

# 抗锰细菌的分离鉴定及其对生猪养殖粪水中锰的去除效果

许爱清<sup>1</sup>, 向言词<sup>1</sup>, 杨光玺<sup>1</sup>, 郭盈希<sup>2</sup>, 宋早文<sup>1</sup>

(1. 湖南科技大学生命科学学院, 湖南 湘潭 411201; 2. 江门出入境检验检疫局, 广东 江门 529000)

**摘要:** 为筛选对锰污染环境进行微生物治理的抗锰菌, 从湘潭锰矿的矿石和锰尾矿坝采集土样, 通过含  $MnSO_4$  的固体平板法分离、纯化抗锰细菌, 依据形态学特性和 16S rDNA 序列的系统发育分析对抗锰菌株进行鉴定; 抗锰菌株在含 0.005、0.010、0.015 mol/L  $MnSO_4$  的培养液中生长后, 用火焰原子吸收光谱法测定抗锰菌培养液的离心上清液中  $Mn^{2+}$  的含量, 计算  $Mn^{2+}$  的去除率; 通过正交试验, 以生猪养殖粪污水原液直接接种抗锰细菌液体菌种, 检测抗锰菌的除锰能力。结果表明: 1) 筛选、分离出 1 株抗锰菌, 将其定名为 KM01, 经鉴定, 该菌为一种沙雷氏菌; 2) 在含 0.005、0.010、0.015 mol/L  $MnSO_4$  的培养液中, 菌株 KM01 能吸附  $Mn^{2+}$ , 并以黑褐色沉淀形式沉降析出, 28 °C 下培养液中  $Mn^{2+}$  的沉降去除率分别为 94.8%、95.8% 和 89.1%; 3) 在 28 °C、pH 7 与接种量 1% 时, 生猪养殖废水中  $Mn^{2+}$  的沉降去除率分别为 94.8%、95.8% 和 89.1%; 3) 在 28 °C、pH 7 与接种量 1% 时, 生猪养殖废水中  $Mn^{2+}$  的吸附沉降去除率为 80.5%, 表明抗锰沙雷氏菌 KM01 在生猪养殖粪污水的沉降除锰中具有应用潜力。

**关键词:** 锰; 抗锰细菌; 粘质沙雷氏菌; 生猪养殖; 粪污水

中图分类号: X592; Q93.331

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2015)03-0307-06

## Isolation, identification of a manganous salt resistant bacterium and manganese removal from pig-breeding fecal wastewater

Xu Aiqing<sup>1</sup>, Xiang Yanci<sup>1</sup>, Yang Guangxi<sup>1</sup>, Guo Yingxi<sup>2</sup>, Song Zaowen<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan, Hunan 411201, China; 2. Jiangmen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jiangmen, Guangdong 529000, China)

**Abstract:** To screen manganous-salt resistant bacteria for the microbial treatment of manganese polluted environment. The soil samples were collected from the manganese ore yard and manganese tailing dams in the Xiangtan Manganese Industry Co. Ltd.. The manganous salt-resistant bacteria were isolated on manganous sulfate containing solid plate. The morphology characteristics and phylogenetic analysis of the 16S rDNA sequence were used for the identification of the strain KM01. The flame atomic absorption method for the determination of the manganese concentration in centrifuged broths containing 0.005 mol/L, 0.01 mol/L and 0.015 mol/L of manganous sulfate was used to calculate the removal rate of manganese. Through an orthogonal experimental design, the liquid inocula of KM01 were directly inoculated into the crude pig-breeding fecal wastewater was used to detect the manganese removal capacity of the strain. 1) A manganous salt-resistant bacterium KM01 was isolated and identified as *Serratia* sp. 2) In the broths containing manganous sulfate, KM01 could biosorb manganous ion and produce dark brown precipitate. The removal rate of manganese reaches 94.8%, 95.8% and 89.1%, respectively. 3) The removal rate of manganese in the wastewater reaches 80.5% under the condition of 28 °C, pH 7 and 1% of inoculum size. The manganous salt-resistant strain *Serratia* sp. KM01 has potential application in the precipitation and removal of manganese in organic wastewater containing manganous ion the same as pig-breeding fecal wastewater.

