

# 一株龙葵内生细菌 SDE06 去除 $\text{Cd}^{2+}$ 的实验

曹 喆 罗胜联\* 曾光明 肖 潇 万 勇 苏 峰

(湖南大学环境科学与工程学院 湖南 长沙 410082)

**摘 要:** 植物内生菌广泛存在于各种植物中, 对宿主的生命活动产生了各种影响。本研究通过对重金属镉(Cd)超累积植物龙葵(*Solanum nigrum* L.)内生菌优势种进行分离纯化, 并用含  $\text{Cd}^{2+}$  培养基初步筛选, 得到 7 株有抗性的菌株, 分别命名为 SDE01-07, 其中 SDE06 在  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 80 mg/L 的条件下仍能生长。经鉴定此菌株属芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)。对 SDE06 在不同条件下去除  $\text{Cd}^{2+}$  的情况进行研究, 结果表明: 正交实验得最佳实验条件为培养时间 36 h, pH 6.0, 温度 37°C, 初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 20 mg/L, 此条件下  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率达 80.2%。

**关键词:** 超累积植物, 龙葵, 内生菌, 去除率,  $\text{Cd}^{2+}$

## Removal of $\text{Cd}^{2+}$ by an Endophytic Bacteria SDE06 Obtained from *Solanum Nigrum* L.

CAO Zhe LUO Sheng-Lian\* ZENG Guang-Ming XIAO Xiao WAN Yong SU Feng

(College of Environmental Science and Engineering Hunan University, Changsha, Hunan 410082, China)

**Abstract:** The endophytic microorganisms found widely in many kinds of plants mediate various effects to their hosts. In this study, seven different dominant endophytes (SDE01 to 07) isolated from a Hyperaccumulator-*Solanum nigrum* L. were resistant to  $\text{Cd}^{2+}$ , and the strain SDE06 survived even in the medium containing 80 mg/L of  $\text{Cd}^{2+}$ . Bacteria strain SDE06 was identified as *Bacillus* sp.. The removal of  $\text{Cd}^{2+}$  of SDE06 in different conditions were studied. Under the optimal conditions, the incubating time was 36 h, the solution pH 6.0, the temperature was 37°C and the  $\text{Cd}^{2+}$  concentration of medium was 20 mg/L, the highest removal rate was up to 80.2% at this condition.

**Keywords:** Hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L., Endophytes, Removal rate,  $\text{Cd}^{2+}$

重金属污染是最严重、最难治理的环境问题之一, 其中, 镉(Cd)与铅、汞、DDT 和多氯联苯并称为对环境污染最危险的 5 种物质。含 Cd 废水的处理方法有化学沉淀法、离子交换树脂法、吸附法、电解法和生物法等。利用微生物处理含 Cd 废水具有吸附快速、处理效率高、可以对金属进行选择去除

和在运行过程中微生物能不断增殖等特点<sup>[1]</sup>。但是, 能高效去除 Cd 离子的微生物在环境中种类较少, 同时它在种间竞争中处于劣势, 因此传统的生物处理技术面临极大挑战<sup>[2]</sup>。如果能筛选出去除重金属的特效菌, 并投加到传统的生物处理体系中, 则可增强体系对重金属废水的处理能力, 改善整个体系

的处理效果。

龙葵(*Solanum nigrum* L.)为报道的重金属 Cd 超累积植物。它生长周期短,生物量大,具有较强的抗逆境能力,较强的争光、争水和争肥的能力,营养生长迅速、繁殖能力强以及在环境条件适宜情况下生物量能够急剧提高等特点,可以弥补现有修复植物生长周期长以及生物量较小等缺点,是较理想的植物修复资源<sup>[3]</sup>。

植物内生菌是指在植物体内完成其生活史的部分或全部,但又不引起任何病症,并与宿主建立互惠共生关系的一类微生物,包括细菌和真菌等。内生菌普遍存在于目前已研究过的各种高等植物中,它们在植物体内进行生命活动时,能产生丰富多样的次生代谢物,具有多种生物活性<sup>[4]</sup>。研究发现,内生菌能促进宿主生长,提高宿主抗逆性,增强宿主竞争力<sup>[5]</sup>。内生菌作为生物防治资源、外源基因的载体和新药的来源,在农业、医药、卫生领域有着巨大的应用潜力<sup>[6]</sup>。有研究表明,对污染物有抗性的内生菌不仅可以促进污染物在植物体内的累积而且还可以减轻植物受污染物的胁迫<sup>[7]</sup>。

