

doi:10.11937/bfyy.20171122

## 耐铅镉菌株的筛选及其生长条件的优化

金忠民,赵婧佟,温昱晨,聂文军,刘丽杰

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院,黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:**以黑龙江扎龙湿地土壤为试材,采用形态特征观察、生理生化特性研究和16S rDNA序列系统发育分析的方法,研究了培养温度重金属、浓度、NaCl浓度、pH、抗生素种类和氧气对菌株生长的影响,以期为利用耐铅、镉菌株治理重金属污染提供参考依据。结果表明:筛选出的耐金属菌株初步鉴定其为 *Burkholderia* sp.,菌株最适温度为30℃,最适pH为7,可以在含盐量<6%的培养基上生长。随着NaCl浓度的升高,该菌株生长受到抑制。菌株可能属于好氧菌。对于其它重金属,在低浓度含Cu<sup>2+</sup>培养基生长,高浓度抑制,对Cr<sup>6+</sup>不具耐性。该菌株能在含有不同低浓度的抗生素环境下生长,高浓度时抑制生长。

**关键词:**耐Pb<sup>2+</sup>/Cd<sup>2+</sup>菌株;分离鉴定;生物学特性

**中图分类号:**Q 949.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)24-0065-07

随着经济的发展和生活水平的提高,人们对健康越来越重视,对身边的环境要求越来越高。随着工业的发展,重金属对土壤及水质资源

**第一作者简介:**金忠民(1968-),女,博士,副教授,研究方向为污染生态学与植物生理及遗传多样性。E-mail:yyy6768@163.com

**收稿日期:**2017-07-18

等的污染日趋严重<sup>[1]</sup>。重金属进入人体后会抑制酶的活性,尤以汞、镉和铅的危害最大<sup>[2]</sup>。重金属铅积累过量会导致肾脏衰竭、智力下降等中毒症状<sup>[3]</sup>。镉是一种潜在的致癌物,其毒性很强,人体长期摄入积累可引起骨痛病、心血管和脑部功能障碍等疾病<sup>[4]</sup>。因此,有效治理重金属污染显得尤为必要。

0.16,0.32,0.64,1.28,2.56 mg·mL<sup>-1</sup>, the suitable concentration (0.64 mg·mL<sup>-1</sup>) to F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> generation of *Drosophila melanogaster* were screened to further study. The results showed that there was a significant reduction in the amount of spawning when feeding rifampicin above 0.64 mg·mL<sup>-1</sup> ( $P < 0.05$ ), but no impact below 0.64 mg·mL<sup>-1</sup>. After feeding rifampicin to female fruit fly(C0) in F<sub>0</sub> generation, the developmental duration of offspring female worm were significantly higher than control whiteflies( $P < 0.05$ ), and the amount of pupation of treatment B0(feeding rifampicin to male fruit fly) were significantly higher than treatment C0 and D0(feeding rifampicin to male and female fruit fly) ( $P < 0.05$ ). In F<sub>1</sub> generation, there was significant changes in the amount of pupation and feather, the developmental duration and the sex ratio in treatment b1and C1( $P < 0.01$ ), and treatment D1 led to significant reduction in the amount of spawning ( $P < 0.01$ ), which from 14.47 down to 1.93. They could not grow up to adult because of the dramatic decrease of the amount of pupation and feather. The results showed that the amount of spawning of offspring fruit fly were reduced by the antibiotic rifampicin.

**Keywords:** rifampicin; *Drosophila melanogaster*; egg load; pupation; emergence; development duration; sex ratio

相比较传统的物理法和化学法,生物吸附法由于费用低、高效,不易造成二次污染而在重金属污染治理中逐渐被广泛运用<sup>[5-6]</sup>。虽然目前报道的耐铅、镉微生物种类较多,但共同耐铅镉菌株种类很少,而且这些菌株很多耐铅镉能力不强,遗传不稳定,菌体生长条件受限等诸多问题,所以可以进一步开展耐铅镉微生物的筛选。

