

基于 Biolog-FF 技术的金霉素降解真菌的碳代谢特征研究

张惠艳¹ 李艳菊^{1*} 顾金刚² 董晓霞¹ 尚攀¹

(1. 北京理工大学 生命学院 北京 100081)

(2. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 北京 100081)

摘要:【目的】利用 Biolog-FF 技术对 4 种不同金霉素降解真菌代谢 95 种碳源特征进行测定分析。【方法】测定不同时段 4 种真菌对 95 种碳源代谢的吸光值,并将 4 种真菌分别接种到金霉素药渣固废中,测定不同发酵时间药渣中的总有机碳含量。【结果】4 种真菌利用碳源种类和活性差异较大,桔青霉 LJ318、哈茨木霉 LJ245、小刺青霉 LJ236、草酸青霉 LJ302 能够利用碳源数量依次为 41、39、15 和 14 种;菌株 LJ245 和 LJ318 利用碳源的平均活性显著高于菌株 LJ236 和 LJ302;4 种真菌能够较好利用的碳源类型为糖类、氨基酸类、聚合物类等物质。【结论】菌株 LJ245 和 LJ318 代谢药渣中的碳源明显快于菌株 LJ236 和 LJ302,这与 Biolog 方法测定结果趋势一致。Biolog-FF 技术是一种快速测定真菌单菌落碳代谢特征的有效方法。研究为探讨真菌碳代谢特征与生物降解环境残留金霉素提供了科学依据。

关键词: Biolog-FF 技术, 金霉素降解菌, 碳代谢, 药渣

On carbon metabolism of fungi in chlortetracycline degradation based on Biolog-FF system

ZHANG Hui-Yan¹ LI Yan-Ju^{1*} GU Jin-Gang² DONG Xiao-Xia¹ SHANG Pan¹

(1. School of Life, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

(2. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: [Objective] Biolog-FF system with 95 kinds of carbon source was used to exploit the metabolism feature of four fungi in chlortetracycline degradation. [Methods] The changes of absorbance values of the four strains in 95 kinds of carbon sources were determined in different time. The total organic carbon (TOC) contents were measured after the four strains were inoculated into the chlortetracycline solid waste in different time. [Results] The four strains digested different carbon sources, and the activities of them were quite distinct. 41 kinds, 39 kinds, 15 kinds and 14 kinds of carbon were used by *Penicillium citrinum* LJ318, *Trichoderma harzianum* LJ245, *Penicillium spinulosum* LJ236 and *Penicillium oxalicum* LJ302, respectively. The average activity digesting carbon of LJ245 and LJ318 were significantly higher than that of the strain LJ236 and LJ302. All the four strains could utilize sugars, amino acids, polymers and so on. [Conclusion] Carbon metabolism of

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2013AA102805-05)

*通讯作者: Tel: 86-10-68914495; 信箱: liyanju@bit.edu.cn

收稿日期: 2014-09-29; 接受日期: 2015-01-15; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-01-23

LJ245 and LJ318 in residue were significantly faster than LJ236 and LJ302. This show the same results as what the Biolog system drew out. Biolog technology is an effect method in the study of carbon metabolic characteristics of fungi. This study would build a scientific foundation for investigating the characteristics of fungal carbon metabolism, and for the bio-degradation of chlortetracycline in environment.

Keywords: Biolog-FF system, Chlortetracycline degradation bacteria, Carbon metabolism, Medicine waste

Biolog 微生物自动分析系统是美国 Biolog 公司于 1989 年推出的一套微生物碳源代谢和鉴定分析系统,可同时对 95 种碳源进行检测,目前已经能分析和鉴定包括细菌、酵母、丝状真菌在内的近 2 000 种微生物^[1-2]。其丝状真菌数据库(FF),可分析临床、工业、农业及环境中常见的青霉、曲霉、刺盘孢霉、镰刀霉、木霉、枝孢霉、穗霉等 600 多种丝状真菌的碳源利用情况,并对真菌种类进行鉴定。