**Keywords:** manganese; manganous salt resistant bacterium; *Serratia marcescens*; pig-breeding; fecal wastewater

锰(Mn)是生物体必需的矿质元素。人体缺锰会导致多种疾病的发生,但过量的锰对人体健康和人们的生活质量都有很大的危害<sup>[1-2]</sup>。锰矿废弃地、锰矿尾渣和电解金属锰、二氧化锰、钢铁冶炼等产生的含锰废物及高锰含量的地下水、地表水等是锰污染的主要来源<sup>[3]</sup>。中国湖南、重庆和贵州3地交界处的锰矿产业十分发达,是当今世界名列前茅的电解锰和锰矿石生产基地,当地环境锰污染严重。湖南湘潭锰矿经历了近1个世纪的开采,锰污染已经对当地儿童的生长发育造成了一定程度的不利影响<sup>[4]</sup>。对锰污染地区进行治理已显得极为迫切。

在生猪规模化养殖过程中有大量粪污废水产生。这些废水含有丰富的有机质、氮磷以及铜、锌、砷等重金属元素,易对环境造成污染和破坏<sup>[5]</sup>。在畜牧业和饲料工业中,锰元素通常以硫酸锰、蛋氨酸锰、叶绿素铁锰盐等形式添加到动物饲料中,以促进畜禽的良好发育,取得催肥效果。猪饲料中过量的锰元素大部分随粪便或尿液排出体外。目前,关于生猪规模化养殖过程导致的锰污染防治鲜见报道。

1913年,Beijerinck首次报道细菌对锰(II)的氧化作用,现已发现在水体、土壤和沉积物中均含有丰富的锰氧化菌<sup>[6]</sup>。锰氧化菌能使可溶性低价态锰( $Mn^{2+}$ )氧化生成不溶氧化态锰,如 $MnO_2$ 。这一自然现象能为锰污染的微生物修复提供指引。笔者研究抗锰细菌的分离鉴定与生猪养殖粪污废水的除锰方法,旨在为生猪养殖粪污废水的沉降除锰处理提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

从湘潭锰矿的矿石和锰尾矿坝的杂草根际采集土壤样本,保存于密封塑料袋中,用于抗锰菌种的筛选、分离。生猪养殖粪污废水采集于湘潭市某生猪养殖场。

牛肉膏蛋白胨固体平板培养基用牛肉膏 5 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 20 g、去离子水 1 000 mL 配制。抗锰菌选择性固体平板培养基以 0.1%(或 0.5%)  $MnSO_4 \cdot H_2O$  替代牛肉膏蛋白胨平板中的氯化钠(下文分别称其为抗锰菌(0.1%)选择性固体平板和抗锰菌(0.5%)选择性固体平板)。

### 1.2 主要仪器与试剂

主要仪器有 Mycycler<sup>TM</sup> Thermal Cycler PCR 仪(美国伯乐公司, Bio-Rad)、PowerPac<sup>TM</sup> Basic 电泳仪(美国伯乐公司, Bio-Rad)、Kodak Gel Logic 212 凝胶成像系统(Carestream Health INC., USA)、尼康 E100 生物显微镜系统(NIKON)和 AA-7000 原子吸收分光光度计(日本岛津)。