目前国内外对植物内生菌的研究,多集中于内生菌的分离和纯化技术或者有特殊代谢产物的植物内生菌,如产紫杉醇、抑菌活性物质的植物内生菌等。而重金属超累积植物内生菌研究,也多局限于镍超累积植物内生菌的分离、鉴定和内生菌在植物体内的分布情况,很少探究内生菌与宿主植物富集重金属之间的关系<sup>[8,9]</sup>。本研究对重金属镉超累积植物龙葵内生菌的优势种进行分离、纯化,并筛选出其中对重金属镉抗性最强的菌种,初步研究其不同条件下对  $\text{Cd}^{2+}$  去除率的变化,为超累积植物内生菌处理重金属污染的后续研究奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

于 2007 年 9 月在湖南农业大学采集到的龙葵(*S. nigrum* L.),用其根、茎、叶的健康组织分离内生菌。

### 1.2 培养基

液体、固体(平板、斜面)培养基:牛肉膏蛋白胨培养基。

含  $\text{Cd}^{2+}$  培养基:在配置各种培养基时,加入相应质量的  $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  固体。

### 1.3 菌株的分离与纯化

**1.3.1 材料的表面消毒:**采集龙葵时保留根部土壤,用塑料布包裹根部,保持其鲜活状态,对采回的材料及时分离内生菌。取采集的龙葵根、茎、叶的健康组织,流水冲洗干净后用 70% 的酒精浸泡(根 40 s,茎、叶 20 s),再用 2.5% 次氯酸钠浸泡(根 20 min,茎、叶 10 min),最后用无菌水冲洗 6 次,用以去除附着在材料表面的消毒剂<sup>[9]</sup>。无菌条件下用最后一遍冲洗的无菌水涂布牛肉膏蛋白胨平板,经培养后若无微生物长出,表明表面消毒彻底。

**1.3.2 优势种抗  $\text{Cd}^{2+}$  内生菌的分离与纯化:**无菌条件下分别取适量的根、茎、叶组织,加 1 mL 0.9% 的氯化钠溶液充分研磨<sup>[9]</sup>,取 1 mL 组织研磨液分别稀释到  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  倍接种于 150 mL 牛肉膏蛋白胨液体培养基中,37℃、120 r/min 条件下振荡培养 3 d,将振荡培养后的培养液分别稀释到  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  倍用平板涂布器涂布在含  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 40 mg/L 的牛肉膏蛋白胨平板培养基上,分离纯化后,将所得菌株接种于牛肉膏蛋白胨斜面培养基上,37℃ 恒温培养 72 h 后,置 4℃ 冰箱保存。

### 1.4 $\text{Cd}^{2+}$ 抗性最强菌株的筛选

于 500 mL 的三角瓶中加入 150 mL 液体培养基。无菌条件下用接种环挑取适量的菌种接种于三角瓶的培养液中,置于 37℃ 的恒温水平摇床上 120 r/min 振荡培养 72 h。分别将振荡培养液按 10% 的接种量接种于  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 50.0 mg/L、60.0 mg/L、70.0 mg/L、80.0 mg/L 的培养液中,振荡培养,观察菌株是否生长,确定出  $\text{Cd}^{2+}$  抗性最强的一株进行初步鉴定<sup>[10,11]</sup>并进行后续研究。

### 1.5 菌株去除 $\text{Cd}^{2+}$ 影响因素的研究

无菌条件下,用接种针挑取适量的菌种接种于 150 mL 的培养液中,于 37℃ 恒温水平摇床上 120 r/min 培养 72 h 后,取活化菌液进行去除实验。初始实验条件设定为:恒温水平摇床转速为 120 r/min,接种量为 10%,pH 7.0,培养温度为 37℃,培养液初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 40 mg/L,分别进行以下的处理,测定生长量和去除率的变化:(1)每隔 6 h 测定培养时间对生物量和去除率的变化;(2)分别改变 pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 或 10.0 测定 36 h 后生物量和去除率的变化;(3)分别改变培养温度为 25℃、30℃、35℃、37℃ 或 40℃,测定 36 h 后生物量和去除率的变化;(4)分别改变培养基中

$\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 20 mg/L、40 mg/L、60 mg/L、70 mg/L 或 80 mg/L, 测定 36 h 后生物量和去除率的变化; (5) 根据单因素实验结果, 设置正交实验, 测定最优化条件下菌株对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率。菌的生长量以菌悬液  $\text{OD}_{600}$  间接反映。