很多情况下,在受重金属污染的地区可筛选到吸附重金属的微生物<sup>[7]</sup>。国内外一些研究机构已开展了大量研究工作,取得了一系列的成果<sup>[8]</sup>。罗雅等<sup>[9]</sup>从矿区重金属污染土中筛选耐铅菌株,菌株 J3 对重金属铅有较强的耐受性和环境适应能力。周赓等<sup>[10]</sup>从重金属镉污染土壤中分离筛选出一株耐镉能力的细菌,菌株 CdTB02 在最佳耐镉生长条件下对 Cd<sup>2+</sup> 的吸附率达到 94% 以上。CHATTERJEE 等<sup>[11]</sup>的研究表明,分离自铅污染水中的耐性菌株可以有效地修复污染水体。SURASAK 等<sup>[12]</sup>从锌矿区的土样中筛选出耐镉细菌,其平均耐受 CdCl<sub>2</sub> 能力达到 2.5 mmol · L<sup>-1</sup>。

根据郝宇等<sup>[13]</sup>的研究结果,该研究从重金属污染较严重的扎龙湿地土壤中取样,结合形态学观察、生理生化试验和分子鉴定等方法,筛选出一株耐 Pb<sup>2+</sup>/Cd<sup>2+</sup> 的细菌,研究了培养温度、重金属浓度、NaCl 浓度、pH、抗生素种类和氧气对菌株生长的影响,以期为利用耐铅、镉菌株治理重金属污染提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试土壤样品取自黑龙江省齐齐哈尔扎龙湿地。

供试低磷含氮培养基:0.05 g NaCl, 0.25 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.25 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.25 g CaCO<sub>3</sub>, 0.5 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.25 g 酵母粉, 5.0 g 蔗糖, 10.0 g 琼脂, 500 mL 去离子水, pH 7.2, 121 ℃ 湿热灭菌 20 min<sup>[13]</sup>; Luria-Bertani 培养基:2.5 g 酵母浸膏, 5.0 g NaCl, 5.0 g 胰酪蛋白胨, 500 mL 去离子水, pH 7.2, 121 ℃ 湿热灭菌 20 min<sup>[14]</sup>。

供试抗生素:注射用氨苄青霉素钠、注射用阿莫西林钠、注射用头孢他定、注射用盐酸环丙沙购于康为公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 菌株筛选

用灭菌的生理盐水将土壤样品制备成土壤悬浊液,稀释涂布在添加 Pb<sup>2+</sup> (500 mg · L<sup>-1</sup>) 和 Cd<sup>2+</sup> (100 mg · L<sup>-1</sup>) 的初筛培养基(低磷含氮培养基)上,30 ℃ 培养 24 h。在平板上挑选长势较好的菌落进行划线分离纯化,在培养基上逐步提高 Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 的浓度,直到菌株不生长为止。经过复筛,最终筛选出耐 Pb<sup>2+</sup> (1 500 mg · L<sup>-1</sup>) 和 Cd<sup>2+</sup> (300 mg · L<sup>-1</sup>) 的菌株,挑出 1 株长势最好的菌株用于后续试验<sup>[15]</sup>。

#### 1.2.2 菌株形态学观察和生理生化特征鉴定

在低磷含氮培养基中培养后观察菌落的形态、边缘、颜色等,用革兰氏染色法染色,然后在光学显微镜下进行观察<sup>[16]</sup>。

葡萄糖、果糖、甲基红试验、V-P 试验、乙酰甲基醇试验、淀粉水解试验和动力试验方法参照参考文献[16]。

#### 1.2.3 菌株 16S rDNA 的序列分析

将对数期的菌液进行离心,然后收集菌体,再提取基因组总 DNA,根据细菌 16S rDNA 的序列设计以及引物的合成。将基因扩增的产物经纯化后送到上海美吉生物公司测序,将所得序列与 GenBank 中核苷酸数据库中已有的 16S rDNA 序列进行相似性比对分析,利用 MEGA 软件构建系统发育树。

#### 1.2.4 菌株生长曲线测定

将耐性菌株接种在低磷含氮的液体培养基中,在 48 h 周期里,每 2 h 取样一次,恒温震荡后在紫外分光光度计下测定菌体 OD 值 (600 nm)<sup>[17]</sup>。

#### 1.2.5 菌株生长条件的优化

温度对菌株生长的影响:取新鲜种子液接种于 LB 液体培养基中,分别置于 10、22、30、32、37、40 ℃ 温度下振荡培养 24 h,取样测定 OD 值<sup>[14]</sup>。