目前,使用 Biolog 方法研究细菌单菌落的碳代谢已有报道。Khalil 等^[3]对从水耕栽培系统中分离得到的 5 株病原细菌进行 Biolog 分析,根据平均吸光值变化和可利用碳源种类数,将 5 株菌株划分为两组:(1) 包括菌株瓜果腐霉(PA)和尖孢镰刀菌(FORL),菌株停滞期短,指数期能利用几乎所有提供种类的碳源;(2) 包括菌株隐地疫霉(PC)、辣椒疫霉(PCP)和腐皮镰刀菌(FS),生长过程中停滞期长,利用碳源缓慢,为制定相应的病原微生物对抗策略提供帮助。Sellyei 等^[4]对动物传染病中多株巴氏杆菌的碳源利用进行了分析,将 38 株菌株分为 2 种,其中 14 株为达可马巴斯德菌,可以利用 39 种碳源;24 株为禽多杀性巴氏杆菌,可以利用 31 种碳源,该结果有利于更好地研究病原菌的代谢特征。Biolog 技术还可以对不同环境中的复杂菌群特性进行分析^[5]。查仙芳等^[6]利用 Biolog-FF 技术分析了木霉制剂作用于番茄根际土壤微生物,根据单孔平均颜色变化率,分析了木霉菌对土壤微生物群落数量和种群结构的影响,结果显示木霉制剂可以降低土壤中有害生物对土壤养分利用能力,抑制有害生物的生长,改善土壤环境。刘宏媛等^[7]从酒曲样

品中分离纯化出 2 株酵母菌,利用 Biolog 技术对各菌株利用碳源的差异性进行了分析,该结果为大曲中的微生物分析奠定了基础。但是很少有研究针对真菌单菌落进行功能性分析。

金霉素属于四环素类抗生素,在牲畜类疾病的预防领域中得到广泛应用^[8-10]。金霉素是一种难降解的抗生素,在生产过程中会产生大量金霉素残留的固体废弃物药渣,主要由微生物菌丝体、未代谢利用完的有机物、无机盐、金霉素残留等组成,若处理不当排放到环境中,将对环境生态安全构成威胁。目前,在美国、中国、韩国等国家的土壤及水体中均已检测到金霉素残留^[11-12]。因此,对药渣进行检测与无害化处理,是金霉素生产企业亟待解决的关键问题;同时,选用一种绿色环保的方法降解企业废弃物及环境中残留的金霉素,对于减少金霉素引起的环境污染,保护生态环境具有重要的应用价值。

本实验室前期从药渣环境中筛选出 4 株高效降解金霉素真菌,经鉴定分别为小刺青霉(*Penicillium spinulosum*) LJ236、哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*) LJ245、草酸青霉(*P. oxalicum*) LJ302、桔青霉(*P. citrinum*) LJ318。为探讨这 4 种真菌的碳源代谢能力,本文利用 Biolog-FF 技术对它们利用微平板中 95 种碳源的情况进行研究,同时对它们代谢金霉素药渣过程中总碳代谢趋势进行比对研究,从而为菌株培养过程中碳源选择提供科学依据,有效提高菌株对金霉素的降解效率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌株:来自本实验室前期筛选得到的 4 株金霉

素高效降解菌株, 分别为小刺青霉 LJ236、哈茨木霉 LJ245、草酸青霉 LJ302、桔青霉 LJ318。

1.2 主要仪器及设备

Biolog-FF 接种培养板、Biolog Microsoft 全自动微生物鉴定分析系统(型号 MICROSTATION), 购自美国 Biolog 公司; 电动大容量移液器(型号 C1), 购自 Thermo Fisher; 恒温恒湿培养箱(型号 DHP-9082), 购自天津实验仪器厂; 电子天平(型号 ME104), 购自瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司; 浊度计(型号 Turb 550), 购自德国 WTW 公司; 总有机碳分析仪(型号 MultiN/C UV), 购自德国耶拿分析仪器股份公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌株培养: 马丁氏培养基^[13]活化 4 种真菌, 用试管斜面保存。挑取试管斜面上的真菌孢子, 在麦芽汁培养基^[13]上进行划线培养, 28 °C 恒温培养至孢子出现。