$\text{Cd}^{2+}$ 浓度用原子吸收分光光度法测定。将培养液 4000 r/min 离心 20 min 除去菌体, 得到的上清液用原子吸收分光光度法测定残留的  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度, 以未接种的含  $\text{Cd}^{2+}$ 培养液为参比。

$$\text{去除率}\% = [(C_0 - C)/C_0] \times 100\%$$

其中,  $C_0$  为  $\text{Cd}^{2+}$ 初始浓度(mg/L);  $C$  为  $\text{Cd}^{2+}$ 残留浓度(mg/L)。

以上实验均做 3 个平行样, 控制实验数据标准偏差  $\pm 5\%$  以内。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗 $\text{Cd}^{2+}$ 菌株的初筛与鉴定

选取龙葵内生菌中的优势种进行初步筛选, 得到能在  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 40 mg/L 条件下生长的 SDE01-07,

将 SDE01-07 分别接种到含更高浓度  $\text{Cd}^{2+}$ 的培养基时, 发现 SDE06 在  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 80 mg/L 的培养基上仍能生长, 故确定为  $\text{Cd}^{2+}$ 抗性最强的菌株, 进一步对其进行研究。SDE06 在牛肉膏蛋白胨琼脂固体培养基上的菌落特征为: 菌落成淡黄色规则圆形, 边缘整齐, 表面光滑, 直径 3 mm~5 mm。SDE06 的形态特征与生理生化特性试验结果见表 1, 初步鉴定 SDE06 属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)细菌。

### 2.2 SDE06 去除 $\text{Cd}^{2+}$ 影响因素的研究

**2.2.1 培养时间对生长量和去除率的影响:** 在恒温水平摇床转速为 120 r/min, 接种量为 10%, pH 7.0, 培养温度为 37°C, 培养液初始  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 40 mg/L 的条件下, SDE06 的生长量和对  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率存在明显的相关性(图 1)。培养 12 h 后, 菌株的生长量迅速增加, 对  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率也迅速增加; 在 36 h 时, SDE06 的生长量和对  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率都达到最高峰; 36 h 后, SDE06 的生长量和去除率同时开始出现缓慢下降。因此最佳实验时间为 36 h。

表 1 菌株形态和生理生化特征

Table 1 The morphology, physiological and biochemical characteristics of the strains

试验项目 Test	结果 Result	试验项目 Test	结果 Result
Shape of strain body	Long shaft	Width of rod	0.25 $\mu\text{m}$ ~0.5 $\mu\text{m}$
Length of rod	4 $\mu\text{m}$ ~4.5 $\mu\text{m}$	Spore	+
Gram staining	+	Oxidase test	-
Catalase	+	Indole test	+
Casein hydrolysis	+	Gelatin hydrolysis	+
Nitrate reduction	+	M. R test	+
Starch hydrolysis	+	Glucose utilization	+
V. P test	+		

Note: +: Positive; -: Negative.

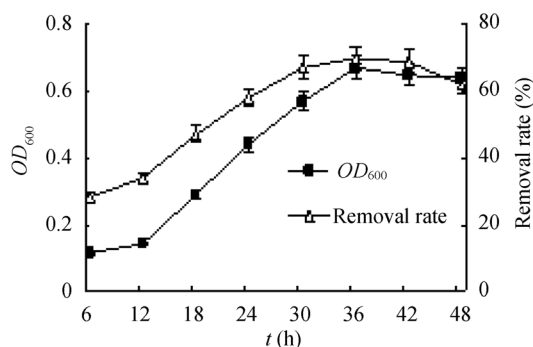


图 1 培养时间对生长量和去除率的影响

Fig. 1 Effects of incubating time on the strain growth and the removal rate of  $\text{Cd}^{2+}$

**2.2.2 pH 对生长量和去除率的影响:** 在恒温水平摇床转速为 120 r/min, 接种量为 10%, 培养温度为 37°C, 培养液初始  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度为 40 mg/L 的条件下培养 36 h, pH 小于 6.0 时, SDE06 的生长量和对  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率都随 pH 的增加而缓慢增加; 当 pH 为 6.0 时, 菌株的生长量和  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率都达到最高峰, 此时的 pH 是最适合菌株生长的; 当 pH 大于 6.0 时, 菌株的生长量都开始下降, 尤其当 pH 大于 7.0 时, 下降迅速, 生长量的下降比  $\text{Cd}^{2+}$ 的去除率要更迅速(图 2)。

