

龙云川, 周娟, 周少奇, 等. 贵州矿区放线菌多样性及对汞的抗性 [J]. 福建农业学报, 2017, 32 (2): 212~216.

LONG Y-C, ZHOU J, ZHOU S-Q, et al. Diversity and Mercury-resistance of *Actinomycetes* in Tongren, Guizhou [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 32 (2): 212~216.

贵州矿区放线菌多样性及对汞的抗性

龙云川¹, 周娟², 周少奇^{1,3,4*}, 万合锋¹, 刘峙嵘², 任春光¹

(1. 贵州科学院贵州省生物研究所, 贵州 贵阳 550009; 2. 东华理工大学化学生物与材料科学学院, 江西 南昌 330013; 3. 贵州大学资源与环境工程学院, 贵州 贵阳 550003; 4. 华南理工大学环境与能源学院, 广东 广州 510006)

摘要: 为探明贵州喀斯特重金属污染区域土壤放线菌多样性特征以及为其污染修复应用奠定基础, 从贵州铜仁地区的25份土壤样品中, 采用梯度稀释涂布法, 利用3种处理方式、7种培养基分离放线菌; 通过形态特征、16S rDNA基因序列分析结合生理生化特征鉴定放线菌; 同时筛选重金属汞抗性菌株。结果从土样中共分离出56株典型放线菌菌株, 经初步鉴定, 分属于链霉菌属、孢囊链霉菌属、高温单孢菌属、线杆菌属、间孢囊菌属、诺卡氏菌属、小单孢菌属; 其中链霉菌属放线菌占68%。筛选出了1株对汞有较高抗性($75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的放线菌菌株, 优良耐受菌株的最大抗性约 $85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 菌株经鉴定为枝链霉菌 *Streptomyces rameus*。共分离出56株, 分属于7个属的放线菌菌株; 筛选出1株重金属汞高抗菌株, 经鉴定为枝链霉菌。

关键词: 放线菌; 多样性; 喀斯特; 16S rDNA; 汞; 枝链霉菌

中图分类号: Q 938.1; Q-9; X 21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0384 (2017) 02-212-05

Diversity and Mercury-resistance of *Actinomycetes* in Tongren, Guizhou

LONG Yun-chuan¹, ZHOU Juan², ZHOU Shao-qi^{1,3,4*}, WAN He-feng¹, LIU Zhi-rong², REN Chun-guang¹

(1. *Guizhou Institute of Biology, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550009, China*;

2. *School of Chemistry, Biology and Material Science, East China Institute of Technology, Nanchang, Jiangxi 330013, China*; 3. *College of Resource and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550003, China*; 4. *School of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510006, China*)

Abstract: Diversity and mercury-resistance of *Actinomycetes* in the soil polluted by heavy metals at Tongren karst regions in Guizhou were studied to gain information for environmental recovery and bioremedies. Twenty-five soil samples were collected from the areas. Microorganisms were screened on 7 different culture media with gradient concentrations of mercury under 3 different treatments to isolate the resistant strains. Subsequently, the isolates were examined for their morphological, physiological and biological characteristics, and subjected to a 16S rDNA phylogenetic analysis for further identification. As a result, 56 typical *Actinomycetes* belonging to *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Thermomonospora*, *Actinobacillus*, *Intrasporangium*, *Nocardia*, and *Micromonospora* were found to be resistant to mercury. Among them, 68% were *Streptomyces* with one particular strain showing a high mercury-resistance to survive under a $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ up to $85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mercury stress, which was identified to be *Streptomyces rameus*.