1.3.2 菌悬液制备及培养: 将棉签用接种液稍微浸湿, 在菌落上面轻轻地滚动, 将菌体转入到接种液中。通过添加菌体或空白接种液调整浊度值, 使其在标准浊度值 75%±2% 范围内。用移液器在 Biolog-FF 板每个孔中加入 100 μL 菌悬液, 盖上盖子, 28 °C 培养。

1.3.3 真菌代谢药渣和有机碳测定: 金霉素药渣来源于金霉素生产企业。药渣生物降解处理方法为: 马丁氏培养基活化后的 4 种真菌菌株, 分别被加入事先破碎的药渣中, 搅拌均匀后置于温度为 25–28 °C, 相对湿度为 90%–96% 的培养箱中进行发酵培养。分别测定 0、6、18 d 药渣中总有机碳(Total organic carbon, TOC)含量。其测定方法为: 称量 0.10–0.15 g 药渣, 置于干净的瓷器中, 放置于总有机碳分析仪中, 1 000 °C 高温催化 6 min。

水分测定采用 GB500.3-2010 检验方法, 方法检出限为 0.04 g/100 g; 蛋白质测定采用 GB5009.5-2010 检验方法, 方法检出限为 0.10 g/100 g; 粗纤维测定采用 GB/T5009.10-2003 检验标准, 方法检出限为 0.01%; 淀粉测定采用

GB/T5009.9-2008 检验方法; 金霉素测定采用 GB/T 5009.116-2003 检验标准, 方法检出限为 0.01 mg/100 g; 灰分测定采用 GB5009.4-2010 检验方法, 方法检出限为 0.01 g/100 g。

1.4 数据采集及统计分析

在 FF-IF 板培养 24、48、72、96、120、144、168、192、216、240 h, 分别放置到 Biolog 菌种鉴定仪上, 读取不同孔的 OD_{590} 值。利用 SPSS 软件和 Excel 2013 对 4 种真菌菌株利用不同碳源的吸光值 C_i 进行均值、标准差等统计分析, 并对以下指标进行分析。

利用碳源的丰富度指数: 丰富度指数(Number of positive wells)是指菌株利用碳源总种数, 统计方法为 C_i-R 值大于 0.25 的孔数, 其中 C_i 是除对照孔外各孔吸光度值, R 是对照孔吸光度值^[14]。

利用碳源的平均活性: 菌株利用碳源的能力, 可用平均吸光值(Average well color development, AWCD)表示, 通过计算和绘制菌株的 AWCD 值随时间的变化, 得到菌株利用碳源的平均活性。AWCD 计算公式: $AWCD = [\Sigma(C_i - R)]/n$ 。其中, C_i 是除对照孔外各孔吸光度值, R 是板内对照孔吸光度值, n 为碳源数量, 本研究中 n 为 95^[5]。绘制 AWCD 随时间变化的曲线, 并通过方差分析不同时间点样本间 AWCD 的差异。

2 结果与分析

2.1 4 种真菌菌株的菌落形态特征

4 种降解金霉素真菌菌株的菌落特征存在较大差异, 在马丁氏固体培养基上培养 3 d, 观察菌落形态特征见表 1 和图 1。

2.2 4 种真菌代谢 95 种碳源的丰度指数

为了探讨 4 种真菌对于所有碳源的利用数量, 对不同时间获得的吸光值进行研究, 得到菌株在培养 0–240 h 代谢 95 种碳源的丰度指数, 见图 2。

由图 2 可知, 菌株 LJ318 利用碳源种类最多, 其次为菌株 LJ245。菌株 LJ236 和菌株 LJ302 丰度指数相对较低。在培养的 72 h, 菌株 LJ245、LJ318、