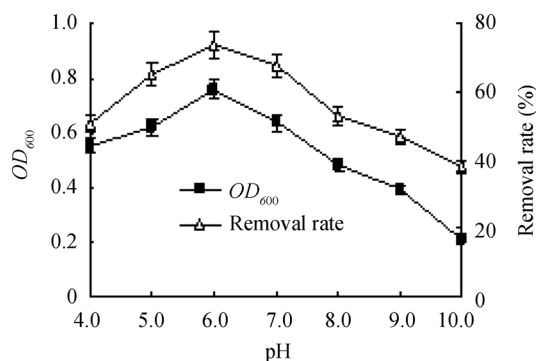


图2 pH对生长量和去除率的影响

Fig. 2 Effects of pH on the strain growth and the removal rate of  $\text{Cd}^{2+}$ 

**2.2.3 温度对生长量和去除率的影响:** 在恒温水平摇床转速为 120 r/min, 接种量为 10%, pH 7.0, 培养液初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 40 mg/L 的条件下培养 36 h, 在 25°C~37°C 之间, 随着温度的升高, SDE06 的生长量和  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率都有所增加; 当培养温度为 37°C 时, 菌株的生长量和  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率都达到最大; 当培养温度超过 37°C 后, 菌株的生长受到明显的抑制,  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率也随之下降(图 3)。因此确定最佳实验温度应为 37°C。

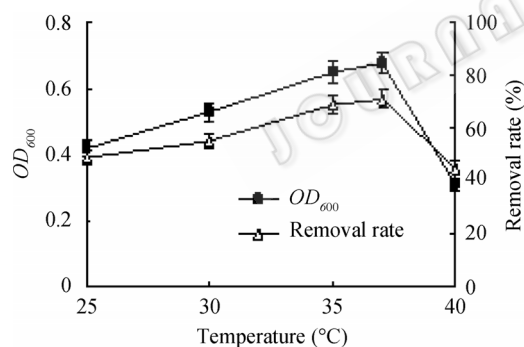
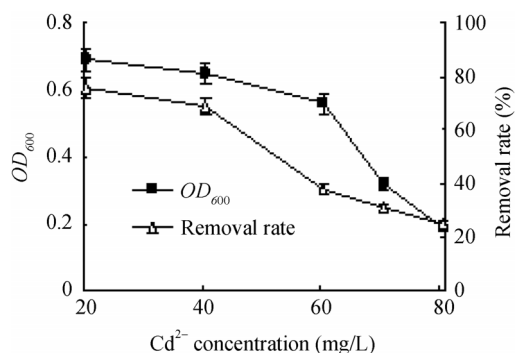


图3 温度对生长量和去除率的影响

Fig. 3 Effects of temperature on the strain growth and the removal rate of  $\text{Cd}^{2+}$ 

**2.2.4  $\text{Cd}^{2+}$  浓度对生长量和去除率的影响:** 在恒温水平摇床转速为 120 r/min, 接种量为 10%, pH 7.0, 培养温度为 37°C 的条件下培养 36 h, 随着  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的增加, SDE06 的生长量和对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率都出现下降, 表明  $\text{Cd}^{2+}$  对菌株的生长有抑制作用,  $\text{Cd}^{2+}$  的浓度越高, 抑制越明显,  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率越低。在  $\text{Cd}^{2+}$  浓度小于 60 mg/L 时, 菌株的生长量下降缓慢, 表明菌株对  $\text{Cd}^{2+}$  有一定的抗性; 当  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 60 mg/L

时, 菌株生长开始受到十分明显的抑制。综上所述,  $\text{Cd}^{2+}$  浓度越低, 去除效果越好(图 4)。

图4  $\text{Cd}^{2+}$ 浓度对生长量和去除率的影响Fig. 4 Effects of  $\text{Cd}^{2+}$  concentration on the strain growth and the removal rate of  $\text{Cd}^{2+}$ 

**2.2.5 最佳实验条件正交实验:** 根据单因素实验结果, 确定了实验时间、pH、实验温度和  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为正交实验的影响因素, 设定了 3 个因素水平, 以  $\text{Cd}^{2+}$  去除率为指标进行考察。最优化实验条件为培养时间 36 h, pH 6.0, 培养温度 37°C, 培养液初始  $\text{Cd}^{2+}$  浓度 20 mg/L(恒温水平摇床转速为 120 r/min, 接种量为 10%), 在此条件下 SDE06 对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率最高为 80.2%。