含锰培养液用牛肉膏 5 g、蛋白胨 10 g、 $MnSO_4 \cdot H_2O$  1 ~ 50 g、去离子水 1 000 mL 配制而成。TaKaRa *Taq*<sup>TM</sup> DNA 多聚酶试剂盒(含 TaKaRa *Taq* 和 10× PCR 缓冲液)购于宝生物(大连)工程有限公司。16S rDNA PCR 通用引物对 27F(5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3')和 1492R(5'-GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3')由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。dNTPs (各 2.5 mmol/L)购于北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司。亮柏蓝 I(Leucoberbelin blue I, LBB)试剂为安耐吉化学产品。 $Mn^{2+}$ 标准溶液(1 000  $\mu g/mL$ )为国家有色金属及电子材料分析测试中心产品。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 抗锰菌株的分离与纯化

取土壤样品 1 g 加入到 99 mL 灭菌生理盐水中,配成稀释度 1 : 100 的土壤悬液,轻微振荡,静置 10 min 后,用灭菌移液管移取其上层液体进行 10 倍系列梯度稀释,得到稀释度 1 : 100、1 : 1 000、1 : 10 000 的悬液。分别移取 0.2 mL 稀释菌液涂布于牛肉膏蛋白胨固体平板和抗锰菌(0.1%)、抗锰菌(0.5%)选择性固体平板,置于 28 °C 恒温培养箱中培养 2 ~ 3 d。每组重复 3 次。采用菌落计数法计数土壤中细菌总数和抗锰细菌的数量。从抗锰菌(0.5%)选择性固体平板上挑取单菌落数个,分别转接到空白的抗锰菌(0.5%)选择性固体平板上,用划线分离单菌落,28 °C 培养 2 ~ 3 d,得到抗锰细菌纯菌种,转接于试管斜面,28 °C 培养,待长满斜面后 4 °C 保存备用。选取 1 株在抗锰菌(0.5%)选择性固体平板表面产生黄红色色素的抗锰菌,用于后续研究。

#### 1.3.2 所选取菌株的形态学特征观察

用肉眼直接观察所选取菌株在固体平板生长的菌落形态和在液体培养基中的生长特性。挑取试管斜面上的菌苔制成涂片,经结晶紫简单染色后,

在普通光学显微镜油镜下观察菌体细胞的形态。

### 1.3.3 所选取菌株的 16S rRNA 基因序列分析

28 °C 下,在牛肉膏蛋白胨培养液中接种所选取菌株,振荡培养 36~48 h 后,将培养液 10 000 r/min 离心 10 min,收集菌体细胞。采用 SDS 碱裂解法抽提细菌基因组 DNA,以 1.0% 琼脂糖电泳检测 DNA 质量,-20 °C 保存,备用。用细菌 16S rDNA 特异性通用引物 27F/1492R 扩增菌株的 16S rRNA 基因片段。PCR 反应体系:10×Buffer(Mg<sup>2+</sup> plus)5.0 μL、dNTPs (各 2.5 mmol/L) 1.0 μL、引物 27F (20 μmol/L) 和 1492R (20 μmol/L) 各 1.0 μL、TaKaRa Taq (5 U/μL) 0.25 μL、DNA 模板 1.0 μL,向体系中加入 PCR 水至 50 μL。PCR 产物经琼脂糖电泳检测,然后委托生工生物工程(上海)股份有限公司测序,得到该菌株的 16S rDNA 大部分序列。在 GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) 中,通过 BlastN 程序进行相似序列的搜索对比,以 E 值 (expectation values) < 1.0e-05 为标准判别同源比对的显著性意义。通过 BankIt 软件提交序列到 GenBank 中。参照 LPSN 数据库 (<http://www.bacterio.net/>) 中沙雷氏菌属的菌种名和模式菌株的 16S rDNA 序列登录号,从 GenBank 的 nucleotide 数据库中搜索,并选择适当的模式菌株的 16S rDNA 序列。将所选取菌株和模式菌株的 16S rDNA 序列在 ClustalW1.83 程序中进行多序列比对,然后再利用分子进化遗传分析软件 MEGA5.10 构建 N-J 系统发育树 (Neighbor-Joining tree)。系统发育树可靠性检测的自举值设定为 1 000 次。以大肠杆菌的模式菌株为外群<sup>[7]</sup>确定所选取菌株的系统发育地位。