NaCl 浓度对菌株生长的影响:取新鲜种子液接种于 NaCl 浓度分别为 1%、2%、4%、6%、8% 的 LB 液体培养基中,30 ℃ 振荡培养 24 h 后,取样测定 OD 值<sup>[15]</sup>。pH 对菌株生长的影响:取新鲜种子液分别接种于的 pH 为 3、5、7、8、9 的 LB 液体培养基中,30 ℃ 振荡培养 24 h,取样测定 OD 值<sup>[15]</sup>。

氧气对菌体生长的影响:取新鲜种子液分别接种于低磷有氮液体培养基中,晃动试管,使菌株均匀分布,把试管置于冰浴中,使琼脂迅速凝固。30 ℃培养后连续进行观察,直至结果清晰为止<sup>[18]</sup>。

### 1.2.6 其它重金属对菌株的影响

把新鲜菌株接种在含不同浓度重金属( $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$ 、 $Cr^{6+}$ )的培养基上,30 ℃培养菌株,观察其生长情况<sup>[18]</sup>。

### 1.2.7 抗生素对菌株的影响

将新鲜耐性菌株接种在含不同浓度抗生素的培养基上,30 ℃培养,观察菌株生长情况<sup>[18]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株形态结构观察

由图1可知,菌株菌落呈淡白色、圆形、较小,表面光滑,不透明;经鉴定,该菌株为革兰氏阴性菌,杆状(图2)。



图1 菌株菌落形态

Fig. 1 Colony morphology of strain

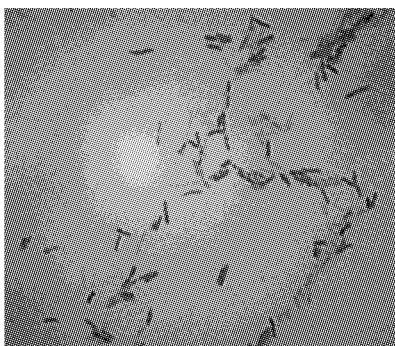


图2 显微镜中菌株形态

Fig. 2 Morphology of the strains in the microscope

### 2.2 菌株的生理生化鉴定

如表1所示,该菌株的葡萄糖、果糖、乙酰甲基醇、过氧化氢酶、精氨双水解、柠檬酸盐、动力试验结果均为阳性,记为“+”。淀粉水解、甲基红、尿素酶、明胶液化试验结果均为阴性,记为“-”。

表1 菌株的生理生化特征鉴定

Table 1 Physiological and biochemical characteristics identification of strains

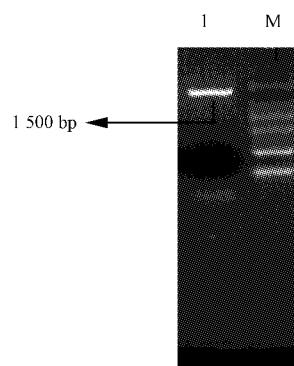
项目 Item	结果 Result
葡萄糖	+
果糖	+
淀粉水解	-
甲基红	-
乙酰甲基醇	+
尿素酶	-
动力	+
过氧化氢酶	+
精氨双水解	+
明胶液化	-
柠檬酸盐	+
鉴定结果	肠杆菌科

注:+,生长;-不生长。下同。

Note:+, Growth; -, No growth. The same below.

### 2.3 菌株16S rDNA的序列分析

菌株16S rDNA的扩增结果如图3所示。得到长度约为1 500 bp的扩增产物,与预期结果一致。序列与洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)有较高的同源性(97%),初步鉴定该菌株为肠杆菌科伯克霍尔德氏菌属洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*),命名为JB14。



注:1. 目的条带;M, DL 2 000 Marker。

Note: 1. Target band; M, DL 2 000 Marker.