Key words: *Actinomycetes*; diversity; karst; 16S rDNA; mercury; *Streptomyces rameus*

中国是世界上喀斯特地貌分布最广的国家, 其中以贵州高原为中心连带成片的我国西南喀斯特地区是世界三大岩溶区之一, 当地水土流失严重、土壤贫瘠、生态系统脆弱^[1]。土壤微生物是陆地生态系统中

最活跃的部分, 对土壤的地球化学循环、土壤结构起着重要的作用, 对土壤生态系统的功能变化也较敏感^[2]。

放线菌是土壤微生物的重要组成部分, 具有丰富的代谢产物和特殊形态结构, 在自然界中广泛分

收稿日期: 2016-07-23 初稿; 2016-11-08 修改稿

作者简介: 龙云川 (1989-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事环境微生物方向研究 (E-mail: sculyc@163.com)

* 通讯作者: 周少奇 (1965-), 男, 博士, 教授, 主要从事环境科学与工程研究 (E-mail: 2975742087@qq.com)

基金项目: 科技部科技基础性工作专项 (2014FY120100)

布^[3]。放线菌以其丰富的次级代谢产物而著称,产生了约2/3的自然抗生素,还产生了多种非抗生素活性物质^[4]。对放线菌的研究多集中在抗菌性及其次级代谢产物研究上^[3-4]。放线菌在污染环境修复领域也表现出巨大的潜力,但关于放线菌在重金属污染土壤的修复相关研究报道很少。姚斌等^[5]对柴河铅锌尾矿区复垦土壤的微生物区系调查研究结果表明,放线菌对重金属的耐受性高于细菌。李慧芬等^[6]从铅锌尾矿区与污水灌溉区土壤中筛选了1株Zn抗性放线菌,最高吸附量可达 $51.05\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。Hamed等^[7]从伊朗重金属重度污染土壤中分离出13株对Zn、Cu、Cd、Ni有很强耐受性的放线菌菌株,最强菌株能去除溶液中96.5%的Cd。Polti等^[8]筛选出5株既能去除杀虫剂又能吸附重金属的放线菌菌株。

贵州铜仁地区矿产资源十分丰富,仅万山区的汞资源储量就一度位列亚洲第1和世界第3,被称为“中国汞都”^[9]。由于矿产资源开发的历史遗留问题,该地区土壤重金属污染严重。本研究以贵州铜仁地区土壤为研究对象,利用传统微生物培养法分离放线菌,通过形态及培养特征、16S rDNA序列分析,分析贵州喀斯特重金属污染区土壤放线菌多样性;同时筛选重金属汞抗性菌株,以期为探明贵州喀斯特重金属污染土壤放线菌群落结构特征和为微生物的环境修复应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 土样的采集与处理

在贵州省铜仁万山地区($109^{\circ}11' \text{E} \sim 109^{\circ}25' \text{E}$, $27^{\circ}31' \text{N} \sim 27^{\circ}54' \text{N}$)采集距表层5~20 cm土壤25份,装入自封袋中,带回实验室并做好标记。将新鲜土样研磨过10目标准筛,一部分土样 100°C 干热20 min后室温风干保存;另一部分新鲜土样直接存放于 4°C 冰箱。

1.2 重铬酸钾对放线菌分离影响

选用高氏1号培养基、LNMS培养基作为分离培养基,分别添加 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 重铬酸钾作为抑制剂,以不添加任何抑制剂作为对照组。用平板稀释法分离风干土样, 28°C 培养7~10 d后,观察和鉴定各类微生物出现情况。

1.3 土样处理方式对放线菌分离影响

将土样进行3种处理:①土样 100°C 干热20 min后,称取10 g用无菌生理盐水梯度稀释;②直接存放 4°C 冰箱的土样,称取10 g用无菌生理盐水梯度稀释;③直接存放 4°C 冰箱的土样,称取10 g放入90 mL LNMS液体培养基中, 28°C 预培养2

h后,再接着用无菌生理盐水梯度稀释。处理后的稀释液取适宜倍数涂布于含 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 重铬酸钾的高氏1号培养基中。