### 1.3.4 所选取菌株对 MnSO<sub>4</sub> 耐受能力的测定

配制含 Mn<sup>2+</sup> 培养液各 20 mL,分别以 0、0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%、0.50%、0.60%、0.70%、0.80%、0.90%、1.00%、2.00%、3.00%、4.00% 和 10.00% MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 替代牛肉膏蛋白胨液体培养基中 0.5% 的 NaCl。将接种量为 1% 且培养 18 h 后的液体菌种接种到不同 MnSO<sub>4</sub> 含量的培养液中,28 °C 培养箱中 150 r/min 振荡培养 48 h。根据菌体的生长浊度和产生色素的情况来评价所选取菌株对锰的耐受能力。

### 1.3.5 所选取菌株对 Mn<sup>2+</sup> 吸附沉降作用的测定

分别配制 MnSO<sub>4</sub> 浓度 0.005、0.010、0.015、0.020

mol/L 的牛肉膏蛋白胨培养液,分别取 20 mL 盛装于 100 mL 三角瓶中,2 个重复。接种培养 18 h 的菌种到各培养液中,分别置于 28、37 °C 振荡培养,48 h 后,以 10 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,用去离子水适当稀释上清,使其中 Mn<sup>2+</sup> 的质量浓度在火焰原子吸收光谱法测定的线性范围内 (0~5 mg/L 或 0~0.09 mmol/L),采用火焰原子吸收光谱法测定上清液中 Mn 元素的质量浓度 (M<sub>1</sub>)。根据 M<sub>1</sub> 与稀释倍数 (N) 之积计算出培养液中的锰残留量 (M<sub>2</sub>)。M<sub>2</sub> 与最初培养液中添加的 Mn<sup>2+</sup> 质量 (M<sub>0</sub>) 之差 (ΔM) 为锰去除量,ΔM 与 M<sub>0</sub> 之比为锰去除率。根据锰去除率的大小评价菌体对锰的吸附沉降能力。

### 1.3.6 所选取菌株对 Mn<sup>2+</sup> 氧化作用的测定

采用 LBB 指示剂法<sup>[8]</sup>检测氧化锰是否生成及其生成的量,测定原理为:环境中的锰离子被锰氧化细菌氧化,生成氧化锰,将培养液离心后,生成的氧化锰与菌体一起沉淀下来。当存在高价锰 (III~VII) 时,LBB 的显色基团被氧化,生成蓝色物质,而且 LBB 的显色反应不受 Mn<sup>2+</sup> 或 Fe<sup>2+</sup> 等其他离子的干扰。分别配制含 0.01 mol/L MnSO<sub>4</sub> 和 0.01 mol/L MnCl<sub>2</sub> 的牛肉膏蛋白胨培养液,接种所选取菌株,在 28 °C 振荡培养后,10 000 r/min 离心,收集菌体和黑褐色沉淀物。用 0.045 mol/L 的醋酸配制 0.04% 的 LBB 溶液 25 mL。取沉淀物,用 40 mL 超纯水悬浮后各取 1.0 mL,将其与 5 mL 的 0.04% LBB 混合,并轻微振荡,混匀,置于黑暗处过夜,观察溶液颜色的变化。

### 1.3.7 所选取菌株对生猪养殖粪污废水锰去除作用的测定

将温度、pH、接种量 3 个因素进行 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验。取生猪养殖粪污废水 50 mL 分装于三角瓶,直接接种所选取菌株的液体菌种,150 r/min 振荡培养 48 h 后,以 10 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,用原子分光光度计检测上清液中 Mn<sup>2+</sup> 的含量。以锰去除率为响应指标对正交试验数据进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 所筛选菌株的形态特征