### 图3 16S rDNA的PCR扩增结果

Fig. 3 PCR amplified result of 16S rDNA

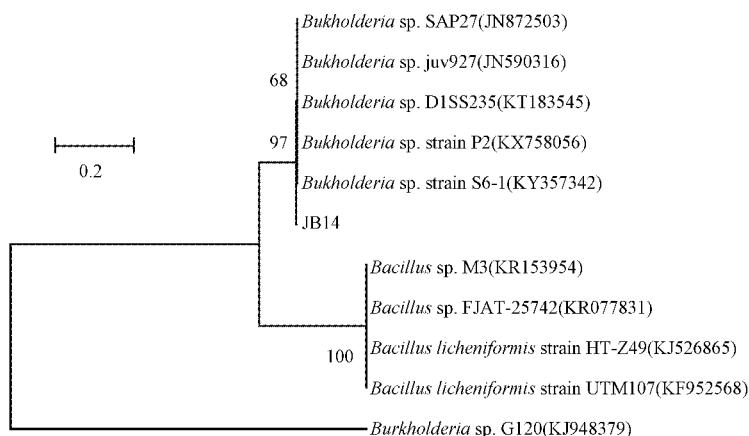


图 4 菌株的系统发育分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of the strain

## 2.4 菌株生长曲线测定

由图 5 可知, 菌株在接种 0~4 h 内处于延迟期; 4~22 h 内属于生长期; 在培养了 22 h 后菌株开始进入稳定期, 在 32 h 后进入衰亡期。

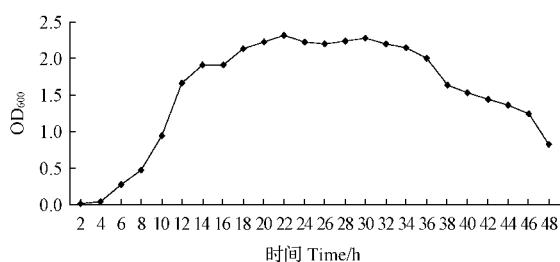


图 5 菌株生长曲线

Fig. 5 Growth curve of strain

## 2.5 环境变化对菌株的影响

### 2.5.1 温度对菌株生长的影响

温度对蛋白质和核酸等生物大分子的结构和功能等方面的影响较大, 影响菌株的生长、自身繁殖和新陈代谢活动。菌体的生长环境温度很低时, 酶的活力受到抑制, 细胞的新陈代谢就会很慢, 菌体的生长环境温度很高时, 会导致菌体蛋白质、核酸等变性失活, 菌株生长状况差<sup>[19]</sup>。

由图 6 可知, 温度对菌株生长影响明显, 该菌株最适宜的培养温度在 22~37 °C。在 10 °C 和 40 °C 的菌体生长比较慢, 超过 30 °C 菌株的生长

速率降低。刘笑廷等<sup>[19]</sup>研究发现, 菌株 EB12-6 在 12~45 °C 时, 生长良好, 在 10~12 °C 时, 生长缓慢, 当培养温度超过 37 °C 后, 菌株的生长抑制明显。

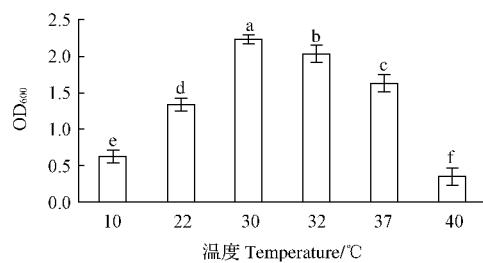


图 6 温度对菌株生长的影响

Fig. 6 Influence of temperature on growth of strain

### 2.5.2 NaCl 浓度对菌株生长的影响

渗透压是维持细胞自身生长的必要条件之一, 微生物根据其不同的渗透压变化, 会有不同的适应能力。一般情况下, 细胞在高渗透压的环境中, 就会因为失水而收缩, 这是因为  $\text{Na}^+$  的作用, 其生长和繁殖受到抑制<sup>[19]</sup>。

由图 7 可知, 该菌株随着  $\text{NaCl}$  浓度的增大, 菌株的生长速率逐渐受到抑制, 当盐浓度达到 8% 时, 几乎不能正常生长。陈燕飞<sup>[20]</sup>研究发现, 用不同质量分数的  $\text{NaCl}$  培养细菌, 在质量分数为 3% 以下时能正常生长, 在 5% 的溶液中生长受到抑制。