### 3 讨论与结论

龙葵是一种重金属镉超累积植物, 能在植物生长未受明显抑制的情况下对重金属镉进行富集。本实验通过对健康的重金属镉超累积植物龙葵的根、茎、叶进行组织分离, 证明了在龙葵体内存在内生菌。但本实验所使用的分离方法是很局限的, 仅以龙葵体内各种各样内生菌的优势种为研究对象, 并且内生菌的分离还与培养基组成、培养条件等多种因素有关。因此, 内生菌的分离应综合考虑多种影响因素, 建立内生菌分离的最佳技术和方法。

用含  $\text{Cd}^{2+}$  40 mg/L 的培养基初步筛选得到 7 株菌, 命名为 SDE01-07, 说明重金属镉超累积植物龙葵的内生菌中, 某些对  $\text{Cd}^{2+}$  有一定抗性, 当培养基中  $\text{Cd}^{2+}$  浓度达 80 mg/L 时, SDE06 仍能生长, 确定为筛选出来的抗性最强的菌株, 经鉴定属芽孢杆菌属细菌(*Bacillus* sp.)。改变实验条件, 菌株生长量和对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率发生变化:(1) 在培养时间对生长量和  $\text{Cd}^{2+}$  去除率的影响实验中, 培养 12 h 后, 生长

量和去除率都迅速增加(图 1),可能是菌株在经历了一段时间的适应期后,生长进入了对数期;36 h 后生长量和去除率都出现缓慢下降,可能是因为菌株的生长进入衰退期,此时部分菌体已死亡,因此 OD 值开始下降,而死亡菌体吸附的  $\text{Cd}^{2+}$  又重新游离出来,从而导致  $\text{Cd}^{2+}$  去除率下降;(2) pH 被认为是微生物吸附重金属的重要参数<sup>[12]</sup>,它影响微生物的生长、金属溶液的化学性质、生物基团的活性和金属离子的竞争<sup>[13]</sup>。在 pH 对生长量和  $\text{Cd}^{2+}$  去除率的影响实验中,pH 小于 6.0 时,生长量和去除率都较低(图 2),这可能是因为 pH 过低时,溶液中的  $\text{H}^+$  与金属离子竞争菌体表面上的有限结合部位,使菌体表面质子化,增加菌体表面的静电斥力, $\text{Cd}^{2+}$  吸附量减少,相应的去除率也减小;而当 pH 大于 7.0 时,虽然此时 pH 条件给菌株生长量带来负面影响,但部分金属离子可能与溶液中的  $\text{OH}^-$  结合形成氢氧化物沉淀<sup>[14]</sup>,因此随着 pH 的增加金属离子的去除率相对比生长量的下降要稍缓;(3)当微生物吸附金属离子需要能量时,温度影响着体系对金属离子吸附,当微生物吸附金属离子不需要能量时,温度对体系吸附金属离子的影响不显著<sup>[15]</sup>。在温度对生长量和去除率影响的实验中,SDE06 的活细胞对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附包括主动运输过程,需要能量,所以温度影响活菌对重金属的吸附过程<sup>[16]</sup>,而且活菌的代谢速度、酶活性以及种群组成等生活状况都依赖于环境的温度,因此温度对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除效果影响明显(图 3);(4)在对  $\text{Cd}^{2+}$  浓度对生长量和去除率影响的实验中,当  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 60 mg/L 时,菌株的生长并未受到明显抑制(图 4),表明菌株对  $\text{Cd}^{2+}$  有较强的抗性,而此时的去除率却出现了明显的降低,可能是菌株在较高浓度的  $\text{Cd}^{2+}$  作用下,发生了将  $\text{Cd}^{2+}$  由体内向体外运输的过程。此过程的机理有可能就是菌株能在高浓度的  $\text{Cd}^{2+}$  条件下生长的原因。

微生物正常生长过程中仅需微量金属离子即可满足生长需要,过量会产生毒害作用<sup>[17]</sup>。在龙葵体内分离出来的优势种内生菌,部分能在含  $\text{Cd}^{2+}$  的环境中生长,甚至有较强的抗性和去除  $\text{Cd}^{2+}$  的能力。其中,抗性最强的菌株 SDE06,在相对适宜的生长条件下,对  $\text{Cd}^{2+}$  的去除率可达 80.2%。SDE06 对不同浓度(20 mg/L~80 mg/L)的  $\text{Cd}^{2+}$  均有明显的去除效果,一些典型工业废水如颜料工业废水( $\text{Cd}^{2+}$  浓度为