表 1 降解金霉素真菌的形态特征
Table 1 Morphological characteristics of chlortetracycline degrading fungi

菌株 Strains	菌落特征 Colony characteristics						
	大小	菌丝颜色	菌丝形状	平板背面颜色	突起	分泌物	孢子颜色
	Size (cm)	Color (front)	Mycelium shape	Color (reverse)	Apophysis	Secretions	Spore color
<i>Penicillium spinulosum</i> LJ236	1.5–1.6	白色	绒毛状	土黄色	拱起	黄褐色	灰绿色
<i>Trichoderma harzianum</i> LJ245	5.0	白色	棉絮状	红褐色	拱起	无	草绿色
<i>Penicillium oxalicum</i> LJ302	1.0–1.2	白色	绒毛状	红褐色	脐凹状	亮黄色	青绿色
<i>Penicillium citrinum</i> LJ318	0.4–0.6	白色	致密细绒	土黄色	扁平	无	灰绿色

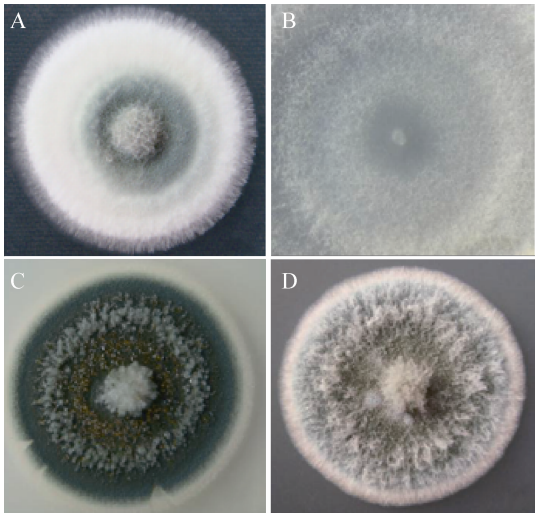


图 1 降解金霉素真菌的形态特征
Figure 1 Morphological characteristics of chlortetracycline degrading fungi

注：A：小刺青霉 LJ236；B：哈茨木霉 LJ245；C：草酸青霉 LJ302；D：桔青霉 LJ318。

Note: A: *Penicillium spinulosum* LJ236; B: *Trichoderma harzianum* LJ245; C: *Penicillium oxalicum* LJ302; D: *Penicillium citrinum* LJ318.

LJ236 和 LJ302 利用碳源的丰度指数分别为 33、41、10 和 11 种。可见，具有降解金霉素的 4 种不同真菌菌株在可利用碳源数量上 LJ318、LJ245 同菌株 LJ236、LJ302 存在较大差异。

2.3 4 种真菌代谢碳源的平均活性

为探究菌株对于不同碳源的总体利用能力，采用碳源的平均活性(常用平均吸光值 AWCD)来衡量^[3]。通过数据采集和计算得到 AWCD 随着时间的变化，见图 3。

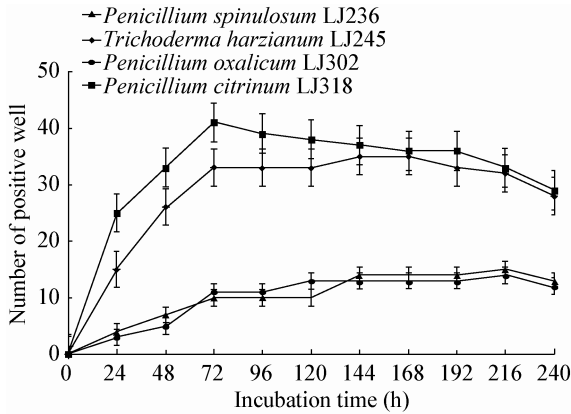


图 2 降解金霉素真菌碳源利用丰度指数变化图
Figure 2 Utilization of sole carbon sources by chlortetracycline degrading fungi on the basis number of positive wells