1.4 不同培养基对放线菌分离影响

采用平板梯度稀释法、用不同分离培养基分离 4°C 冰箱保存土样, 28°C 培养7~10 d后,挑选单菌落于高氏1号培养基划线纯化。纯化菌株分别接入试管斜面和25%甘油管中冷冻保藏。选用的分离培养基为:(1)高氏1号培养基;(2)寡营养培养基(LNMS): $\text{NaCl } 0.2\text{ g}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } 0.05\text{ g}$, $\text{CaCO}_3 0.02\text{ g}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } 0.01\text{ g}$, 可溶淀粉0.1 g,酵母浸膏0.1 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 2.0\text{ g}$,水1000 mL, pH 7.2;(3)海藻糖-脯氨酸培养基^[10];(4)改良脯氨酸培养基^[10];(5)改良高氏二号培养基^[10];(6)ZSSE培养基^[11];(7)NA浸出液培养基^[11]。

1.5 放线菌的鉴定

参照《放线菌分类基础》^[12]、《链霉菌鉴定手册》^[13]将菌株鉴定到属或链霉菌的类群。在高氏1号平板上观察放线菌菌落培养特征(生长状况、基内菌丝颜色、气丝颜色等)。用插片法培养菌株,在电子显微镜下观察菌丝形态特征。同时也对菌株进行生理生化鉴定。

16S rDNA序列分析:采用细菌基因组DNA抽提试剂盒(生工)提取放线菌的DNA,采用通用引物7F($5'\text{-CAG AGT TTG ATC CTG GCT-3'}$)和1540R($5'\text{-AGG AGG TGA TCC AGC CGC A-3'}$)对放线菌16S rDNA片段扩增,PCR反应体系(25 μL)为:Template 0.5 μL ; 10 \times Buffer 2.5 μL ; dNTP 1 μL ; 酶0.2 μL ; 引物各0.5 μL ; 加双蒸水补足至25 μL 。PCR循环条件为: 94°C 预变性4 min, 94°C 变性45 s, 55°C 退火45 s, 72°C 延伸1 min, 30循环后, 72°C 延伸10 min, 4°C ∞ 。产物经1%琼脂糖电泳检测后,交生工生物工程(上海)股份有限公司测序,序列结果与NCBI数据库做Blast分析。采用Clustal X软件将序列与标准菌株片段进行比对,运用MEGA5.2软件采用Neighbor Joining方法构建系统发育树,分析其亲缘关系。

1.6 重金属抗性放线菌筛选

按1%接种量接种放线菌菌液于含有 $75\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg^{2+} 的高氏1号液体培养基中,150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 28°C 条件下摇床培养7~10 d。用 HgCl_2 模拟环境中的重金属离子条件,每个处理设置3个重复;以未加 Hg^{2+} 的液体培养基做对照组,对比观察菌株的生长情况。在抗性菌株筛选基础上,确定优良耐受菌株的最大抗性水平(maximum resistance level,

MRL)^[14]。将 Hg^{2+} 的质量浓度设置为 25、50、75 $mg \cdot L^{-1}$, 同时以不含 Hg^{2+} 的液体培养基为对照, 分析 Hg^{2+} 胁迫下抗性菌株的生长情况。

2 结果与分析

2.1 重铬酸钾对放线菌分离的影响

重铬酸钾对放线菌分离的影响结果如表 1 所示, 培养基中添加 50 $mg \cdot L^{-1}$ 重铬酸钾能有效抑制杂菌, 特别是真菌的生长, 从而提高放线菌的出菌率; 加入重铬酸钾后平板中的杂菌率从 27.5%~65.0% 降至 6.8%~8.5%, 放线菌菌落数提高了 2.41~2.54 倍。从表 1 中可以看到, LNMS 培养基上对照组的菌落总数虽要稍高, 但放线菌菌落数