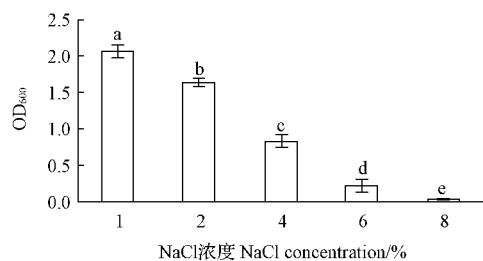


图7 盐浓度对菌株生长的影响

Fig. 7 Influence of salt concentration on growth of strain

### 2.5.3 pH 对菌株生长的影响

菌株在不同 pH 环境中的变化可以看出其适应能力。不同微生物对 pH 条件变化的要求各不相同,一般情况下,菌株只能在很小的范围内生长,每个菌株的生长最适宜的范围也不太相同。

由图 8 可以看出,该菌株最适的 pH 为 7,在 pH 7~8 范围内生长良好,不能在强酸环境中生长,强碱环境可以生长。当 pH 达到 7 后,重金属离子形态被改变,导致金属离子被吸附量减小<sup>[21]</sup>。

### 2.5.4 氧气对菌体生长的影响

氧气对菌体的生长影响是不同的,这体现在很多微生物在对氧的需求方面和耐受能力不一样。由于不同种类微生物细胞内生物氧化酶系统的差别,微生物常分为微好氧菌、好氧菌、专性厌氧菌、兼性厌氧菌和耐氧厌氧菌等 5 类。该试验以深层琼脂法来测定氧对菌株生长的影响,结果

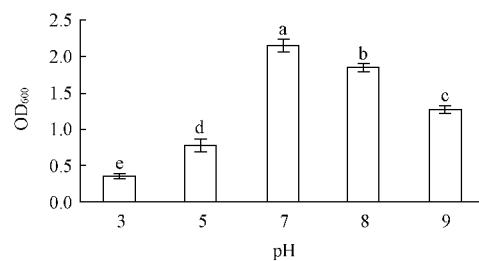


图8 pH 对菌株生长的影响

Fig. 8 Influence of pH on growth of strain

表明,菌株在试管上面和中间部分地方生长,试管底部未见生长,因此株菌可能属于好氧菌<sup>[22]</sup>。

### 2.6 其它重金属对菌株的影响

在自然环境下,环境污染多是由多个元素共存与作用造成,元素之间的交互作用使复合污染对生态系统的效应更为复杂,因而重金属复合污染的研究逐渐成为近年来环境科学的新热点。研究菌株对多种重金属的耐性,将为其应用于重金属复合污染土壤的生物修复提供前提条件<sup>[23]</sup>。

由表 2 可知,在含浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  的培养基中良好生长,浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以后受到抑制。在含浓度( $100 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $\text{Zn}^{2+}$  和 ( $10 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $\text{Ni}^{2+}$  培养基中良好生长,对  $\text{Cr}^{6+}$  不具耐性。冀伟等<sup>[23]</sup>研究发现,重金属的浓度较低时, $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  对该细菌的生长影响很小,而  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Ag}^{+}$  则明显影响了该菌的正常生长。

表 2

其它重金属对菌株生长的影响

Table 2

Effects of other heavy metals on strain growth

$\text{Cu}^{2+}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$			$\text{Zn}^{2+}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$			$\text{Ni}^{2+}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$			$\text{Cr}^{6+}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		
10	20	40	100	200	400	10	20	40	10	20	40
+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-

### 2.7 抗生素对菌株的影响

抗生素是由微生物或高等动植物在生活过程中所产生的具有耐病原体或其它活性的一类次级代谢产物,能干扰其它生活细胞发育功能的化学物质<sup>[24]</sup>。在土壤里抗生素与其它微生物相互竞争生存空间,所以抗生素的浓度变化能影响菌株的生命活动。

由表 3 可知,菌株在低浓度的抗生素培养基中生长的很好,在高浓度的耐生素培养基中不生长。相对于其它 3 种抗生素,菌株对注射用氨苄青霉素钠抗药性可能强一些。杨芬等<sup>[24]</sup>研究发现,低浓度重金属与抗生素共存时表现为协同抗性,高浓度时则表现为协同杀菌。