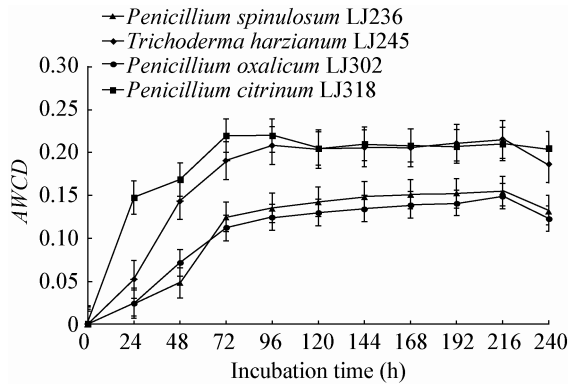


图 3 降解金霉素真菌利用碳源平均吸光值变化图
Figure 3 Utilization of sole carbon sources by chlortetracycline degrading fungi on the basis average well colour development

由图 3 可知, 4 种真菌代谢碳源平均活性存在差异,在菌株培养过程中AWCD 值形成了s 型曲线, 代谢 95 种碳源的平均活性依次排序为菌株 LJ318>LJ245>LJ236>LJ302,LJ318 和 LJ245 生长较快, LJ245 和 LJ318 的平均吸光值在培养 0–72 h 内快速升高, 表明菌株 LJ245 和 LJ318 能够利用碳源快速生长。LJ236 和 LJ302 生长相对较慢, 在 72 h 其 AWCD 值只能达到 LJ245 和 LJ318 的 1/2。4 种菌株在 72–96 h 进入稳定期。

2.4 4 种真菌对碳源种类利用分析

2.4.1 利用活性较高的碳源种类: 4 种真菌对 95 种碳源中利用较好的 20 种碳源进行了分析, 结果见表 2。

由表 2 可知, 菌株 LJ236 对 D-核糖、D-木糖、 ρ -羟基苯乙酸、L-谷氨酸、L-阿拉伯糖等碳源能较好利用; 菌株 LJ245 对 D-木糖、D-核糖、L-谷氨酸、L-焦谷氨酸、2-酮-D-葡萄糖酸等碳源能较好利用, 且利用能力较高; 菌株 LJ302 对奎尼酸、D-木糖、D-核糖、L-谷氨酸等碳源能较好利用; 菌株 LJ318 对 ρ -羟基苯乙酸、奎尼酸、2-酮-D-葡萄糖酸、木糖醇、D-木糖、D-核糖等碳源能较好利用; 4 种真菌对于 D-核糖、D-木糖和 L-谷氨酸等的利用率均较高。

2.4.2 利用碳源类型分析: 按化学基团性质, 将 FF 板上 95 种碳源分成 8 类, 即碳水化合物、羧酸及其衍生物、氨基酸、聚合物、醇类、胺类、磷酸盐类、

