{2+} concentrations on bacteria

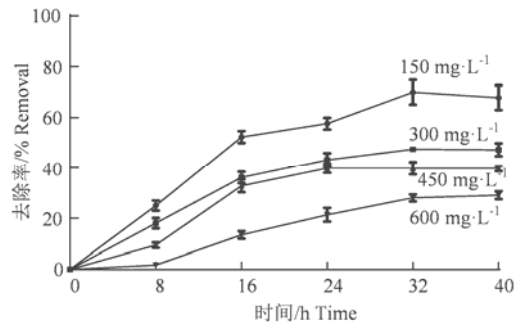


图 6 不同浓度 Mn^{2+} 对去除的影响

Figure 6 Effect of different concentrations of Mn^{2+} on removal

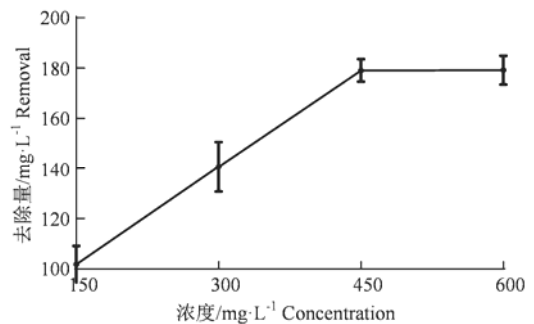


图 7 不同浓度 Mn^{2+} 最终去除量

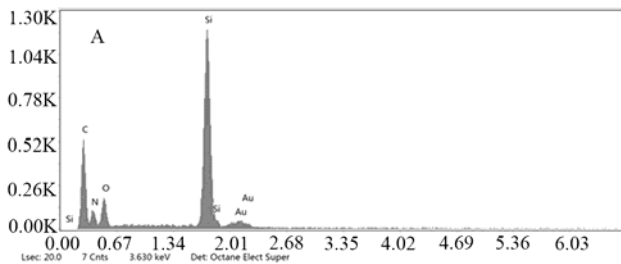
Figure 7 Final removal of different concentrations of Mn^{2+}

2.6 去除效率分析

去除效率如图 6。浓度为 $150\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，16 h

去除率为 50% 左右, 而 24 h 的去除率只有 60% 左右, 到 40 h 的去除率为 70% 左右, 与前 16 h 相比, 后 24 h 只去除了 20%, 说明 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时去除主要进行在前 16 h。当浓度达到 $600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 在前 8 h 去除率仅有 2% 左右, 高浓度重金属引起的细菌生长缓慢导致; 32 h 时达到 30% 左右; 在 8~32 h 之间, 每隔 8 h 去除率增加 10% 左右, 去除效率较为平稳。该菌株能够产氨基化合物会改变培养基的 pH 值, 弱酸会变成中性偏碱性, 同时 $\text{pH}>7$ 时重金属会发生沉淀, 推测菌株 ADZH5101 去除的重金属中包含因 pH 值改变引起没有吸附的重金属产生少许沉淀, 从而导致小部分金属的去除, 但因为 pH 值仅向中性改变, 所以金属沉淀占小部分, 去除主要以菌株吸附为主。

不同浓度 Mn^{2+} 的吸附量如图 7。 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时去除量为 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右, $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时去除量在 $140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右, $450 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 细菌的吸附量达到最大值在 $180 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右; 浓度超过 $450 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 菌株对 Mn^{2+} 的去除量不再增加, 推测是因为细胞表面的吸附位点有限, 重金属浓度升高时毒性增大, 抑制菌株生长, 结合位点变少, 影响吸附效果。



2.7 SEM-EDX 观察分析

SEM 结果如图 8, 吸附前 (图 A) 表面无其他明显物质存在; 吸附后 (图 B) 菌株之间可以明显看到非细胞状物质, 可能是 Mn^{2+} 对菌体产生毒害作用, 活体微生物在吸附重金属离子的过程中, 需要依赖新陈代谢, 同时对重金属具有一定的抗逆性, 活体微生物通过分泌胞外产物与重金属离子结合, 从而降低重金属离子的危害^[11]。