稀释涂布平板法计数结果表明,土壤样品中细菌总数、抗 0.1% MnSO<sub>4</sub> 的细菌数以及抗 0.5% MnSO<sub>4</sub> 的细菌数都约为 3×10<sup>5</sup> CFU/g。平板上生长

的菌落形态有多种,挑取含 0.5%  $MnSO_4$  平板上的 1 个略显红色的菌落,经划线分离纯化后,得到 1 株抗锰菌细菌,将其定名为 KM01。28 °C 下培养 48 h,该菌株在牛肉膏蛋白胨斜面上产生鲜红的红色素(图 1)。将 KM01 在牛肉膏蛋白胨培养液中培养 48 h,在 28 °C 下菌液呈鲜红色,在 37 °C 下不产生红色素(图 2)。在油镜下染色观察,KM01 为杆菌。据此生长形态特性,初步判断 KM01 为粘质沙雷氏菌。



图 1 抗锰菌 KM01 的斜面状态  
Fig.1 Slant of Mn-resistant strain KM01

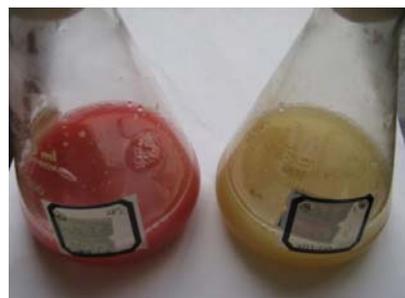


图 2 在温度 28 °C(左)和 37 °C(右)下抗锰菌 KM01 培养液的颜色

Fig.2 Broth color of the Mn-resistant strain KM01 under 28 °C and 37 °C

## 2.2 KM01 的 16S rRNA 基因序列分析

提取 KM01 的基因组 DNA,采用细菌 16S rDNA 特异性通用引物 27F/1492R 对其 16S rDNA 进行 PCR 扩增,扩增后的产物经测序,得到 1 462 nt 核苷酸序列,提交到 GenBank 数据库中的登录号为 KF206118。将该序列在 GenBank 中用 BLAST 程序进行搜索对比,结果表明,它与沙雷氏菌属(*Serratia*)中一些菌株的 16S rDNA 序列的一致性高达 99%。系统发育分析结果显示,KM01 与粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)聚类在一个分支(图 3),二者之间的亲缘关系最近,因此,可以确定 KM01 是一种沙雷氏菌,定名为 *Serratia* sp. KM01。