表 2 降解金霉素真菌对 20 种碳源的利用情况				
Table 2 The ability of chlortetracycline degrading fungi utilizing 20 kinds of carbon source (72 h)				
碳源 Carbon source	吸光值 Absorbance (C_i-R)			
	<i>Penicillium spinulosum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
	LJ236	LJ245	LJ302	LJ318
D-核糖 D-ribose	0.509 2	0.553 2	0.515 7	0.399 2
D-木糖 D-xylose	0.582 6	0.759 1	0.655 1	0.460 8
木糖醇 Xylitol	0.202 1	0.243 9	0.070 9	0.488 8
甘油 Glycerin	0.093 2	0.147 5	0.085 1	0.271 6
L-谷氨酸 L-glutamate	0.382 9	0.423 5	0.397 5	0.248 9
D-纤维二糖 D-cellobiose	0.165 8	0.269 7	0.128 3	0.042 8
B-环化糊精 B-cyclodextrin	0.129 7	0.392 7	0.171 1	0.016 1
D-葡萄糖 D-glucose	0.201 3	0.322 3	0.158 4	0.066 6
L-焦谷氨酸 L-pyroglutamate	0.282 1	0.410 6	0.066 0	0.341 1
D-半乳糖 D-galactose	0.152 4	0.570 0	0.139 8	0.192 1
L-苯丙氨酸 L-phenylalanine	0.129 3	0.132 5	0.069 8	0.197 5
水杨苷 Salicin	0.167 2	0.031 1	0.183 3	0.254 5
2-酮-D-葡萄糖酸 2-Keto-D-gluconic acid	0.298 0	0.412 4	0.194 9	0.496 2
ρ -羟基苯乙酸 ρ -Hydroxy acid	0.413 0	0.320 1	0.024 7	0.569 4
L-岩藻糖 L-fucose	0.313 5	0.412 3	0.181 0	0.074 0
龙胆二糖 Gentiobiosyl	0.179 3	0.318 3	0.181 0	0.074 0
奎尼酸 Quinic acid	0.164 1	0.353 4	0.703 2	0.560 7
D-甘露糖 D-mannose	0.144 1	0.148 0	0.139 4	0.297 9
L-阿拉伯糖 L-arabinose	0.318 4	0.271 7	0.321 2	0.199 8
苯丙酰胺 Benzenepropanamide	0.012 4	0.132 5	0.069 8	0.197 5

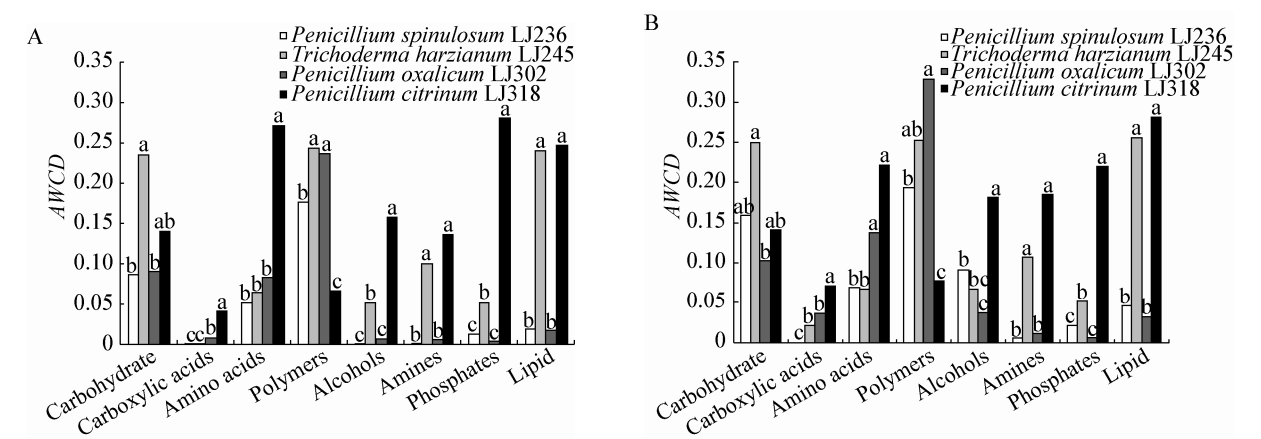


图 4 降解金霉素真菌对 8 类碳源的利用结果

Figure 4 Substrates in Biolog-FF plates for utilization of different carbon source by chlortetracycline degrading fungi
注：A：处理 48 h；B：处理 72 h (最小显著差数法，小写字母表示在 $P<0.05$ 的显著水平)。
Note: A: 48 hours ; B: 72 hours (LSD, Least significant difference, lower case letters indicate significant levels of $P<0.05$).