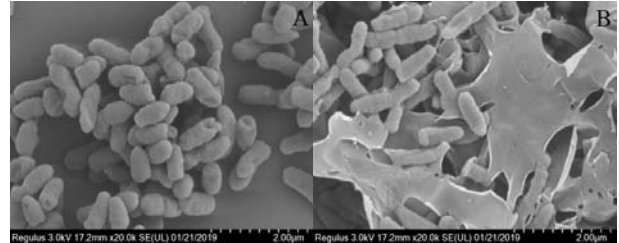


图 8 (A)吸附前和(B)吸附后 SEM 图

Figure 8 (A)SEM image of pre-adsorption and (B) post-adsorption

图 9 为吸附前后的 EDX 分析图。吸附后, 图 B 中出现几处关于 Mn 的特征峰, 通过检测锰离子含量占总元素的 16.19%, 进一步验证菌株 ADZH5101 对 Mn^{2+} 存在吸附作用。

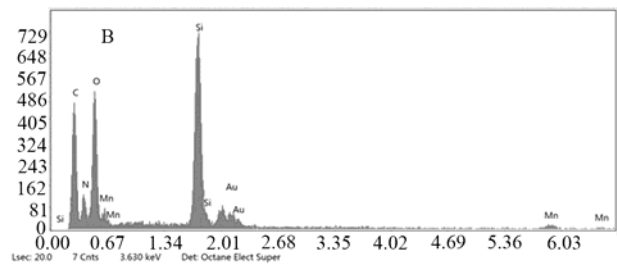


图 9 (A)吸附前和(B)吸附后 EDX 图

Figure 9 (A)EDX diagram of pre-adsorption and (B)post-adsorption

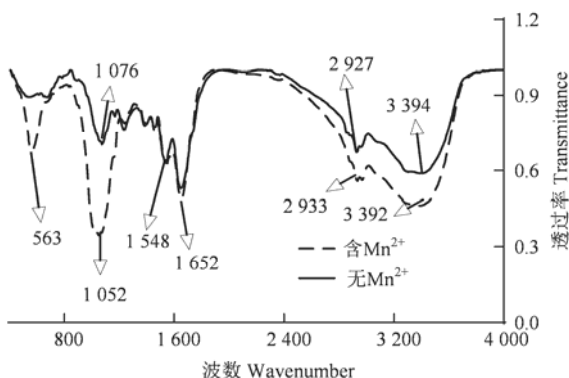


图 10 FT-IR 图

Figure 10 FT-IR diagram

2.8 FT-IR 观察分析

菌体暴露在金属溶液时, 首先与金属离子接触

的是细胞壁, 细胞壁的化学组成和结构决定着金属离子与它的相互作用特性^[14]。FT-IR 如图 10, 与不含 Mn^{2+} 比较, 加入 Mn^{2+} 时, 细胞壁上的官能团活跃, 在 567 cm^{-1} 处出现新—M—O (O—M—O) 吸收峰, 与皮氏罗尔斯通氏菌株 DX-T3-01^[14] 在吸收重金属镉是产生了相同的峰值, 在吸附机理上一致; 1065 cm^{-1} 处— PO_4^{3-} 、胺基中的—C—N—特定吸收峰变得强而宽; 在 1652 cm^{-1} 处的红外光谱峰略微增强一些, 表明酰胺(I)基团参与反应过程。波长 2927 cm^{-1} 处对应饱和 C—H 基团, 在吸附后吸收峰增强; 波数在 3394 cm^{-1} 有一个宽吸收峰, 对应—OH 基团振动, 在吸附后特定的吸收峰增宽增强, 并且移动到波数 3392 cm^{-1} 。综上所述得出, 主要有— PO_4^{3-} 、胺基中的—C—N—、—M—O(O—M—O)、

酰胺基(—CO—NH—)和C—H基团参与了整个吸附过程。

3 结论

菌株对锰耐受 $2\ 200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,去除量在 $180\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右;与之前部分研究^[7-9]相比,耐受程度相对较高,去除效率相对较好;

该菌株对不同重金属都有一定的耐受性,之前的文献^[4]中筛选的菌株除锰外,仅对镉和锌有耐受性,与之相比菌株ADZH5101实际应用价值更大,同时部分研究^[6-9]中菌株对于其他重金属的耐受性并未提起,限制了其应用范围;

吸附后细胞表面的物质可能是菌体产生的EPS与重金属发生络合作用,也可能是其他吸附作用^[11];主要参与吸附的官能团与之前的研究^[1]中参与吸附的官能团(羟基和羧基)不同,相同点是都有酰胺参与吸附,但强度不高,说明蛋白质对吸附影响不大;上述证明菌株对重金属的吸附主要发生在细胞表面。所以菌株ADZH5101在生物修复及重金属的解毒等工程技术具有一定的应用潜力。