表 3

Table 3

抗生素对菌株生长的影响

Antibiotics on the influence of strain growth

注射用氨苄青霉素钠 Ampicillin sodium for injection /(mg·L <sup>-1</sup> )			注射用阿莫西林钠 Amoxicillin sodium for injection /(mg·L <sup>-1</sup> )			注射用头孢他定 Cephalosporin vial for injection /(mg·L <sup>-1</sup> )			注射用盐酸环丙沙星 Ciprofloxacin hydrochloride for injection /(mg·L <sup>-1</sup> )		
100	200	400	40	80	160	40	80	160	40	80	160
+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-

### 3 结论与讨论

在土壤里,细菌具有种类丰富、生命周期短、繁殖力强和取材简易等特点,可以多关注微生物在对重金属方面的作用<sup>[25]</sup>。利用微生物的优点处理重金属污染的土壤,有针对性的筛选特定的耐重金属菌种,可以为土壤重金属修复提供重要的试验材料和理论依据<sup>[26]</sup>。

该研究从黑龙江扎龙湿地土壤中筛选出的一株耐铅镉的菌株,通过形态特征观察、生理生化特性研究和 16S rDNA 序列系统发育分析,初步鉴定其为 *Burkholderia* sp., 研究不同条件,温度、pH、NaCl 浓度、抗生素和氧气对菌株生长的影响。结果表明,菌株能在含 Pb<sup>2+</sup> (1 500 mg·L<sup>-1</sup>) 和 Cd<sup>2+</sup> (300 mg·L<sup>-1</sup>) 的培养基中生长,最适温度为 30 ℃,低温和高温都不利于生长。能在 pH>3 的环境中生长,pH 范围为 7~9,最适 pH 为 7,能在强碱中生长,强酸不适合。可以在含盐量<6% 的培养基上生长。随着 NaCl 浓度的升高,该菌株生长受到抑制。株菌可能属于好氧菌。对于其它重金属,在含 Cu<sup>2+</sup> 培养基低浓度生长,高浓度抑制。对 Cr<sup>6+</sup> 不具耐性。该菌株对耐生素的耐受性也较常见,能在含有不同低浓度的环境下生长,高浓度时被抑制生长。

具有耐重金属的菌株的应用不仅有利于土壤与微生物竞争生存空间<sup>[27]</sup>,还有利于治理污染的环境。基于微生物对重金属的积累和解毒作用,可以用来净化有毒金属污染。

### 参考文献

- [1] 刘刊,王波,权俊娇,等.土壤重金属污染修复研究进展[J].北方园艺,2012(22):189-194.
- [2] 智杨,孙挺,周启星,等.铅低积累大豆的筛选及铅对其豆中矿物营养元素的影响[J].环境科学学报,2015,35(6):1939-1944.
- [3] 徐慧,陈明.土壤铅、镉污染及其微生物修复研究进展[J].安徽农业科学,2015,43(1):65-67.
- [4] 黄银华,李铖,李芳柏,等.广州市农业表层土壤镉和铅多尺度空间结构[J].土壤,2015,47(6):1144-1150.
- [5] MOHAMMED U M, NORMALA H. Screening and isolation of heavy metal tolerant bacteria in industrial effluent[J]. Procedia Environmental Sciences,2015,30:33-37.
- [6] GROUDEV S, GEORGIEV P, SPASOVA I, et al. Decreasing the contamination and toxicity of a heavily contaminated soil by *in situ* bioremediation[J]. Journal of Geochemical Exploration,2014,144:374-379.
- [7] 金羽,曲娟娟,李影,等.一株耐铅细菌的分离鉴定及其吸附特性研究[J].环境科学学报,2013,33(8):2248-2255.
- [8] 魏清清,李姜维,杨金燕,等.钒抗性微生物的筛选[J].湖北农业科学,2015,54(5):1073-1076.
- [9] 罗雅,蒋代华,夏颖,等.一株耐铅细菌 J3 的筛选分离及其生物学特性[J].南方农业学报,2011,42(9):1041-1044.
- [10] 周康,邓成刚,曹林友,等.一株耐镉细菌的筛选、鉴定与性质研究[J].化学与生物工程,2016,33(3):43-47.
- [11] CHATTERJEE S, MUKHERJEE A, SARKAR A, et al. Bioremediation of lead by lead-resistant microorganisms, isolated from industrial sample[J]. Advances in Bioscience and Biotechnology,2012,3(3):290-295.
- [12] SURASAK S, WILAILAK S. Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: Potential for microbial bioremediation[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2013,94(1):94-103.
- [13] 郝宇,张艳馥,刘丽杰,等.扎龙湿地土壤重金属含量与土壤理化性质的相关性研究[J].北方园艺,2013(24):167-171.
- [14] 陈金春,陈国强.微生物学实验指导[M].北京:清华大学出版社,2005.
- [15] 金忠民,郝宇,刘丽杰,等.一株铅镉抗性菌株的分离鉴定及其生物学特性[J].环境工程学报,2015,9(7):3551-3557.
- [16] 杜连祥,路福平.微生物学实验技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005.
- [17] 史进纳,黄位权,蒋代华,等.一株耐铅镉细菌的筛选及其生理特性[J].西南农业学报,2015,28(5):2022-2024.
- [18] 江春玉.重金属铅镉抗性菌株的筛选、生物学特性及其强化