油脂类。实验对 4 种真菌利用 8 类碳源进行了测定分析。由图 4 可知，4 种菌株能够较先利用的碳源是糖类、氨基酸类、聚合物类。LJ318 可利用碳源种类较为广泛，除对于聚合物的利用程度较差以外，对于其他 7 种碳源的利用均优于其他 3 株菌株。菌株 LJ318 对胸苷-5'-单磷酸盐的利用程度较高，其余 3 株菌未见较为明显的利用。通过差异显著性分析，LJ245 和 LJ318 对于糖类、醇类、胺类、油脂类的利用情况差异不显著，优于菌株 LJ236 和 LJ302。

2.5 4 种真菌代谢金霉素药渣 TOC 变化

对金霉素药渣中的主要碳源含量进行了测定，结果见表 3，可以看出药渣中含有淀粉、纤维素、金霉素等物质，同时含有较高含量的蛋白质。

将 4 种高效降解金霉素真菌接种到药渣中，降解 18 d 后测定药渣中总有机碳(TOC)变化趋势。记录总有机碳的浓度变化见图 5。

CK 组未接种菌株于药渣中，相对于接种菌株其 TOC 变化较弱。初始药渣中 TOC 的含量是 518.8 g/kg。在接种第 6 天，菌株 LJ318 实验组的药渣中 TOC 减少较快，减少量达到 31.1 g/kg。在接种第 18 天，菌株 LJ245 实验组药渣中 TOC 减少量最大为 66.2 g/kg。对比 4 种菌株对于药渣中的碳代谢特征发现，菌株 LJ245 和 LJ318 对于药渣碳源的利用明显优于菌株 LJ236 和 LJ302，这同 Biolog 方

表 3 药渣主要成分含量		
Table 3 The main component of the medicine waste		
成分		含量
Component		Content (g/100 g)
水分	Moisture	60.39
蛋白质	Protein	19.16
纤维	Fiber	1.72
淀粉	Starch	17.26
金霉素	Chlortetracycline	4.00
灰分	Ash	3.80

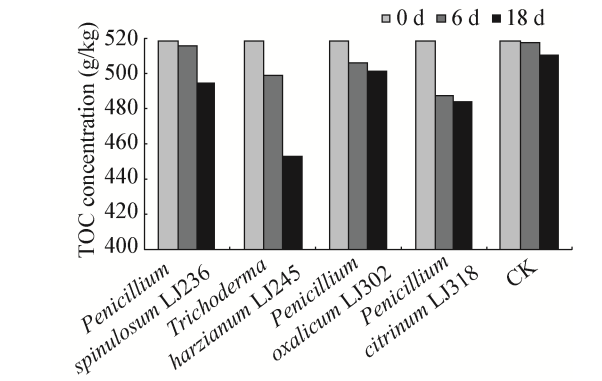


图 5 药渣生物处理过程中 TOC 变化
Figure 5 The TOC changes during biological treatment process in the medicine waste

法分析 4 种真菌对于 95 种碳源利用结果相同。

3 结论与讨论

通过 Biolog-FF 技术对金霉素降解菌碳代谢特征研究得知, 菌株 LJ318 和菌株 LJ245 不仅可利用的碳源种类多于菌株 LJ302 和 LJ236, 而且代谢碳源能力更强, 对于降解金霉素共代谢的碳源选择上更具优势。菌株 LJ236 可利用的碳源种类最少, 并且利用活力也很小。4 种真菌对 D-核糖、D-木糖和 L-谷氨酸等的利用率均较高; 能够较先利用碳源类型为糖类、氨基酸类、聚合物类; 只有菌株 LJ318 能利用胸苷-5'-单磷酸盐。4 株真菌接种的金霉素药渣通过发酵处理, 菌株 LJ245 和 LJ318 代谢药渣中的总有机碳活性高于 LJ236 和 LJ302, 此结果与 Biolog 研究结果相同。Biolog-FF 技术对于研究菌株代谢不同种类碳源特性, 相对摇瓶和平板培养更加方便和系统, 是一种高效的测定技术, 其结果可应用于废弃物代谢处理。