参考文献:

- [1] HUANG H M, ZHAO Y L, XU Z G, et al. Biosorption characteristics of a highly Mn(II)-resistant *Ralstonia pickettii* strain isolated from Mn ore[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0203285.
- [2] 陈永华, 向捷, 吴晓芙, 等. 三株耐铅锌菌的分离、鉴定及其吸附能力[J]. 生态学杂志, 2015, 34(9): 2665-2672.
- [3] LI X H, XU H X, GAO B, et al. Efficient biosorption of Pb(II) from aqueous solutions by a PAH-degrading strain *Herbaspirillum chlorophenicum* FA1[J]. J Ind Eng Chem, 2018, 57: 64-71.
- [4] 赵晗, 许文娟, 郝莹, 等. 环境中耐锰细菌的筛选鉴定及除锰性能研究[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(4): 303-307.
- [5] FRATESI S E, LYNCH F L, KIRKLAND B L, et al. Effects of SEM preparation techniques on the appearance of bacteria and biofilms in the Carter sandstone[J]. J Sediment Res, 2004, 74(6): 858-867.
- [6] 田群, 许瑶, 喻昌燕, 等. 耐锰细菌鉴定与锰胁迫下的生理响应[J]. 山地农业生物学报, 2017, 36(3): 23-28.
- [7] 王燕, 何峰, 尤健健, 等. 锰抗性微生物的筛选鉴定及其对 Mn^{2+} 的吸附[J]. 西北农业学报, 2013, 22(7): 193-199.
- [8] 刘颜军, 周静晓, 王革娇. 锰氧化菌 *Bacillus* sp.MK3-1 的 Mn(II)氧化特性和除锰能力研究[J]. 微生物学通报, 2009, 36(4): 473-478.
- [9] 樊星, 王淑婷, 李春艳. 一株高效铁锰氧化细菌 P1 的分离鉴定及氧化条件优化[J]. 生物技术通报, 2016, 32(4): 175-183.
- [10] 郭照辉, 单世平, 张德元, 等. 1株高耐镉菌株的分离与鉴定及 16S rDNA 序列分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2014, 40(2): 207-210.
- [11] 刘磊, 宋文成. 微生物吸附重金属离子机理研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(5): 15-17.
- [12] 曹礼, 李晓慧, 张芹辉, 等. 一株耐锌菌株的分离鉴定及其生长特性研究[J]. 生物学杂志, 2017, 34(6): 60-64.
- [13] 陈月芳, 高琨, 林海, 等. 耐铅锌微生物对矿山酸性废水中 Zn^{2+} 和 Pb^{2+} 吸附性能分析[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2013, 44(4): 1741-1746.
- [14] 付瑾, 谢学辉, 钱林, 等. 皮氏罗尔斯通氏菌株 DX-T3-01 的耐镉性能及镉富集机理[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 717-721.
- [15] 张玉秀, 宋小庆, 黄琳, 等. 煤矿区耐镉细菌的筛选鉴定和重金属耐性研究[J]. 煤炭学报, 2010, 35(10): 1735-1741.
- [16] 赵晗, 许文娟, 郝莹, 等. 环境中耐锰细菌的筛选鉴定及除锰性能研究[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(4): 303-307.
- [17] 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.
- [18] RODRÍGUEZ-TIRADO V, GREEN-RUIZ C, GÓMEZ-GIL B. Cu and Pb biosorption on *Bacillus thioparans* strain U3 in aqueous solution: Kinetic and equilibrium studies[J]. Chem Eng J, 2012, 181/182: 352-359.
- [19] HU Q, DOU M N, QI H Y, et al. Detection, isolation, and identification of cadmium-resistant bacteria based on PCR-DGGE[J]. J Environ Sci, 2007, 19(9): 1114-1119.
- [20] 代俊, 黄珍, 徐智, 等. 1株耐重金属细菌的筛选、鉴定及吸附性能研究[J]. 河南农业科学, 2017, 46(5): 66-70.
- [21] DAS D, SALGAONKAR B B, MANI K, et al. Cadmium resistance in extremely halophilic archaeon *Haloferax* strain BBK2[J]. Chemosphere, 2014, 112: 385-392.
- [22] RONALD M. Atlas handbook of microbiological media[M]. Fourth Edition. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- [23] 曹凯, 邓国志, 胡晓婕, 等. 一株耐盐芽孢杆菌的筛选及其蛋白酶的酶学特性研究[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(2): 312-317.