40 mg/L 左右)中  $\text{Cd}^{2+}$  浓度即在此范围<sup>[18]</sup>。综上所述,以上研究成果还是具有一定的实践意义:优化所有实验条件,再对 SDE06 进行驯化,可应用到以下方面:(1)直接投入废水处理体系;(2)基因工程技术;(3)固定化微生物技术等。从重金属超累积植物中筛选有较好去除效果的菌株,也提供了一个各类工程菌来源的大方向,同样可应用到其他植物和重金属上。本课题仍处于研究初级阶段,还有许多问题需要解决,实验中产生去除效果的原理,还不甚明了,有可能包括活体菌株对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附、菌体代谢产物与重金属离子发生反应产生沉淀而去除等一系列物理、化学变化。在本课题的后续研究中,应解决已存在的疑问,并将已有成果深化发展应用到上述多方面的研究中。

## 参 考 文 献

- [1] 王丽娜,商平,于华勇,等. 生物材料治理镉污染研究进展. 环境污染与防治, 2006, 28(10):782-782.
- [2] 王璞,闵小波,柴立元. 含镉废水处理现状及其生物处理技术的进展. 工业安全与环保, 2006, 32(8):14-17.
- [3] 魏树和,周启星,王新. 超积累植物龙葵及其对镉的富集特征. 环境科学, 2005, 26(3): 167-171.
- [4] 石晶盈,陈维信,刘爱媛. 植物内生菌及其防治植物病害的研究进展. 生态学报, 2006, 26(7): 2395-2410
- [5] 李琦,孙广宇. 沙棘内生菌的分离与初步鉴定. 植物保护科学, 2006, 22(10): 300-302.
- [6] Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic Microorganisms. *Journal of Natural Products*, 2004, 67: 257-268.
- [7] Kamnev AA, Tugarova AV, Antonyuk LP, et al. Effects of heavy metals on plant-associated rhizobacteria: comparison of endophytic and non-endophytic strains of *Azospirillum brasilense*. *Journal of Trace Elements in Medicine Biology*, 2005, 19: 91-95.
- [8] Idris B, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial Communities Associated with Flowering Plants of the Ni Hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2667-2677.
- [9] Barzanti R, Ozino F, Bazzicalupo M, et al. Isolation and Characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*. *Microbial Ecology*, 2007, 53: 306-316.
- [10] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, pp.143-661.

- [11] 赵 明, 贺声蓉, 陈小静, 等. 产甾体皂甙华重楼内生菌的筛选与鉴定. 微生物学报, 2005, 45(5): 776-779.
- [12] Asmal M, Khan AH, Ahmad A. Role of sawdust in the removal of copper( ) from industrial wastes. *Water Research*, 1998, 32(10): 3085-3091.
- [13] Friis N, Myers KP. Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, 28: 21-28.
- [14] 秦玉春, 关晓辉, 王立文, 等. 浮游球衣菌对 Pb<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>的吸附性能研究. 环境污染与防治, 2005, 27(9): 648-650.
- [15] Bayramoglu G, Denzli A, Bektas S, *et al.* Entrapment of *Lentinus sajor-caju* into Ca-alginate gel beads for removal of Cd(II) ions from aqueous solution: preparation and biosorption kinetics. *Microchemical Journal*, 2002, 72: 63-76.
- [16] 郭 平, 李 军, 曾阿妍, 等. 优势菌种活细胞对天然水体中 Pb<sup>2+</sup>和 Cd<sup>2+</sup>的吸附. 应用与环境生物学报, 2004, 10(3): 354-357.
- [17] 姜 敏, 曹理想, 张仁铎. 重金属抗性内生菌与其宿主植物重金属抗性关系初探. 农业环境科学学报, 2007, 26(6): 2038-2042.
- [18] 沈 华. 颜料工业含镉废水治理研究. 精细化工中间体, 2001, 31(1): 38-40.
- ~~~~~
- (上接 p.327)

## 征 稿 简 则

### 3.4 摘要写作注意事项

#### 3.4.1 英文摘要:

1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免好多长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.4.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

## 4 特别说明

### 4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ(日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

### 4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

### 4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。凡被录用的稿件将及时发出录用通知, 对不录用的稿件, 一般在收稿 1 个月之内通过 E-mail 说明原因, 打印稿不退。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊网址上传电子版修改稿, 待编辑部复审后将给作者发送稿件录用通知单, 请作者将修改稿纸稿和签字盖章后的承诺书一并寄回编辑部, 按照稿号顺序进入排队发表阶段。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

## 5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊及单行本。

## 6 联系我们

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部 (100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>