参 考 文 献

- [1] Wang LM, Li J, Hu XS. Isolation and identification of yeasts from apple[J]. Journal of China Agricultural University, 2004, 9(4): 14-17 (in Chinese)
王丽敏, 李军, 胡小松. 苹果原料中酵母菌的分离鉴定[J]. 中国农业大学学报, 2004, 9(4): 14-17
- [2] Li Y, Sheng H, Zhao RH. Utilization of biolog microbes identification system in the identification of microbial species[J]. Liquor-making Science & Technology, 2005, 26(7): 84-85 (in Chinese)
李运, 盛慧, 赵荣华. Biolog 微生物鉴定系统在菌种鉴定中的应用[J]. 酿酒科技, 2005, 26(7): 84-85
- [3] Khalil S, Alsanusi BW. Utilisation of carbon sources by *Pythium*, *Phytophthora* and *Fusarium* species as determined by Biolog microplate assay[J]. The Open Microbiology Journal, 2009, 3: 9-14
- [4] Sellyei B, Wehmann E, Makrai L, et al. Evaluation of the Biolog system for the identification of certain closely related *Pasteurella* species[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2011, 71(1): 6-11
- [5] Xing HM, Du HT, Zhang LL, et al. Comparison of PCR-DGGE and Biolog technology research in soil microbial diversity[J]. Agricultural Development and Equipments, 2013(10): 48-49 (in Chinese)
邢华铭, 杜海涛, 张黎黎, 等. PCR-DGGE 与 Biolog 技术在土壤微生物多样性研究的比较[J]. 农业开发与装备, 2013(10): 48-49
- [6] Zha XF, Nan NL, Zhang HP, et al. Effect of trichoderma preparation on the tomato's rhizosphere soil microorganism by Biolog-FF[J]. Journal of Ningxia University (Natural Science Edition), 2010, 31(2): 165-168 (in Chinese)
查仙芳, 南宁丽, 张华普, 等. 用 Biolog-FF 解析木霉制剂对番茄根际土壤微生物的影响[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2010, 31(2): 165-168
- [7] Liu HY, Li GH, Luo HB, et al. Isolation of yeasts from daqu sample and its identification by Biolog automated microbes system[J]. Food and Fermentation Technology, 2011, 47(1): 1-3, 22 (in Chinese)
刘宏媛, 李光辉, 罗惠波, 等. 大曲中酵母菌的分离及 Biolog 微生物系统分析鉴定[J]. 食品与发酵科技, 2011, 47(1): 1-3, 22
- [8] Kodimalar K, Rajini RA, Ezhilvalavan S, et al. A survey of chlortetracycline concentration in feed and its residue in chicken egg in commercial layer farms[J]. Journal of Biosciences, 2014, 39(3): 425-431
- [9] Chang BV, Hsu FY, Liao HY. Biodegradation of three tetracyclines in swine wastewater[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B: pesticides, Food Aontaminants, and Agricultural Wastes, 2014, 49(6): 449-455
- [10] Liu B, Li YX, Zhang XL, et al. Combined effects of chlortetracycline and dissolved organic matter extracted from pig manure on the functional diversity of soil microbial community[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 74: 148-155
- [11] Kim H, Hong Y, Park JE, et al. Sulfonamides and tetracyclines in livestock wastewater[J]. Chemosphere, 2013, 91(7): 888-894
- [12] Gao LH, Shi YL, Li WH, et al. Environmental behavior and impacts of antibiotics[J]. Environmental Chemistry, 2013, 32(9): 1619-1633 (in Chinese)
高立红, 史亚利, 厉文辉, 等. 抗生素环境行为及其环境效应研究进展[J]. 环境化学, 2013, 32(9): 1619-1633
- [13] Shen P, Chen XD. Microbiology Experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2005, 11: 69-74 (in Chinese)
沈萍, 陈向东. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005, 11: 69-74
- [14] Rogers BF, Tate RL. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(10): 1389-1401