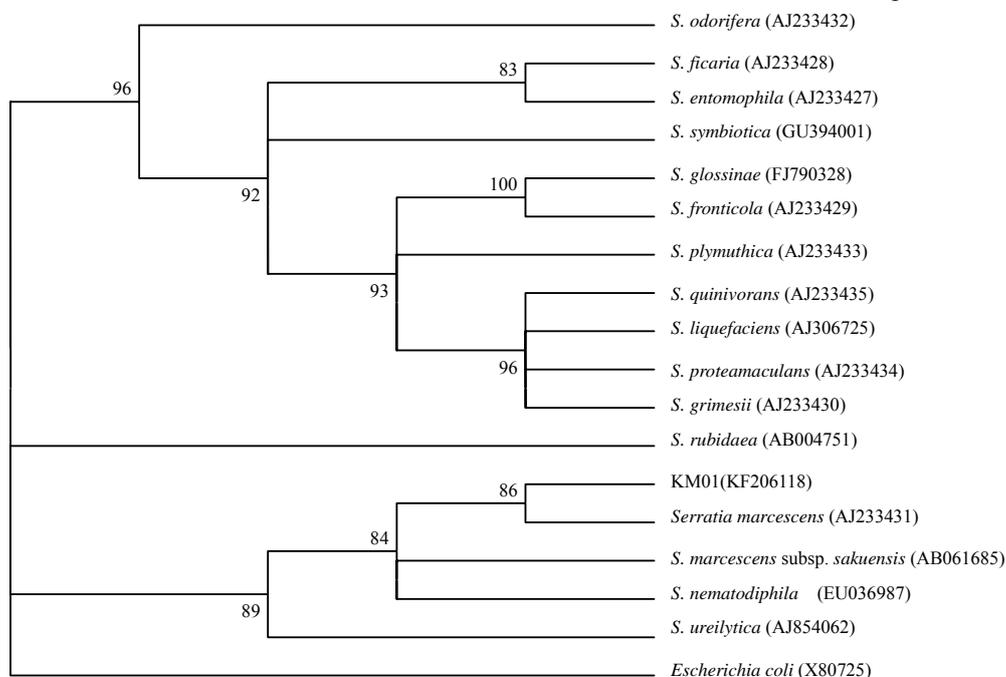


图 3 基于 16 S rRNA 基因构建的 N-J 系统发育树指示菌株 KM01 与沙雷氏菌属的亲缘关系

Fig.3 Neighbor-joining phylogenetic consensus tree based on the 16S rRNA gene sequences showing the relationships between strain KM01 and type strains of the genus *Serratia*

### 2.3 KM01 对 $MnSO_4$ 的耐受能力

以 1% 接种量接种液体菌种于含 0 ~ 10%  $MnSO_4$  的培养液中, 在 28 °C、150 r/min 振荡培养 48 h 后, 在含 0 ~ 4%  $MnSO_4$  的培养液中, 菌体细胞悬液浓密浑浊, 而且随  $Mn^{2+}$  含量的增大, 菌液颜色由红色变成黄色, 表明菌株 KM01 能耐受 4% 的  $MnSO_4$ 。

### 2.4 KM01 对 $Mn^{2+}$ 的吸附沉降作用

依据锰元素的火焰原子吸收光谱法测定的标准曲线(图 4), 计算出培养液上清中锰的残留量和去除率(表 1), 结果表明, 在培养液中  $Mn^{2+}$  质量浓度低于 825 mg/L(亦即 0.015 mol/L)、28 °C 下培养时,

菌株 KM01 对锰的去除率在 89% 以上。各组在 28 °C 培养时的沉降除锰能力比在 37 °C 时的强, 表明 28 °C 更适宜菌体生长与除锰能力的发挥。

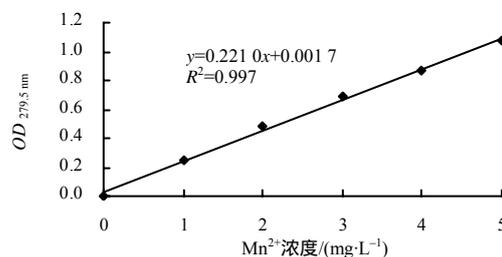


图 4 火焰原子吸收光谱法测定  $Mn^{2+}$  含量的标准曲线

Fig.4 Standard curve for  $Mn^{2+}$  concentration detected by flame atomic absorption spectroscopy

表 1 火焰原子吸收光谱法测定的上清液中锰的残留量

Table 1 Mn residue in the supernatant detected by flame atomic absorption spectroscopy

$Mn^{2+}$ 质量浓度/( $mg \cdot L^{-1}$ )	温度/°C	稀释倍数	$OD_{279.5 \text{ nm}}$	锰残留量/( $mg \cdot L^{-1}$ )	锰去除量/( $mg \cdot L^{-1}$ )	锰去除率/%
275	28	100	0.033 2	14.3	260.7	94.8
	37	100	0.131 1	58.6	216.4	78.6
550	28	200	0.027 1	23.0	527.0	95.8
	37	200	0.052 9	46.4	503.3	91.5
825	28	300	0.068 0	90.0	735.0	89.1
	37	300	0.086 5	115.2	709.8	86.0
1100	28	400	0.170 8	306.0	794.0	72.1
	37	400	0.201 2	361.2	738.8	67.1