- 植物修复铅镉污染土壤的研究[D].南京:南京农业大学,2005.
- [19] 刘笑廷,袁野海,鑫华,等.镉抗性植物内生菌 EB12-6 菌株的筛选及去除 Cd<sup>2+</sup> 的初步研究[J].南方农业,2016,10(22):103-106.
- [20] 陈燕飞.渗透压对细菌的影响[J].太原师范学院学院(自然科学版),2012,11(1):136-139.
- [21] GONTE R, BALASUBRAMANIAN K. Heavy and toxic metal uptake by mesoporous hypercrosslinked SMA beads: Isotherms and kinetics[J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2013(4):1-12.
- [22] 周元良,柳国霞,刘飞,等.氧气对干酪乳杆菌生长和活力的影响[J].食品工业科技,2011,11(32):209-233.
- [23] 冀伟,刘瑞,常亮,等.一株抗铅细菌的筛选及鉴定[J].长春理工大学学报(自然科学版),2014,37(6):141-150.
- [24] 杨芬,巢波杨,万红,等.一株抗生素和重金属交叉抗性菌的筛选及抗性研究[J].环境工程学报,2017,11(2):1287-1292.
- [25] MOHAMED Y M, GHAZY M A, SAYED A, et al. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant, thermophilic esterase from a Red Sea brine pool[J]. Scientific Reports, 2013, 28(3):3350-3358.
- [26] KAPLAN H, RATERING S, HANAUER T, et al. Impact of trace metal contamination and *in situ* remediation on microbial diversity and respiratory activity of heavily polluted kastanozem[J]. Biology and Fertility of Soils, 2014, 50(5):735-744.
- [27] GADD G M. Microbial roles in mineral transformations and metal cycling in the earth's critical zone[M]//XU J M, SPARKS D L. Molecular environmental soil science. Netherlands: Springer, 2013:115-165.

## Screening Strains Resistant of Lead and Cadmium and Growth Conditions Optimization

JIN Zhongmin, ZHAO Jingtong, WEN Yuchen, NIE Wenjun, LIU Lijie

(College of Life Science and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

**Abstract:** This experiment is based on the soil of Zalong wetland in Heilongjiang Province, using the method of state characteristic observation, physiological and biochemical characteristics and the development analysis of 16S rDNA sequence systems, the effects of temperature, heavy metal concentration, NaCl concentration, pH, antibiotic type and oxygen on the growth of strain were studied, in order to provide reference for the use of lead-resistant and cadmium strains to control heavy metal pollution. The results showed that a strain resistant to heavy metals was screened and initially identified as *Burkholderia* sp, the optimum temperature was 30 °C and the optimum pH was 7. It could be grown on medium with salt content <6%. With the increase of NaCl concentration, the growth of the strain was inhibited. The strain might belong to aerobic bacteria. For other heavy metals, in the low concentration of Cu<sup>2+</sup> containing medium growth, high concentration inhibition, not resistant to Cr<sup>6+</sup>. The strain could grow in an environment containing different concentrations of antibiotics, high concentrations were inhibited when grew.

**Keywords:** Pb<sup>2+</sup>/Cd<sup>2+</sup> resistant strain; isolation and identification; biological characteristics