明显低于重铬酸钾处理组; 高氏 1 号培养基中加入重铬酸钾后, 其菌落总数反而有提升, 这可能是未加抑制剂使真菌菌丝干扰了放线菌的正常生长^[15]。

2.2 不同处理方式对放线菌分离影响

3 种方式处理土样后分离放线菌, 从分离结果(图 1)中可以看到: 将冷冻土样在培养基中预培养 2 h 后(处理③), 再稀释涂布分离获得的放线菌数量明显增多, 这可能是预培养过程中放线菌在进行复苏和增殖, 有利于提高难培养微生物的出菌率。处理②获得的放线菌数量要稍多于处理①, 说明在土壤干热过程中也杀灭了少量放线菌。本研究处理②③中, 土壤在 4℃ 冰箱存放时间约为 15 d, 因此建议: 待分离土样最好直接保存于 4℃ 冰箱。

表 1 重铬酸钾对放线菌分离的影响

Table 1 Effect of potassium dichromate on separating strains of *Actinomycetes*

培养基	重铬酸钾			对照组		
	总菌落数/ $\times 10^5$	放线菌数/ $\times 10^5$	杂菌率/%	总菌落数/ $\times 10^5$	放线菌数/ $\times 10^5$	杂菌率/%
高氏 1 号	1.2	1.12	6.8	0.7	0.51	27.5
LNMS	3.1	2.84	8.5	3.5	1.23	65

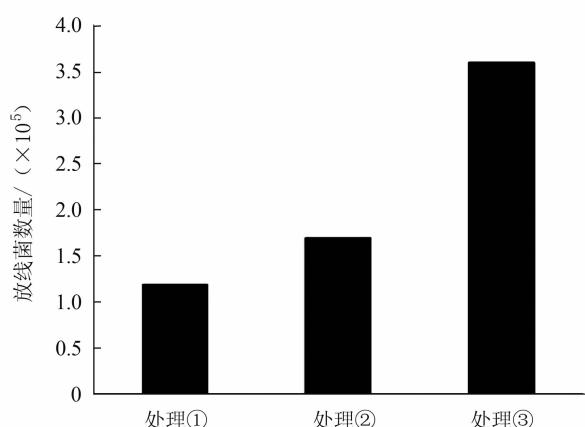


图 1 不同处理方式对放线菌数量影响

Fig. 1 Effect of treatments on bacterial count of *Actinomycetes*

2.3 培养基对放线菌分离影响

各分离培养基对土壤放线菌分离的影响(放线菌种类、数量)结果见表 2。从表 2 中可以看到, 不同培养基获得放线菌的数量有很大的差异。LNMS 培养基分离出的放线菌数量为每克土 5.2×10^5 株, NA 浸出液培养基放线菌数量仅为每克土 0.76×10^5 株。这可能是在营养缺乏条件下(寡营养培养基), 更有利于放线菌的生长繁殖; 而营养丰盛(NA 浸出液培养基)时, 放线菌的出菌率被

抑制^[10]。各分离培养基获得的放线菌种类也有较大差异。高氏 1 号培养基获得的放线菌主要为链霉菌; 改良高氏二号、改良脯氨酸和 ZSSE 培养基获得的稀有放线菌较多, 而链霉菌较少。NA 浸出液培养基获得的放线菌种类最多, 主要原因可能是采用的土壤提取液与土壤放线菌天然的生存环境近似有利于其生长, 从而提高了出菌率。

2.4 对重金属耐受性研究

本研究共筛选出 174 株放线菌菌株, 除去重复菌株, 选择了 56 株典型菌株来筛选重金属抗性菌株。经筛选发现只有 1 株菌株(WS1605)能耐受 75 $mg \cdot L^{-1}$ Hg^{2+} ; 其 MRL 约为 85 $mg \cdot L^{-1}$ 。从图 2 中可以看到, 与不添加 Hg^{2+} 的对照组相比, 不同质量浓度 Hg^{2+} 胁迫下, 菌株 WS1605 的生长受到一定程度的抑制, 且生长对数期也相应推迟; 随着胁迫的 Hg^{2+} 质量浓度增高, 菌株的生长受抑制越明显; 在 75 $mg \cdot L^{-1}$ Hg^{2+} 胁迫下, 菌体的最大生物量约为对照组(CK)的 75%。