### 2.5 KM01 对 $Mn^{2+}$ 的氧化作用

抗锰菌 KM01 在含  $MnSO_4$  和  $MnCl_2$  的牛肉膏蛋白胨培养液中生长时产生沉淀物。KM01 在含 0.01 mol/L  $MnSO_4$  培养液中培养, 10 000 r/min 离心 15 min 后, 得到红色的上清液(图 5-A 左)和黑色沉淀(图 5-A 右); KM01 在含 0.01 mol/L  $MnCl_2$  培养液中培养, 离心后得到淡红色的上清液(图 5-B 左)和褐色沉淀(图 5-B 右)。将沉淀物用去离子水重悬浮后, 加入 LBB 试剂, 混合液避光放置 24 h 后, 未呈现阳性反应的蓝色, 因此, KM01 对  $Mn^{2+}$  的氧化作用为阴性结果, 表明菌株 KM01 在培养过程中产生的黑褐色沉淀物不含氧化锰, 可排除菌株 KM01 对  $Mn^{2+}$  的氧化能力。菌株 KM01 产生含锰沉淀物的机理可能是: 细菌在生长过程中通过生物吸附作用将  $Mn^{2+}$  吸附在细胞表面, 还通过生物积累作用将  $Mn^{2+}$  富集到细胞内部吸收利用, 因此, 单个细胞的密度增大而容易发生沉降, 最终聚集成富含锰的细胞沉淀物。

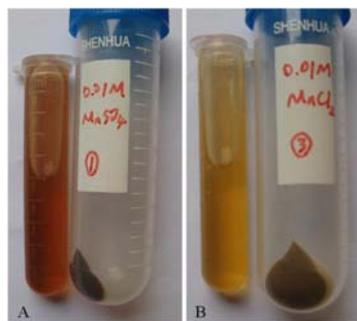


图 5 抗锰菌 KM01 在含锰培养液中产生的沉淀物

Fig.5 Precipitate produced after Mn-resistant strain KM01 growing in Mn-containing broth

### 2.6 KM01 对生猪养殖粪污废水中锰的去除作用

火焰原子吸收光谱法测定结果表明, 生猪养殖粪污废水原液中  $Mn^{2+}$  的含量为 0.192 8 mg/L。由正交试验结果(表 2、表 3)可知, pH 值、温度、接种量对锰的去除率依次减小, 但 3 个因素对响应变量(锰去除率)的影响无统计学意义( $P > 0.05$ ), 锰去除效率最高的因素组合为 pH 7、28 °C 和 1% 接种量。此试验条件下, 锰去除率为 80.5%。

表2 正交试验结果

试验号	因素				OD <sub>279.5nm</sub>	锰残留量/(mg·L <sup>-1</sup> )	锰去除率/%
	接种量	pH 值	温度	空列			
1	1(1%)	1(5)	1(20 °C)	1	0.021 8	0.091	52.8
2	2(3%)	1	2(28 °C)	2	0.019 5	0.081	58.2
3	3(5%)	1	3(37 °C)	3	0.023 2	0.097	49.5
4	1	2(7)	2	3	0.010 0	0.038	80.5
5	2	2	3	1	0.013 1	0.052	73.2
6	3	2	1	2	0.014 1	0.056	70.9
7	1	3(9)	3	2	0.023 5	0.099	48.8
8	2	3	1	3	0.029 5	0.126	34.8
9	3	3	2	1	0.021 4	0.089	53.8

表3 以锰去除率为响应指标的正交试验方差分析结果

变异来源	型离差平方和	自由度	均方差	F	标准差
酸碱度	1 360.696	2	680.348	30.599	0.032
接种量	42.136	2	21.068	0.948	0.513
温度	196.222	2	98.111	4.413	0.185
误差	44.469	2	22.234		
总变异	31 977.550	9			