2.5 菌株 WS1605 的鉴定

菌株 WS1605 气生菌丝丰茂, 有基丝, 孢子丝不完全螺旋, 为圈状或钩状。菌株在高氏 1 号培养基上, 气丝白色, 基丝黄褐色。菌株 WS1605 生理生化试验结果见表 3。综合形态及生理生化特征, 该菌株与枝链霉菌 *Streptomyces rameus* 基本相符^[13]。

表2 不同分离培养基对放线菌影响
Table 2 Effect of culture media on separating strains of *Actinomycetes*

培养基种类	放线菌数量/ $\times 10^5$	放线菌种类	种类数
高氏1号培养基	1.35	孢囊链霉菌属; 灰红紫类群; 灰褐类群; 粉红孢类群; 黄色类群; 烟灰类群	6
LNMS培养基	5.2	高温单孢菌属; 烟灰类群; 粉红孢类群; 金色类群	4
海藻糖-脯氨酸培养基	0.95	线杆菌属; 粉红孢类群; 金色类群; 烟灰类群	4
改良高氏二号培养基	1.1	线杆菌属; 间孢囊菌属; 灰褐类群; 粉红孢类群	4
改良脯氨酸培养基	2.7	粉红孢类群; 小单孢菌属; 金色类群	3
ZSSE培养基	2.1	诺卡氏菌属; 小单孢菌属; 金色类群	3
NA浸出液培养基	0.76	黄色类群; 灰红紫类群; 灰褐类群; 金色类群; 烟灰类群; 小单孢菌属	6

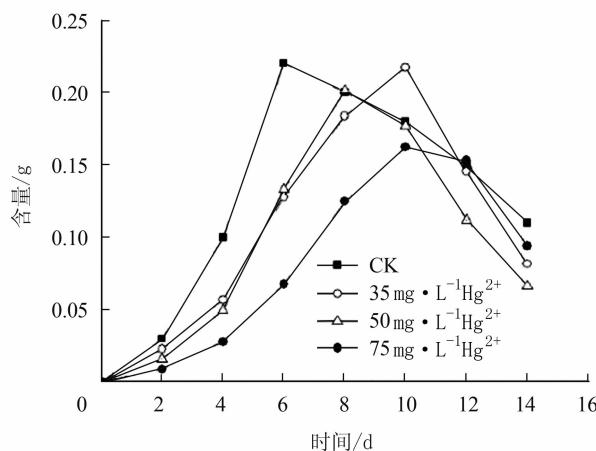


图2 汞胁迫下菌株WS1605生长曲线

Fig. 2 Growth of WS1605 under mercury stress

表3 菌株WS1605生理生化特征

Table 3 Physiological and biochemical characteristics of WS1605

项目	结果	项目	结果
柠檬酸盐试验	—	肌醇	+
硝酸盐还原	—	鼠李糖	+
淀粉水解	+	山梨醇	—
牛奶分解	+	柠檬酸钠	—
明胶液化	—	酪氨酸酶	+
蔗糖	+	L-阿拉伯糖	—
果糖	+	半乳糖	+

注: “+”表示阳性; “—”表示阴性。

菌株WS1605的16S rDNA经1%琼脂糖凝胶电泳检测的结果如图3所示。从电泳检测结果看出: 菌株的特异性片段的大小约为1.4 kb; DNA提取效果较好, 可以用于16S rDNA序列测定及分析。16S rRNA测序结果显示该基因片段长度为1 463 bp。运用MEGA 5.2软件Blast分析结果显示, 该菌株序列与枝链霉菌 *Streptomyces rameus* 相似度为99%。从构建的系统发育树(图4)中可