接种抗锰菌 KM01 之前,生猪养殖粪污废水原液是具有恶臭的黑褐色有机废水;接种抗锰菌 KM01 后,废水的颜色从黑褐色变成浅灰色,色度明显降低,且恶臭气味消失。

### 3 结论与讨论

1) 从湘潭锰矿采集土壤样本,经分离纯化,得到 1 株抗锰细菌 KM01。该菌在 28 °C 产生红色素,而在 37 °C 不产色素。结合 16S rDNA 序列(KF206118)分析和系统发育分析,鉴定该菌为一种沙雷氏菌(*Serratia* sp. KM01)。

2) 抗锰沙雷氏菌 KM01 对 Mn<sup>2+</sup>有很强的抗性和吸附沉降能力。28 °C 时, KM01 在含 0~4% MnSO<sub>4</sub> 的牛肉膏蛋白胨培养液中都能正常生长,所产生的色素随 MnSO<sub>4</sub> 浓度的升高而由红变黄。KM01 在含 MnSO<sub>4</sub> 和 MnCl<sub>2</sub> 的培养液中生长,能产生含锰的沉淀物。经火焰原子吸收光谱法检测分析, KM01 在含 MnSO<sub>4</sub> (< 0.015 mol/L) 培养液中 28 °C 振荡培养 48 h, 锰去除率在 89% 以上。

3) 将抗锰沙雷氏菌 KM01 接种于含 Mn<sup>2+</sup> 0.192 8 mg/L 的生猪养殖粪污废水原液中,在 pH 7、28 °C 和 1% 接种量的试验条件下, 锰去除率为 80.5%。

粪污废水中 Mn<sup>2+</sup> 含量(0.192 8 mg/L)接近自然湖水水体中 Mn<sup>2+</sup> 含量的上限(0.004 ~ 0.200 mg/L)<sup>[9]</sup>。直接排放未经处理的粪污废水在农村生猪养殖业中比较常见。时间一长,环境中的锰就会累积起来。本试验中分离的抗锰沙雷氏菌 KM01,在

相当温和的培养条件(即只需调整生猪养殖废水的 pH 值至中性)接种培养后即可使其中的锰去除率达 80% 以上,表明抗锰菌 KM01 在含锰生猪养殖粪污废水的除锰处理方面具有应用潜力。

### 参考文献:

- [1] 姜义, 张吉库. 地下水中铁、锰的存在形式及去除技术探讨[J]. 环境保护科学, 2003, 29(1): 32-34.
- [2] 荆俊杰, 谢吉民. 微量元素锰污染对人体的危害[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(2): 6-9.
- [3] 凌薇薇, 吴晓芙, 陈永华, 等. 除锰微生物的筛选及其除锰特性研究[J]. 中南林业科技大学学报: 自然科学版, 2011, 31(6): 152-165.
- [4] 曾锡莲, 阳富强. 湖南省湘潭锰矿 596 名儿童发锰含量的调查报告[J]. 广东微量元素科学, 1995, 2(4): 32-35.
- [5] 谭莹, 李大胜. 生猪的规模化养殖与环境保护: 困境及选择——基于美国生猪产业养殖经验[J]. 中国农学通报, 2010, 26(13): 20-22.
- [6] 张震, 李林, 刘凡. 细菌氧化锰的分子机制[J]. 微生物学报, 2011, 51(2): 170-177.
- [7] 许爱清, 周士镭, 冯杏杏, 等. 1 株墨鱼干源中度嗜盐菌的系统发育分析与生长特性[J]. 食品工业科技, 2013, 34(21): 175-179.
- [8] Krumbein V E, Altmann H J. New method for detection and enumeration of manganese oxidizing and reducing microorganisms[J]. Helgolander Wiss Meeresunters, 1973, 25: 347-356.
- [9] 郝瑞霞. 锰的微生物地球化学[M]. 北京: 冶金工业出版社, 2000: 44.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 庠