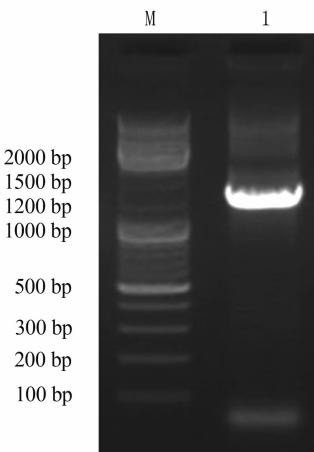


图3 菌株WS1605的PCR产物电泳

Fig. 3 Electrophoresis of PCR amplification of WS1605

注: M为Marker; 1为WS1605。

以看到, 菌株WS1605与枝链霉菌 LMG20326(T) (菌株登录号: AJ781379) 处于同一分支上, 亲缘关系近, 同源性高。结合相关的形态特征、培养特性及生理生化特征综合比较, 可以确定菌株WS1605为枝链霉菌 *S. rameus*。

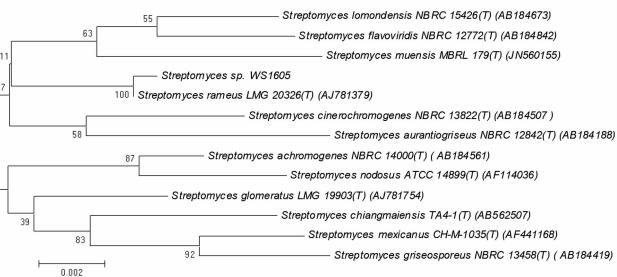


图4 基于WS1605 16S rDNA构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic trees based on 16S rDNA of WS1605 and related strains

3 讨论与结论

根据相关文献报道, 重铬酸钾是最理想的放线

菌分离抑制剂^[10, 15]。因此, 本研究直接使用重铬酸钾作为抑制剂探究其对放线菌分离的影响。结果显示重铬酸钾能明显抑制真菌菌丝的生长, 从而提高放线菌的出菌率。重铬酸钾的抑制机理可能是: 其强氧化性使真菌和细菌细胞表面的蛋白失活; 其铬离子作为一种重金属离子, 对细胞有较强的毒副作用。一些放线菌分离研究会将所分离的土样预先进行高温干热处理^[3, 16], 因此, 本研究比较了 3 种土样预处理方式对放线菌分离的影响, 结果发现干热处理后所分离的放线菌数量较直接 4℃ 保存处理的少约 29%, 其原因可能是土样高温干热过程在杀灭细菌的同时也损失了部分放线菌。为了尽可能地分离到更多种类的放线菌, 本研究运用了 7 种分离培养基, 共分离出 174 株放线菌菌株, 分属于 7 个属, 这表明重金属污染的喀斯特土壤放线菌也具有丰富的多样性。本研究从中筛选 1 株重金属汞抗性菌株 WS1605, 经鉴定该菌株为枝链霉菌 *S. rameus*, 该菌株能耐受 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 。曾艳等^[17]从河床底泥中分离得到 1 株能在 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 的平板上生长良好的高抗汞菌株 *Bacillus silvestris*。Xu 等^[18]从污染土壤经过驯化筛选获得到 1 株能抗 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{(II)}$ 的恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida*。综合比较分析, 本研究所分离出的汞抗性菌抗性水平较高, 能在 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 的培养基上生长良好。本试验没有进行放线菌吸附重金属汞能力的测定, 今后应加强该菌株的吸附条件优化、吸附机理、吸附动力学等方面深入研究, 以期为重金属污染土壤的生物修复奠定理论基础。

从贵州铜仁地区的 25 份土壤样品中, 采用梯度稀释涂布法, 利用 3 种处理方式、7 种培养基共分离出 56 株典型放线菌菌株, 经初步鉴定, 分属于链霉菌属、孢囊链霉菌属、高温单孢菌属、线杆菌属、间孢囊菌属、诺卡氏菌属、小单孢菌属; 其中链霉菌属放线菌占了 68%。筛选出了 1 株对汞有较高抗性水平 ($75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的放线菌菌株, 优良耐受菌株的最大抗性约 $85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 菌株经形态、生理生化、16S rDNA 基因序列分析, 为枝链霉菌 *S. rameus*。

参考文献:

- [1] 彭晚霞, 王克林, 宋同清, 等. 喀斯特脆弱生态系统复合退化控制与重建模式 [J]. 生态学报, 2008, 28 (2): 811–820.
- [2] 宋敏, 邹冬生, 杜虎, 等. 不同土地利用方式下喀斯特峰丛洼地土壤微生物群落特征 [J]. 应用生态学报, 2013, 24 (9): 2471–2478.
- [3] KUMAR V, BHARTI A, GUPTA V, et al. Actinomycetes from solitary wasp mud nest and swallow bird mud nest: isolation and screening for their antibacterial activity [J]. World journal of microbiology & biotechnology, 2012, 28 (3): 871–880.
- [4] PASSARI A, MISHRA V, SAIKIA R, et al. Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential [J]. Frontiers in microbiology, 2015, (6): 273–278.
- [5] 姚斌, 尚鹤, 刘成志, 等. 废弃柴河铅锌矿区土壤微生物特征调查研究 [J]. 林业科学研究, 2006, 19 (3): 400–403.
- [6] 李慧芬, 林雁冰, 王娜娜, 等. 一株 Zn 抗性菌株的筛选鉴定及吸附条件优化 [J]. 环境科学学报, 2010, 30 (11): 2189–2196.
- [7] HAMEDI J, DEHHAGHI M, MOHAMMDIPANAH F. Isolation of extremely heavy metal resistant strains of rare actinomycetes from high metal content soils in Iran [J]. International Journal of Environmental Research, 2015, 9 (2): 475–480.
- [8] POLTI M, APARICIO J, BENIMELI C, et al. Simultaneous bioremediation of Cr (VI) and lindane in soil by actinobacteria [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 88: 48–55.
- [9] 黄代宽, 董泽琴, 刘永霞, 等. 典型区域历史遗留土壤污染问题及其综合防治研究 [J]. 环境科学与管理, 2015, 40 (5): 54–58.
- [10] 彭云霞, 姜怡, 段淑蓉, 等. 稀有放线菌的选择性分离方法 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2007, 29 (1): 86–89.
- [11] ZHANG J, ZHANG L. Improvement of an isolation medium for actinomycetes [J]. Modern Applied Science, 2011, 5 (2): 124–127.
- [12] 阮继生. 放线菌分类基础 [M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [13] 中国科学院微生物研究所. 链霉菌鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1975.
- [14] PEREIRA S, LIMA A, FIGUEIRA E. Screening possible mechanisms mediating cadmium resistance in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceiae* isolated from contaminated Portuguese soils [J]. Microbial ecology, 2006, 52 (2): 176–186.
- [15] 安德荣, 慕小倩, 刘翠娟, 等. 土壤拮抗放线菌的分离和筛选 [J]. 微生物学杂志, 2002, 22 (5): 1–3.
- [16] 马爱爱, 徐世健, 敏玉霞, 等. 祁连山高山植物根际土放线菌生物多样性 [J]. 生态学报, 2014, 34 (11): 2016–2028.
- [17] 曾艳, 陈强, 王敏, 等. 一株高抗汞细菌的分离鉴定及其抗性基因的克隆与表达 [J]. 微生物学报, 2009, 49 (12): 1628–1633.
- [18] XU H, CAO D, TIAN Z. Isolation and identification of a mercury resistant strain [J]. Environment Protection Engineering, 2012, 38 (4): 67–74.

(责任编辑: 林海清)